

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach-Alger

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Magistère en Sciences Vétérinaires

***Option : Elevage, Pathologie et Industrie des animaux
de basse-cour***

Thème :

**Aptitude des anticoccidiens ionophores à inhiber l'entérite
nécrotique chez le poulet dans les conditions d'un modèle
expérimental**

Soutenu par : **Dr Mouna ABED**

Devant le jury composé de :

Dr HAMDI Taha M.	Maître de conférences classe A	ENSV Alger	Président
Dr KHELEF D.	Maître de conférences classe A	ENSV Alger	Encadreur
Dr TEMIM S.	Professeur	ENSV Alger	Examinatrice
Dr AISSI M.	Professeur	ENSV Alger	Examinatrice
Dr GOUCEM R.	Assistant	ENSV Alger	Invité
Dr REPERANT J-M.	Chargé de recherche	ANSES Ploufragan	Invité

Année Universitaire 2011/2012

Remerciements

Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements :

Au Dr HAMDI pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury. Hommage respectueux.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance et mon estime au Dr Khelef, pour son encadrement à distance, sa disponibilité et pour sa grande compétence. Merci d'avoir toujours cru en moi, merci de m'avoir soutenue dans les moments difficiles, enfin merci de m'avoir supportée durant ces deux années de Magistère.

Un immense merci à Monsieur Jean-Michel REPERANT pour m'avoir encadrée et acceptée dans son laboratoire. Merci pour la qualité de votre encadrement et la pertinence de vos remarques, merci aussi pour votre disponibilité quotidienne, merci de m'avoir supportée durant ces six mois, merci enfin pour votre sympathie, votre simplicité et votre convivialité.

Au professeur Temim qui me fait un grand honneur en acceptant de juger ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au Professeur Aissi pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de lire et évaluer ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au Dr Goucem qui me fait l'honneur d'être invité dans les membres de jury de ce mémoire, merci d'avoir toujours cru en moi, merci pour votre simplicité et votre gentillesse, merci enfin pour vos précieux conseils et vos corrections fastidieuses.

Au Dr Gilles SALVAT, directeur de l'anses de Ploufragan, pour avoir accepté que j'effectue mon stage dans le laboratoire de Parasitologie.

Au Dr Nicolas ETERRADOSSI, sous directeur de l'anses Ploufragan, veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au Dr Véronique JESTIN, chef d'unité de VIPAC, pour m'avoir permis d'intégrer son laboratoire et d'avoir mis à disposition tous les moyens nécessaires pour mener à terme ce travail.

A Chantal BENOIT, je tiens à t'exprimer mes profonds remerciements pour ton aide précieuse et ton soutien tout le long du stage, pour ton amitié et pour tes qualités humaines et professionnelles.

A Pierre LE BIHANNIC, j'ai toujours admiré ta modestie, tes qualités humaines et ta rigueur dans le travail. Merci pour les bonnes patates, merci pour ton soutien. C'était un honneur de travailler avec toi.

A Martine THOMAS HENAFF, pour la qualité de ton aide technique et tes orientations dans l'élaboration du protocole expérimental, merci pour le meilleur week-end passé dans une ferme bretonne.

A Jean-Luc MASSE, pour ton amitié et tes chamailleries sur les arabes chaque mercredi.

A Elisabeth REPERANT, pour ton hospitalité légendaire et ta gentillesse. Tu trouves ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au Dr Baroudi, pour son soutien moral, sa disponibilité et sa gentillesse.

A Laurence GORDON, pour m'avoir dirigée en bactériologie avec autant de rigueur.

Aux Daltons : Thierry, David et Michel, pour le réveil matinal et pour leur sympathie et gentillesse.

A l'équipe du laboratoire VIPAC de l'anses et plus particulièrement Olivier, François-Xavier, Céline, Audrey, Pascalé et Paul.

A mes collocataires : Yulong, Xiaole, Simone et Rui, pour cette amitié très forte malgré la différence de culture.

Dédicaces

A vous deux, Maman et Papa, à qui je dois d'être devenue ce que je suis. Vous m'avez supportée malgré mes exigences, vous avez su m'élever dans l'amour, la simplicité, la joie de vivre et le respect. Vous m'avez appris à savourer les petits bonheurs. Merci d'avoir toujours cru en moi.

A mes deux frères Mohammed et Abdellah, sachez qu'une grande sœur est faite pour embêter ses petits frères... c'est comme ça ! Que Dieu le tout puissant vous protège et vous trace le chemin du savoir et de la bonté. ,

A Massinissa, pour ta patience, ton soutien, ta compréhension, ton aide et surtout ton affection en toutes circonstances. Le meilleur reste à venir...

A mes futurs beaux parents, pour leur gentillesse et leur soutien permanent.

A mes grands parents dont la gentillesse n'a d'égal que l'immensité de l'univers.

A mes oncle et tante préférés Salah et Arlette.

A mes tantes préférées, Sadika, Lilia et Lamia.

A mes oncles préférés Abdesselam, Youcef, Mustapha, Aïssa, Hamoudi et Fethedine.

A tous mes cousins et cousines, en particulier Claire, Mehdi, Lamri, Tarek, Léonie, Paulin, Côme, et Amar.

A mes copines Sabrina, Zineb, Lili et Sarah pour tous les souvenirs partagés ensemble à l'école.

A tous mes amis et en particulier Meriem, Ryma, Amel, Chafik, Omar, Sihem et Rym avec qui j'ai passé tant de bons moments qui sont autant de bons souvenirs.

A tous ceux que je n'ai pas cités, tous ceux, qui par leur présence à mes côtés, ont été d'une valeur inestimable, qu'ils trouvent ici l'expression de mon immense estime et de mon affection.

	Page
Présentation de l'anses	
Introduction	1
Partie bibliographique	
L'Entérite nécrotique chez le poulet	
I. Importance	2
II. Etiologie	2
III. Taxonomie	2
IV. Morphologie	4
V. Habitat	4
VI. Forme de résistance : les spores	5
VII. Caractères biochimiques et culturels	5
VIII. Pathogénie de l'entérite nécrotique	6
IX. Clinique	9
X. Epidémiologie	12
XI. Traitement et prophylaxie	18
Les anticoccidiens ionophores	
I. Généralités	22
II. Propriétés physicochimiques	22
III. Types des ionophores	22
IV. Structure et mode d'action des ionophores carboxyliques	24
V. Actions prophylactiques	25
VI. Effet zootechniques des ionophores	28
VII. Problèmes de toxicité	29
Les modèles expérimentaux de l'entérite nécrotique	
I. Utilisation des souches de <i>Clostridium perfringens</i>	32
II. Co-infection avec des coccidies	33
III. Effet favorable de l'immunodépression	34
IV. Utilisation d'aliments riches en protéines	34
V. Modèle expérimental de l'entérite nécrotique établi par l'équipe de l'anses	35
Partie expérimentale	
Objectif de l'étude	39
Matériels et méthodes	
I. Période de l'étude	39
II. Lieu de l'étude	39
III. Premier essai : étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique (avec des souches de coccidies du laboratoire de parasitologie de l'anses)	39

IV.	Second essai : sélection d'un isolat de coccidies du terrain résistant aux anticoccidiens ionophores (narasin et monensin)	50
V.	Troisième essai : confirmation de la résistance aux ionophores (narasin et monensin) de l'isolat sélectionné	53
VI.	Quatrième essai : validation du modèle entérite nécrotique avec l'isolat de coccidies sélectionné	55
VII.	Cinquième essai : étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique dans les conditions du modèle expérimental, avec un isolat de coccidies du terrain résistant aux ionophores testes	57
VIII.	Tests statistiques utilisés pour l'analyse des résultats	59

Résultats

I.	Premier essai : étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique (avec des souches de coccidies du laboratoire de parasitologie de l'anses)	60
	I.1. évaluation des paramètres zootechniques retenus pour cet essai	60
	I.2. évaluation des paramètres cliniques et lésionnels pour cet essai	67
II.	Second essai : sélection d'un isolat de coccidies du terrain résistant aux anticoccidiens ionophores (narasin et monensin)	69
	II.1. Evaluation des isolats reçus du terrain (espèces de coccidies et concentration en oocystes)	69
	II.2. Evaluation de la sensibilité des isolats retenus aux anticoccidiens ionophores (narasin et monensin)	70
III.	Troisième essai : confirmation de la résistance aux ionophores (narasin et monensin) de l'isolat sélectionné	72
	III.1. Réévaluation de la résistance de l'isolat 9 au narasin	72
	III.2. Réévaluation de la résistance de l'isolat 9 au monensin	72
IV.	Quatrième essai : validation du modèle entérite nécrotique avec l'isolat de coccidies sélectionné	73
V.	Cinquième essai : étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique dans les conditions du modèle expérimental	74
	V.1. Evaluation des paramètres zootechniques	74
	V.2. Evaluation des paramètres cliniques et lésionnels	80

Discussion	82
------------	----

Conclusion et perspectives	86
----------------------------	----

Annexes

Références

Présentation de l'anses

Présentation de l'anses

anses : agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

Les laboratoires de l'anses sont au nombre de dix en France. Ce sont des laboratoires travaillant dans les domaines de l'alimentation, de la santé et du bien-être des animaux, de la santé des végétaux, de l'environnement et du travail. Certains laboratoires sont Laboratoires Nationaux de Référence (LNR) ou Laboratoires de Référence associés pour de nombreuses pathologies et travaillent sous assurance qualité en étant accrédités par le COFRAC (Comité Français d'Accréditation).



Figure 1 : les missions de l'anses

1. Présentation de l'anses Ploufragan/Plouzané

L'anses Ploufragan/Plouzané fait partie des dix laboratoires implantés sur le territoire français (figure 2).

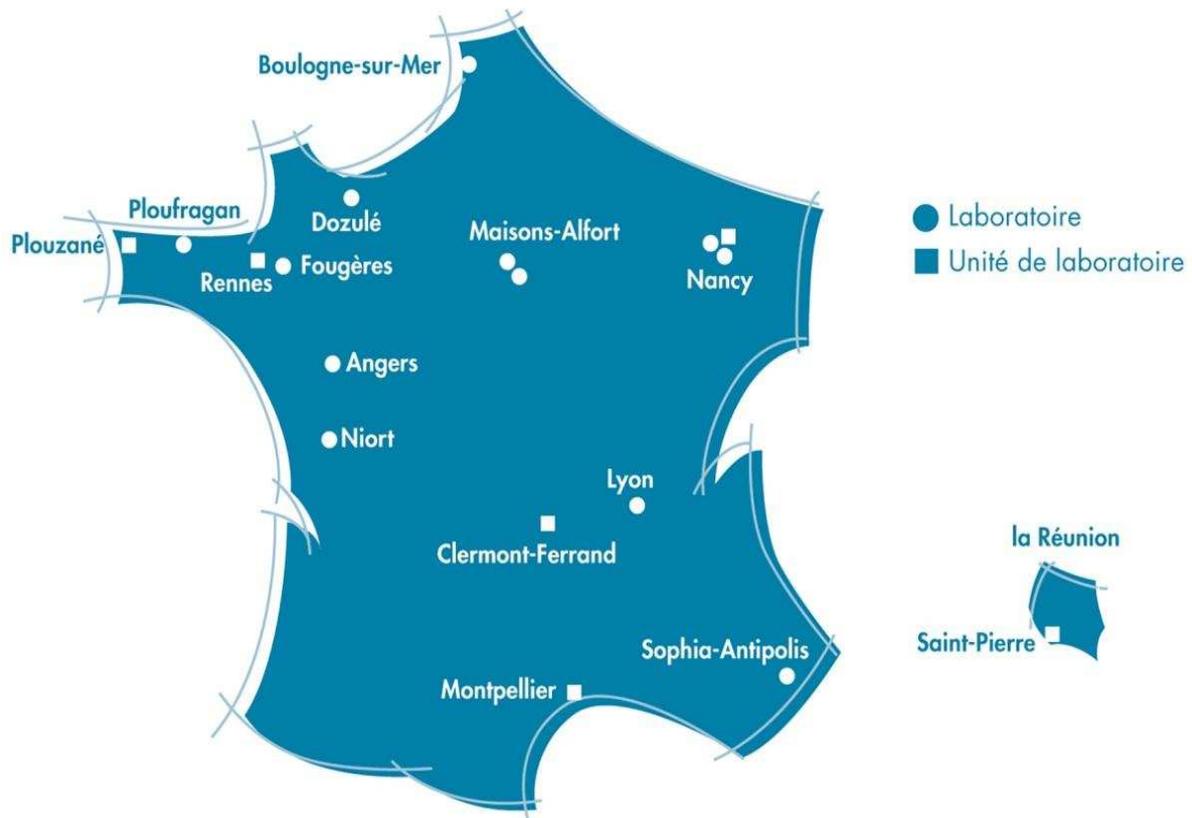


Figure 2 : implantation géographique des laboratoires de l'anses

Ce laboratoire s'occupe de recherche avicole, porcine et aquacole. Il est constitué de neuf unités de recherche, dont cinq dans le secteur avicole, parmi elles :

- l'unité de Virologie Immunologie Parasitologie Aviaires et Cunicoles (VIPAC) dont fait partie le laboratoire de parasitologie.
- l'unité d'Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins (HQPAP) où sont préparées les cultures de *Clostridium perfringens* de cette étude.

Présentation de l'anses

Le laboratoire de parasitologie est composé d'une équipe de 4 personnes :

- un scientifique responsable de l'étude : Dr Jean-Michel Répérant,
- une technicienne : Mme Martine Thomas,
- une adjointe de laboratoire : Mme Chantal Benoit,
- un technicien animalier : M. Pierre Le Bihannic.

Ils participent tous aux expérimentations qui ciblent essentiellement les coccidioses aviaires, avec un volet expérimental important.

Le bâtiment du laboratoire de parasitologie est composé de cinq animaleries, une salle de stockage des produits, une salle de mélange d'aliments et un laboratoire où s'effectuent

- les différentes techniques d'indentification des parasites.
- le traitement des contenus intestinaux (pour la récolte des oocystes de coccidies),
- la purification des souches de coccidies,
- la sporulation et le comptage des coccidies,
- l'entretien de ces souches, leur multiplication par passages réguliers sur volailles, et l'évaluation de leur pouvoir pathogène,
- La préparation de l'inoculum de coccidies.

Le laboratoire de parasitologie a également des activités d'appui technique sur le suivi des résistances aux anticoccidiens sur le terrain, ainsi que l'évaluation de nouvelles molécules anticoccidiennes.

*La partie
bibliographique*

Introduction

L'entérite nécrotique est une affection d'origine bactérienne du tube digestif des volailles. Elle est restée pendant longtemps une maladie sporadique avec une importance économique mineure. Aujourd'hui, elle est considérée comme l'une des maladies émergentes menaçant le plus l'industrie économique avicole. Les experts du terrain considèrent que la recrudescence de cette maladie est liée à l'interdiction des antibiotiques facteurs de croissance qui contrôlaient la flore intestinale.

Malgré l'importance de cette maladie, la pathogénie demeure partiellement méconnue ainsi que les différents facteurs qui interviennent dans le déclenchement de l'entérite nécrotique sur le terrain. Ces lacunes rendent difficile la reproduction expérimentale et l'évaluation objective de l'efficacité des différentes molécules contre l'entérite nécrotique.

L'impression que les anticoccidiens ionophores ont un effet bénéfique vis-à-vis de l'apparition des cas d'entérite nécrotique est partagée par plusieurs acteurs de la filière. Cette idée est corroborée par le fait que les ionophores sont des antibiotiques et qu'ils ont probablement un effet sur la flore intestinale. Néanmoins, cette affirmation ne semble pas démontrée dans la littérature scientifique, aucun travail n'ayant à notre connaissance montré un effet bénéfique des ionophores sur l'entérite nécrotique dans un modèle expérimental et en absence d'une infection coccidienne.

L'efficacité des ionophores sur l'inhibition du développement de l'entérite nécrotique reste donc une question non résolue dans un modèle contrôlé. Ce travail vise à répondre à cette question avec un modèle expérimental adapté.

Le présent document s'articule autour de deux parties : une première partie de synthèse bibliographique qui portera respectivement sur l'entérite nécrotique, l'utilisation des ionophores en aviculture, et enfin les différents modèles expérimentaux d'entérite nécrotique, et une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale conduite afin de tenter d'évaluer l'effet des ionophores sur le développement de l'entérite nécrotique.

*L'entérite
nécrotique chez le
poulet*

I. Importance

Décrite pour la première fois en Angleterre par Parish en 1961 (**BARNES *et al.*, 2003**), l'entérite nécrotique est la clostridiose la plus importante chez le poulet (**KERRY *et al.*, 2009**). Les clostridioses chez le poulet sont : le botulisme, l'entérite ulcérate, la dermatite gangréneuse et l'entérite nécrotique (**BRUGERE PICOUX et SILIM, 1992**). L'entérite nécrotique est restée longtemps une affection peu fréquente. Dans bon nombre de pays, elle a fait sa recrudescence avec l'interdiction de l'incorporation des antibiotiques comme facteurs de croissance dans l'aliment et est devenue en quelques années une affection digestive majeure.

En 2000, le cout de l'entérite nécrotique était estimé à plus de 5 US cent par oiseau, par plus de 57% de professionnels des productions avicoles à travers le monde (**VAN DER SLUIS, 2000**), soit un cout global, pour la production mondiale annuelle de poulets, d'environ 2 milliards de dollars (**HOFACRE, 2000**). En 2005, 79% de ces industriels estimaient que la situation était identique ou aggravée (**RIVIERE, 2009**).

II. Etiologie de l'entérite nécrotique

Tous les travaux effectués sur l'entérite nécrotique ont démontré que l'agent causal est *Clostridium perfringens* (**JOHANSSON et SARLES, 1948 ; MANN, 1945 ; WIJEWANTA et SENEVIRTNA, 1971 ; MCGAUGHEY, 1959 ; AL-SHEIKHLY et TRUSCOTT, 1977b**)

III. Taxonomie de la bactérie

L'espèce *C. perfringens* est d'abord rattachée au genre *Bacillus*. Elle est ensuite incluse dans le groupe des *Clostridium*. Deux noms d'espèce sont proposés à peu près en même temps et sont très utilisés : *C. perfringens* et *C. welchii*. **PRIBRAM (1929)**, puis **PREVOT (1938)** incluent cette espèce dans un genre différent, *Welchii*, en raison de caractères atypiques pour un *Clostridium* : absence de mobilité et de flagelles, présence d'une capsule (**VERON et LE MINOR, 1989**).

La classification actuelle de *Clostridium perfringens* est la suivante (www.ncbi.nlm.nih.gov) :

Phylum : *Firmicutes*

Classe : *Clostridia*

Ordre : *Clostridiales*

Famille : *Clostridiaceae*

Genre : *Clostridium*

Espèce : *Clostridium perfringens*

Types : *Clostridium perfringens* (A, B, C, D, et E)

Actuellement, on admet qu'il existe une seule espèce, *Clostridium perfringens*, avec cinq types A à E, le type F préalablement décrit étant maintenant inclus dans le type C. Ces cinq toxinotypes sont classés en fonction des sept toxines produites (alpha, beta, beta2, epsilon, iota, entérotoxine et Netb) (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004).

Tableau 1 : production de la toxine par les cinq types de *Clostridium perfringens* (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004)

Toxinotype	alpha toxine	beta toxine	iota toxine	epsilon toxine	entero toxine	beta 2 toxine
A	+	-	-	-	+	+
B	+	+	-	+	+	-
C	+	+	-	-	+	+
D	+	-	-	+	+	-
E	+	-	+	-	+	-

Il existe des différences de sensibilité de l'Homme et des espèces animales aux différentes toxines.

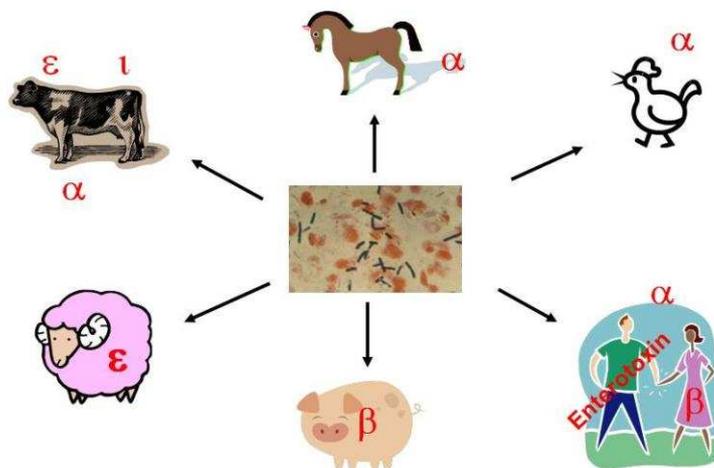


Figure 3 : sensibilité de l'Homme et des différentes espèces animales aux toxines produites par *Clostridium perfringens* (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004)

En production avicole, les souches de *C. perfringens* virulentes appartiennent en grande majorité au type A et dans une moindre part au type C.

IV. Morphologie

Clostridium perfringens est un bacille immobile, Gram positif, avec des mensurations en moyenne de 4 µm sur 1,5 µm, avec des bords parallèles et des extrémités arrondies (DAUBE, 1992 ; WALKER et al, 2004). L'épaisseur de la capsule est variable en fonction des souches et peut être discernée par coloration à l'encre de Chine de façon aisée sur un prélèvement (VERON et al., 1989). Les bacilles sont généralement isolés, parfois groupés en paires (WALKER et al., 2004).

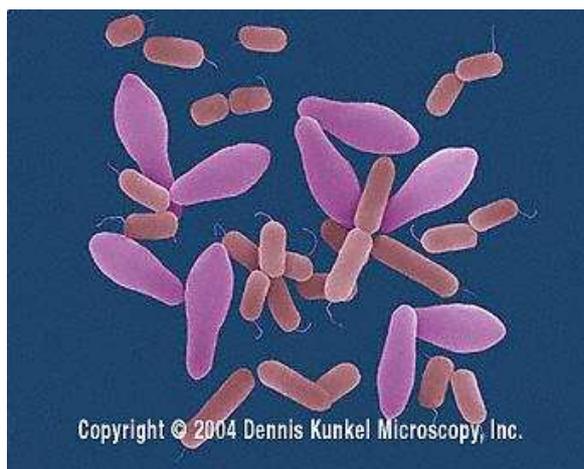


Figure 4 : *Clostridium perfringens* sous microscope électronique (grossissement : x1.600)

Source : www.denniskunkel.com (date de consultation : janvier 2012)

V. Habitat

Clostridium perfringens est une bactérie tellurique et ubiquitaire. Elle est présente le plus souvent en grand nombre dans l'environnement (sols, boues, poussières, litières) (VERON et al., 1989). En conditions favorables (pH entre 5.5 et 8, température entre 15 et 52°C), la population bactérienne peut doubler toutes les 3 à 5 minutes, ce qui explique la soudaineté des cas cliniques à *Clostridium perfringens* et la nécessité de réagir rapidement. En outre, la plupart des clostridies pathogènes font partie de la flore normale de l'intestin des animaux. Chez le poulet, *C. perfringens* se localise majoritairement au niveau des caecums et envahit l'intestin grêle lorsque les conditions sont favorables à sa prolifération (LU et al., 2003).

VI. Forme de résistance : les spores

Les spores de *C. perfringens* sont ovales et thermorésistantes. La sporulation permet à la bactérie de résister dans le milieu extérieur lorsque les conditions ne sont plus favorables à sa survie, c'est-à-dire lors de modification de pH et de température (VAN IMMERSSEEL *et al.*, 2004).

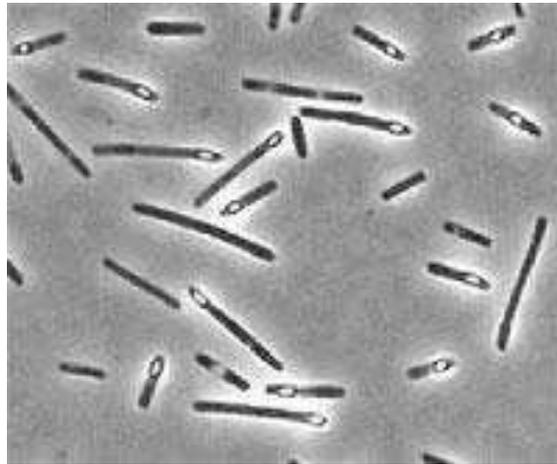


Figure 5 : endospores de *Clostridium perfringens*
Source <http://oregonstate.edu/research/Images/SarkerSlide.jpg>(2012)

VII. Caractères biochimiques et cultureux

Il s'agit d'une bactérie anaérobie stricte, aéro-tolérante (sa croissance est possible en surface avec 5% d'oxygène en présence d'un catalyseur activé par H₂), déficiente en catalase et en peroxydase, produisant des endospores. Elle possède un fort potentiel de réduction du milieu. En effet, la production de divers métabolites, et en particulier d'hydrogène, au cours de la phase de croissance, a un effet réducteur (KOHLER, 2000). Sa température habituelle de croissance dans les milieux de culture est comprise entre 34 et 37°C, mais elle pousse de manière optimale à 46°C. Cette dernière température est utilisée lors de l'incubation pour enrichir les cultures. Son développement est possible à pH compris entre 5 et 9. Elle est saccharolytique et protéolytique, c'est-à-dire qu'elle transforme les glucides et les protéines en différents composés dont quelques-uns sont toxiques (PILET *et al.*, 2002). Toutes les souches réduisent les sulfites en sulfures. Ce critère est utilisé pour dénombrer *C. perfringens* dans l'eau, le sol et les fèces. Elle produit des gaz (dioxyde de carbone, dihydrogène) et des acides (acides acétique et butyrique) lors des fermentations de nombreux glucides, en particulier le glucose (VAN IMMERSSEEL *et al.*, 2004).

VIII. Pathogénie de l'entérite nécrotique

Malgré l'importance de l'entérite nécrotique, la pathogénie reste partiellement élucidée par les chercheurs.

- Implication des coccidies

Les coccidies sont considérées comme un facteur majeur dans le déclenchement de l'entérite nécrotique (WILLIAMS, 2005 ; BRADLEY et RADHAKRISHNAN, 1973 ; KIMURA *et al.*, 1976 ; AL-SHEIKLY et AL-SAIG, 1980). Les coccidies envahissent et détruisent les cellules épithéliales conduisant à un défaut de perméabilité de la barrière intestinale. S'ensuit alors une fuite des protéines plasmatiques (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004). L'infection coccidienne induit une réponse immunitaire des cellules T intestinales et une production accrue de mucus au niveau intestinal (COLLIER *et al.*, 2008). La présence du mucus et des protéines plasmatiques dans la lumière intestinale favorise la prolifération de *Clostridium perfringens* et le développement de l'entérite nécrotique (TIMBERMONT *et al.*, 2011).

- Production de la toxine

Il y a plus de 20 ans, AL SHEIKLY *et al.* (1977b) et FUKATA (1988) ont considéré la toxine α comme le facteur de virulence majeur dans l'entérite nécrotique. Leurs arguments étaient que le surnageant d'une culture pure de *Clostridium perfringens* type A induisait des lésions typiques d'entérite nécrotique, que la majorité des souches de *Clostridium perfringens* isolées d'animaux malades d'entérite nécrotique étaient toutes de type A et que les anticorps produits contre des souches de *Clostridium perfringens* type A empêchent le développement des lésions d'entérite nécrotique chez les poussins.

VAN IMMERSEEL *et al.* (2009) considèrent que ces résultats ne sont pas clairs, et qu'un surnageant d'une culture pure de souche de *Clostridium perfringens* de type A peut contenir des molécules autres que la toxine α , capables de favoriser ou d'induire le développement des lésions d'entérite nécrotique.

L'hypothèse que la toxine α soit le facteur de virulence majeur a été largement discutée. SI *et al.* (2007) favorisent cette hypothèse et ils ont démontré une corrélation positive entre le développement de l'entérite nécrotique et l'augmentation de la concentration de la toxine α au niveau intestinal.

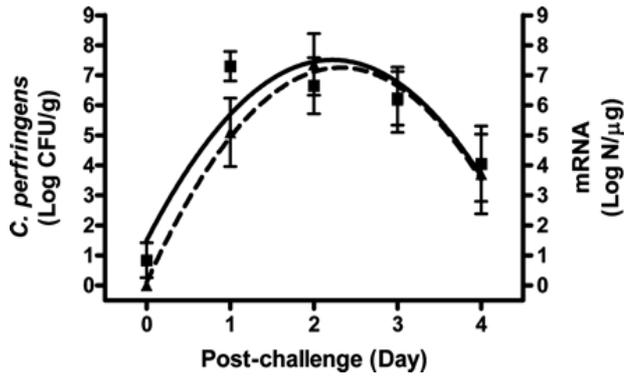


Figure 6 : évolution de la prolifération de *Clostridium perfringens* et la production de la toxine (SI *et al.*, 2007)

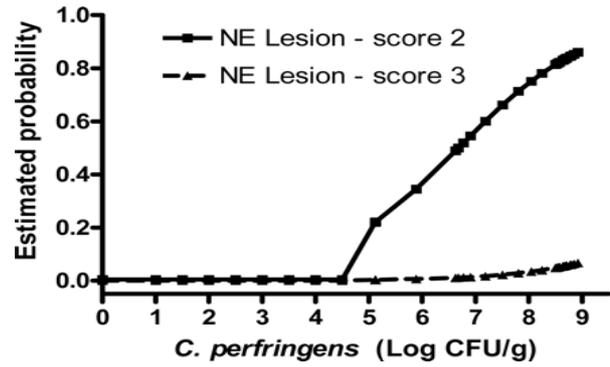


Figure 7 : relation entre la prolifération de *Clostridium perfringens* et l'incidence de l'entérite nécrotique (SI *et al.*, 2007)

L'immunité contre l'entérite nécrotique n'est induite que par des souches virulentes de *Clostridium perfringens*. Suite au développement des lésions d'entérite nécrotique, il y a production de cinq protéines immunogènes qui sont : la toxine α , la glyceraldehyde-3 phosphate dehydrogenase (GPD), la pyruvate ferredoxin oxidoreductase (PFOR), la fructose 1,6 biphosphate aldolase (FBA) et une protéine hypothétique (HP) (KULKARNI *et al.*, 2006).

En 2007, ces mêmes chercheurs ont testé l'injection intramusculaire des protéines immunogènes : la toxine α seule, la toxine α avec son anatoxine, la GPD, la PFOR, la FBA et la HP. Après une inoculation de 10^8 UFC/ml d'une souche virulente de *Clostridium perfringens* à des poussins, ils obtenaient une bonne protection contre l'entérite nécrotique avec l'association toxine α /anatoxine, la HP et la PFOR (tableau 2).

Tableau 2 : lésions intestinales des poulets immunisés avec différentes protéines et inoculés avec une culture de *Clostridium perfringens* (KULKARNI *et al.*, 2006).

Protein	No. of chickens	No. of chickens with the following lesion scores:						Mean no. of chickens
		0	1+	2+	3+	4+	5+	
Vehicle-only controls	22	0	5	5	6	4	2	2.68
Alpha toxoid/toxin ^{a,b}	19	10	8	1	0	0	0	0.53
HP ^a	20	8	6	4	2	0	0	1.0
GPD	18	4	4	6	1	1	1	1.64
tPFOR ^a	19	9	2	6	2	0	0	1.05
GPD + HP	19	5	5	7	1	1	0	1.36

Certains chercheurs ne favorisaient pas l'idée impliquant la toxine α dans le développement de l'entérite nécrotique, car ils avaient trouvé que les niveaux de production de la toxine α étaient similaires entre les souches de *Clostridium perfringens* type A, isolées d'animaux atteints d'entérite nécrotique et les souches de *Clostridium perfringens* type A d'animaux sains (GHOLAMIANDEHKORDI *et al.*, 2006). L'entérite nécrotique peut être reproduite par la toxine α isolée de souche *Clostridium perfringens* de poulet atteint de la maladie, tandis qu'elle n'est pas reproduite avec la toxine α isolée de souche *Clostridium perfringens* de poulet sain ou isolée des cas d'entérite hémorragique chez le veau (TIMBERMONT *et al.*, 2008).

KEYBURN *et al.* (2006), ont montré que des mutants négatifs de la toxine α isolés des souches *Clostridium perfringens* peuvent induire des lésions spécifiques d'entérite nécrotique. Ces résultats sont à prendre avec précaution car l'étude a été réalisée sur des poulets standards avec une flore intestinale non contrôlée. Ces mêmes chercheurs (2008, 2010) ont décrit une nouvelle toxine NetB isolée de cas d'entérite nécrotique. Ils ont montré que les mutants négatifs de la toxine NetB n'induisaient pas des lésions d'entérite nécrotique, alors que le mutant négatif d'une NetB complémenté d'un gène exprimant la NetB induisait des lésions typiques d'entérite nécrotique chez le poulet. Ils ont également démontré que la toxine NetB était présente dans la majorité des souches de *Clostridium perfringens* isolées d'animaux atteints d'entérite nécrotique alors qu'elle est toujours absente dans des souches de *Clostridium perfringens* isolées d'animaux sains.

- Sécrétion des enzymes collagénolytiques

Certains chercheurs suggèrent que les premières modifications pathologiques dues à l'entérite nécrotique sont causées par l'activité des enzymes collagénolytiques. OLKOWSKI *et al.* (2006, 2008) ont montré que la destruction des villosités intestinales commence initialement au niveau de la membrane basale puis par les membranes latérales et la *Lamina propria*, et que la destruction de l'épithélium se fait plus tardivement. La nature de ces changements morphologiques indique que l'initiation du processus de destruction implique des facteurs protéolytiques affectant la matrice extracellulaire et les jonctions cellulaires. Ces chercheurs ont constaté que lorsqu'ils inoculaient à des poulets des souches de *Clostridium perfringens* isolées de cas de terrain, ils trouvaient des niveaux élevés d'enzymes collagénolytiques dans l'intestin contrairement aux lots témoins non inoculés. Ils suggèrent alors que le processus de destruction est dû soit aux collagénases bactériennes dont l'action est stimulée lorsqu'il y a destruction de l'épithélium intestinal (ex : par les coccidies), soit aux métalloprotéinases qui sont activées par interaction hôte-agent pathogène (OLKOWSKI *et al.*, 2008).

- Adhésion de *Clostridium perfringens* aux entérocytes

Clostridium perfringens adhère aux entérocytes en se liant à quelques molécules de la matrice extracellulaire, une stratégie utilisée par de nombreuses entérobactéries (MARTIN et SMYTH, 2010, WADE *et al.*, 2010).

Ces molécules de la matrice extracellulaire ne sont pas présentes dans un épithélium intestinal sain. On les retrouve en grande quantité lorsqu'il y a une destruction de l'épithélium intestinal (par les coccidies, toxines ou enzymes collagénolytiques secrétées par *Clostridium perfringens*). Il a été montré que les souches pathogènes de *Clostridium perfringens* produisant la toxine NetB sont capables de se lier mieux que les souches non pathogènes, au collagène type III, type IV, type V, au fibrinogène, à la laminine et à la vitronectine. Le mutant (produisant l'anatoxine) d'une souche de *Clostridium perfringens* pathogène et productrice de NetB n'est pas capable d'adhérer *in vivo* à ces molécules de la matrice extracellulaire. Les chercheurs ont suggéré que cette capacité d'adhésion aux molécules extracellulaires propre aux souches pathogènes forme un facteur clé dans le développement de l'entérite nécrotique (WADE *et al.*, 2010).

IX. Clinique

La description des infections à *C. perfringens* chez la volaille s'est longtemps limitée à la description de la forme aiguë de la maladie, l'entérite nécrotique. Certains auteurs (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004 ; KOHLER, 2000 ; VAN DER SLUIS, 2000) considèrent que l'entérite nécrotique peut se présenter sous forme subclinique et que les clostridies jouent un rôle dans l'apparition des dysbactérioses et des cholangio-hépatites.

IX.1. Forme aiguë

L'entérite nécrotique est particulièrement fréquente chez les jeunes individus, âgés de 15 à 40 jours pour le poulet de chair et de 25 à 40 jours pour la dinde (DOUCET, 1999). Quelques cas ont été rapportés chez des oiseaux plus âgés, notamment des poules pondeuses au sol ou en cage (BARNES, 2003). Les signes cliniques associés à l'évolution de cette maladie sont la prostration et l'anorexie, parfois accompagnées de diarrhée. Dans bon nombre de cas toutefois, les symptômes restent très frustes et le signe d'alerte est une mortalité brutale, avec putréfaction rapide des cadavres. Les lésions observées se situent majoritairement au niveau du jéjunum et de l'iléon. Les intestins apparaissent friables, distendus par des gaz. La muqueuse intestinale, parfois congestive,

L'entérite nécrotique chez le poulet

présente des foyers de nécrose (figure 8). Dans les cas les plus sévères, elle est recouverte d'une pseudomembrane diphtérique jaune ou verte (figure 9 et 10). On observe parfois des lésions hépatiques associées, correspondant à une hypertrophie et à la présence de foyers de nécrose punctiformes.



Figure 8 : lésions d'entérite nécrotique : foyers de nécrose au niveau du jéjunum
(photo prise durant l'étude à l'anses, février 2012)



Figure 9 : lésion d'entérite nécrotique : nécrose diffuse au niveau du jéjunum
(photo prise durant l'étude à l'anses, octobre 2011)



Figure 10 : lésion d'entérite nécrotique : muqueuse congestive et pseudomembrane diphthérique verte au niveau du jéjunum (photo prise durant l'étude à l'anses, octobre 2011)

Sur le plan histo-pathologique, on observe une nécrose apicale des villosités intestinales associée à une colonisation de la *Lamina propria* par les corps bactériens. Autour des foyers de nécrose, de nombreux granulocytes hétérophiles sont présents. La progression des lésions se fait ensuite vers les cryptes. Dans les cas les plus sévères, des lésions de nécrose de la sous-muqueuse et de la musculature peuvent être observées (RIVIERE, 2008).

IX.2. Forme subclinique

La forme subclinique de l'entérite nécrotique fait partie d'un syndrome qui affecte l'ensemble de la production de poulets de chair et qui se caractérise par une inflexion de la courbe des gains moyens quotidiens entre l'âge de 24 et 30 jours (VAN IMMERSSEEL *et al.*, 2004).

Ce syndrome porte différentes appellations selon la zone géographique : entérite clostridienne, dysbactériose ou SIBO (small intestinal bacterial overgrowth).

Les signes cliniques majeurs observés sont une dégradation des fientes et une augmentation du ratio eau/aliment. Les fientes sont volumineuses, moulées, et grasses. *C. perfringens* est aussi associé à l'évolution d'un autre trouble, la cholangio-hépatite, dont les signes ne sont en général détectés qu'à l'abattage avec saisie des carcasses ou des foies (VAN IMMERSSEEL *et al.*, 2004 ; VAN DER SLUIS, 2000). Histologiquement, on observe une hyperplasie du conduit biliaire, des nécroses fibroïdes associées à des foyers d'inflammation granulomateuse. Ces lésions sont probablement dues à une diffusion, par les conduits biliaires ou le système porte, des *C. perfringens* présents en nombre important dans l'intestin moyen.

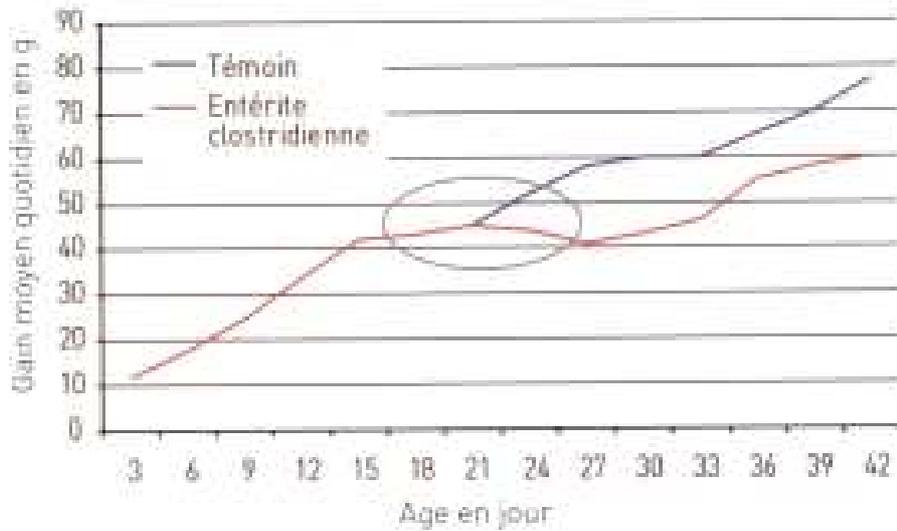


Figure 11 : effet de l'entérite clostridienne sur le gain moyen quotidien (**RIVIERE, 2008**)

X. Epidémiologie

En France, les fréquences de signalement de l'entérite nécrotique par les vétérinaires, pour l'année 2010, ont atteint 2.1% en poulet de chair et 62% en poulet label sur plusieurs milliers d'observations cliniques effectuées.

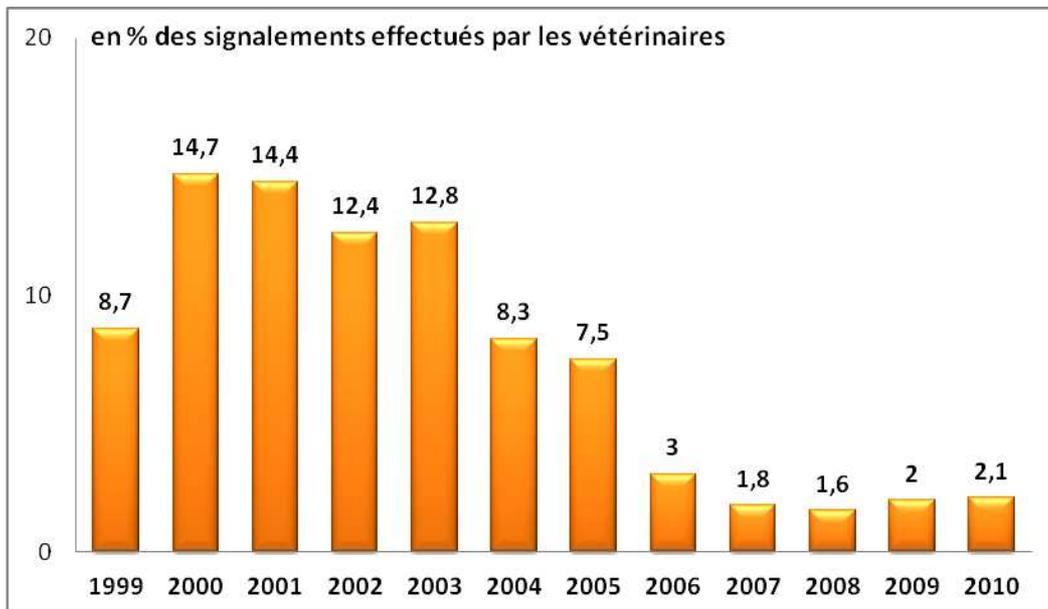


Figure 12 : Évolution des cas d'entérite nécrotique chez le poulet de chair (**RNOEA-Ploufragan, 2010**)

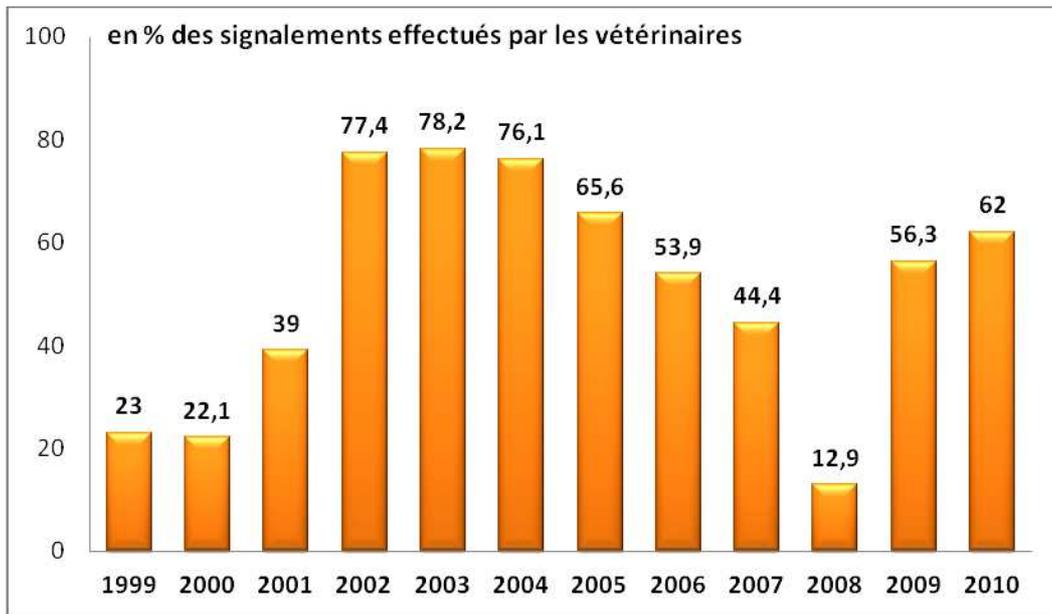


Figure 13 : évolution des cas d'entérite nécrotique chez le poulet label (RNOEA-Ploufragan, 2010)

Bien que l'agent pathogène responsable de l'entérite nécrotique ait été bien défini, toutefois l'épidémiologie reste assez complexe et plusieurs paramètres interviennent dans sa manifestation.

X. 1. Répartition géographique

L'entérite nécrotique a été rapportée dans la majorité des pays producteurs de volailles, à travers le monde. Cette maladie a causé beaucoup de problèmes surtout dans les pays nordiques comme la Suède en 1986 (WIERUP, 2005).

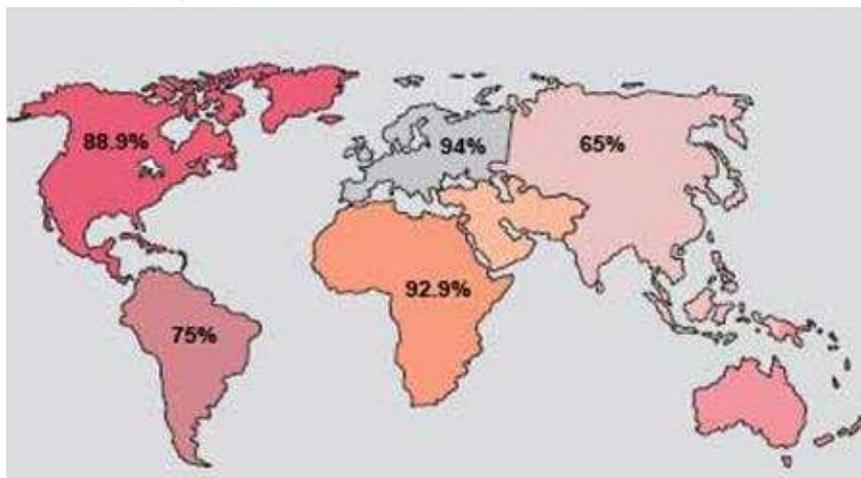


Figure 14 : fréquence des cas d'entérite nécrotique dans le monde (VAN DER SLUIS, 2000)

Une recrudescence des cas d'entérite nécrotique a été signalée en 2000, dans le Royaume-Uni, la Hollande, l'Europe, l'Asie et le continent Nord-Américain (TICE, 2002 ; WILLIAMS, 2005). Par la suite, des poussées d'entérite nécrotique ont été rapportées par GRAVE *et al.* (2001) en Norvège entre 1995 et 2001, chez le poulet de chair.

X. 2. Saison

Ce facteur semble très controversé, puisque des cas d'entérite nécrotique ont été rencontrés en période hivernale en Norvège, tandis qu'au Canada, la maladie avait une incidence estivale (WILLIAMS, 2005).

D'autre part, il a été noté des variations régionales d'incidence dans un même pays, comme en Australie où la maladie était surtout hivernale dans l'état de Victoria et estivale au Queensland, alors qu'elle ne semblait pas être liée à la saison dans l'Australie Occidentale (KALDHUSDAL, 2001). Ces informations sont à relativiser car les températures hivernales diffèrent d'un pays à un autre ; ainsi les températures de l'hiver en Australie ne sont pas forcément les mêmes en France.

X. 3. Espèces et âges

L'entérite nécrotique affecte la majorité des espèces de volailles, elle semble plus présente dans la filière chair, poulet de chair, dinde, poulet label, ainsi que leurs reproducteurs. Elle a aussi été observée chez les poules pondeuses.

Chez le poulet de chair, la plupart des publications s'accordent sur le fait que cette maladie affecte les oiseaux entre 2 et 6 semaines d'âge (AL-SHEIKLY et TRUSCOTT, 1976 ; KALDHUSDAL LOVLAND *et al.*, 1999 ; WILLIAMS, 2005).

La relation âge et maladie peut dépendre de certains facteurs comme l'immunité et la gestion de l'élevage, ainsi que les types et les programmes d'additifs utilisés à la mise en place.

X. 4. Mode de transmission

Alors que la plupart des auteurs s'accordent sur le fait que l'entérite nécrotique ne se manifeste qu'à partir de la deuxième semaine **SHANE *et al.*, (2004)** rapportent que la maladie peut toucher les poussins et suggèrent ainsi que la transmission verticale semble possible.

La transmission horizontale est la plus fréquente, car souvent l'environnement de l'élevage est impliqué (**WALKER *et al.*, 1998**) et l'aliment peut être contaminé par les spores de *Clostridium perfringens*, qui peuvent résister à une température de 100°C (**PARISH, 1961**).

X. 5. Facteurs de risque

X.5.1. Interdiction de l'utilisation des antibiotiques facteurs de croissance

En 1986, la Suède a interdit l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance dans l'alimentation des volailles. La liste des interdictions n'a cessé de s'allonger ensuite dans l'Union européenne.

L'une des premières conséquences de ce retrait en alimentation animale a été l'augmentation significative des infections signalées en élevage, en particulier les élevages de poulet de chair où les pertes causées par l'entérite nécrotique ont été significativement plus importantes.

C'est le cas de l'Espagne, la France et la Norvège qui ont assisté à des poussées d'entérite nécrotique suite au bannissement de ces antibiotiques (**WILLIAMS, 2005 ; VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004**).

En 2001, 31% des élevages de volailles au Royaume-Uni ont présenté des cas d'entérite nécrotique. Pour leur part, les éleveurs américains ont enregistré des taux élevés des différents types de clostridioses (entérite nécrotique, cholangiohépatite, botulisme et la dermatite gangréneuse) après l'arrêt de l'utilisation de ces antibiotiques facteurs de croissance dans l'alimentation (**WILLIAMS, 2005**).

Ainsi, l'expérience suédoise indique que le retrait des antibiotiques facteurs de croissance a un impact négatif sur la santé des animaux, le bien-être et le rendement économique des élevages. Ceci a entraîné une augmentation de l'utilisation des antibiotiques à titre curatif et préventif qui peut être un facteur favorisant l'émergence d'antibiorésistances. Ainsi, des souches de *Clostridium*

perfringens type A semblent manifester des résistances contre certaines molécules utilisées en thérapeutique aviaire, telles que l'oxytétracycline, et la flavomycine (**KNARREBORG *et al.*, 2002**).

X.5.2. Litière humide

L'entérite nécrotique et la dysbactériose sont deux principaux désordres digestifs susceptibles d'être favorisés par une litière de mauvaise qualité (**KENNY 2003, KALDHUSDAL *et al.*, 1999**).

Quelques paramètres tels que des fuites au niveau des abreuvoirs, des températures élevées, une augmentation de l'hygrométrie, une mauvaise ventilation et une forte densité aboutissent tous à une litière de mauvaise qualité perturbant le confort des animaux et favorisant le développement de certaines maladies comme l'entérite nécrotique.

X.5.3. Hygiène défailante

L'absence des bonnes pratiques d'hygiène et de décontamination facilitent la persistance des spores de *Clostridium perfringens* qui peut constituer une source de contamination permanente pour les oiseaux à travers la litière, le sol, le matériel d'élevage, les lieux de stockage des aliments, les bottes et tous les éléments pouvant véhiculer ces spores.

X.5.3. L'alimentation

L'alimentation peut jouer un rôle important dans le déclenchement de l'entérite nécrotique, d'ailleurs plusieurs chercheurs utilisent ce facteur pour induire expérimentalement des lésions d'entérite nécrotique.

- La contamination de l'aliment par des spores de *Clostridium perfringens* : il est extrêmement difficile d'assurer une alimentation exempte de spores, étant donné que le processus de traitement des aliments ne dure que quelques minutes à une température de 85°C, et les spores de *Clostridium perfringens* tolèrent une température qui peut aller jusqu'à 100°C pendant 2 heures selon **WILLIAMS (2005)**.
- La contamination de l'aliment par les mycotoxines : les mycotoxines peuvent être responsables de la perturbation des fonctions digestives, en détruisant les villosités

intestinales, et en diminuant la sécrétion de la bile qui a une action destructrice sur les toxines de *Clostridium perfringens*. D'un autre côté, les mycotoxines sont responsables de la diminution des mécanismes de réponse immunitaire, rendant ainsi l'animal plus enclin à développer une entérite nécrotique (**APAJALAHTI et al., 1998, 2004**).

- Certains régimes alimentaires riches en céréales sont utilisés expérimentalement dans le déclenchement de l'entérite nécrotique, principalement le blé, l'orge et l'avoine (**AL-SHEIKLY et TRUSCOTT, 1977a ; BRANTON et al., 1987 ; RIDDELL et KONG, 1992 ; HOFSHAGEN et KALDHUSDAL, 1992**). Cela est expliqué par la présence des polysaccharides non amylacés (PSNA) dans ce type de céréale, qui sont indigestibles chez les poulets faute d'enzymes spécifiques. Ils entraînent une augmentation de la viscosité intestinale, un ralentissement du transit et des désordres de la flore digestive, susceptibles de favoriser la fermentation et la croissance de germes anaérobies dont *Clostridium perfringens*.
- Les protéines jouent un rôle non négligeable dans les manifestations de l'entérite nécrotique. D'abord, les protéines d'origine végétale contiennent des carbohydrates (glucides) peu digestibles tels que les oligosaccharides qui diminuent l'absorption des nutriments et perturbe ainsi la flore intestinale en favorisant la flore pathogène et le développement de l'entérite nécrotique (**WILLIAMS, 2005**). Quant aux protéines d'origine animale telles que les farines de poisson, elles sont utilisées expérimentalement pour l'induction des lésions d'entérite nécrotique (**LU et al., 2006**). Ceci est lié aux taux élevés de glycine et de méthionine dans les farines de poisson, car ces deux acides aminés stimulent la croissance de *Clostridium perfringens in vitro* et risquent d'augmenter le taux d'azote. D'après **KALDHUSDAL et SKJERVE (1996)**, les clostridies ont besoin d'être exposées à des taux élevés d'azote pour qu'elles deviennent virulentes.
- Les études réalisées par **KNARREBORG et al. (2002)** ont montré que les graisses animales favorisaient la multiplication de *Clostridium perfringens* au niveau intestinal, principalement au niveau de l'iléon. Les matières grasses sont sujettes à des oxydations, et la présence de radicaux libres risque de nuire à la muqueuse intestinale en la rendant plus vulnérable à la multiplication des germes tels que *Clostridium perfringens*.
- D'après les travaux de **BABA et al. (1992)**, une alimentation riche en zinc prédispose à l'apparition des cas d'entérite nécrotique. Le zinc protège les toxines de *Clostridium perfringens* contre l'action de la trypsine.

- Une transition brutale de la composition de l'aliment distribué aux animaux peut perturber non seulement la motilité intestinale mais aussi la flore intestinale en favorisant la multiplication des anaérobies telles que *Clostridium perfringens* (**BRANTON *et al.*, 1997**).
- La taille des particules composant le régime alimentaire peut également jouer un rôle dans l'entérite nécrotique mais ce facteur reste toujours discuté par les chercheurs. Certaines études ont montré que les grosses particules dans l'aliment ont engendré un taux de mortalité élevé lié à l'entérite nécrotique par rapport à l'utilisation de particules plus fines (**BRANTON *et al.*, 1987 ; ENGBERG *et al.*, 2002**). Cependant, **RIDDELL et KONG (1992)** ont constaté qu'il n'y avait pas de corrélation entre l'entérite nécrotique et la taille des particules de blé allant de 1,5 mm à 6 mm.

X.5.4. Maladies intercurrentes

Les coccidioses, les salmonelloses, les mycoses du gésier, la bursite infectieuse, l'anémie infectieuse du poulet et la maladie de Marek sont considérées comme des maladies prédisposantes à l'entérite nécrotique (**SHIVARAMAIAH *et al.*, 2011 ; WILLIAMS *et al.*, 2003 ; GHOLAMIANDEHKORDI *et al.*, 2007 ; McREYNOLDS *et al.*, 2007 ; STRINGFELLOW *et al.*, 2009 ; TIMBERMONT *et al.*, 2009**). Le lien salmonellose-entérite nécrotique a été décrit récemment par **SHIVARAMAIAH *et al.* (2011)**. Ces chercheurs ont induit expérimentalement des lésions d'entérite nécrotique avec une infection à *Salmonella typhimurium* chez des poussins âgés d'un jour. Ils suggèrent le rôle de la paratyphose chez le poulet dans le développement de l'entérite nécrotique sur le terrain. Les liens coccidioses-entérite nécrotique, maladies immunodépressives-entérite nécrotique seront décrits dans le chapitre : modèles expérimentaux d'entérite nécrotique.

XI. Traitement et prophylaxie

XI.1. Administration des antibiotiques

Par le passé, la prévention des atteintes clostridiennes était assurée par l'utilisation d'additifs antibiotiques couramment appelés "facteurs de croissance" comme par exemple la bacitracine, l'avoparcine et la virginiamycine.

L'interdiction par l'Union Européenne de l'utilisation de ces additifs a rendu nécessaire l'exploration de nouvelles méthodes de contrôle (**WILLIAMS, 2005**). Lors d'un épisode clinique avec mortalité, l'administration d'antibiotiques (pénicilline A, tylosine, lincomycine) permet de

stopper l'évolution de la maladie. D'autre part, les molécules coccidiostatiques de type ionophores sont considérées comme efficaces pour réduire le nombre des bactéries anaérobies (et notamment *Clostridium perfringens*) dans le contenu intestinal (HOFACRE, 2000). L'administration préventive, lors des périodes à risque, des molécules utilisables lors des épisodes cliniques est aussi parfois pratiquée. Si ces méthodes peuvent paraître satisfaisantes à court terme, notamment sur les plans économique et du bien-être animal.

XI.2. Maîtrise des facteurs favorisants

XI.2.1. L'alimentation

La modification des formules et des programmes alimentaires (diminution de l'incorporation des céréales à risque, contrôle des digestibilités et de la viscosité des aliments durant la période à risque) ainsi que l'incorporation d'enzymes, peuvent aider à la prévention des entérites clostridiennes. Les apports de fructo-oligosaccharides ou de manno-oligosaccharides donnent quant à eux des résultats controversés (HOFACRE *et al.*, 2003 ; WILLIAMS, 2005).

XI.2.2. L'hygiène

Une bonne maîtrise de l'hygiène permettra de minimiser les problèmes liés à d'autres maladies, surtout d'ordre digestif, facilitant le déséquilibre de la flore intestinale en faveur de *Clostridium perfringens* comme la salmonellose et les coccidioses.

XI.2.3. Probiotiques

Maintenir la stabilité de la flore digestive est essentiel pour prévenir les dysbactérioses et l'apparition d'entérite nécrotique. Les probiotiques ont récemment été définis : un probiotique est une préparation de micro-organismes vivants, consommés par les humains ou les animaux, qui ont un effet bénéfique par leur influence quantitative ou qualitative sur la microflore intestinale et/ou sur le statut immunitaire (FULLER, 1999).

Une étude réalisée au Caire a montré que l'administration alimentaire de *Pediococcus acidilactici*, pendant 49 jours, réduit significativement la colonisation intestinale et caecale chez les animaux infectés expérimentalement par *C. perfringens*, comparativement aux témoins non traités (AWWAD *et al.*, 2005).

XI.2.4. Acides organiques

Les propriétés antimicrobiennes *in vitro* de nombreux acides organiques sont bien connues, particulièrement pour leur action sur les bactéries sensibles aux pH acides, comme *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria* spp et *Clostridium* spp. Cependant, l'effet antimicrobien des acides est très variable d'un acide à l'autre et dépend de la concentration et du pH. L'acidification de l'aliment avec un ou plusieurs acides est utilisée chez le porc depuis plusieurs années et semble donner des résultats satisfaisants dans la maîtrise des affections digestives bactériennes. Des recherches complémentaires sur les effets des acides organiques en élevage de volailles semblant toutefois nécessaires pour conclure (RIVIERE, 2008).

XI.2.5. Maîtrise des coccidies

Les additifs coccidiostatiques, particulièrement les ionophores, sont mentionnés comme limitant l'expression des entérites nécrotiques. Ces molécules étant contre-indiquées dans les lots vaccinés par des vaccins atténués, la perception générale est que la vaccination anticoccidienne pourrait favoriser l'expression des *Clostridium* spp.

Dans un essai publié en 2003, WILLIAMS montre que la contamination par *Eimeria maxima* d'animaux non immunisés occasionne des lésions intestinales qui favorisent le développement des clostridies présentes dans le tube digestif (même dans des lots qui ne sont pas exposés expérimentalement aux clostridies). L'absence de lésions clostridiennes dans les lots vaccinés contre la coccidiose, qu'ils subissent ou non un challenge coccidien, établit clairement que la vaccination n'exacerbe pas les effets d'une infection expérimentale par les clostridies. Cet essai permet, par ailleurs, de démontrer que l'immunisation des animaux vis-à-vis des coccidioses subcliniques diminue l'impact des challenges clostridiens. La vaccination anticoccidienne n'est pas un facteur favorisant de l'entérite nécrotique et est même considérée par certains producteurs comme un moyen de prévention de ces affections.

XI.2.6. Prophylaxie vaccinale

L'utilisation de toxine inactivée (anatoxine) pour stimuler l'immunité d'un individu vis-à-vis d'une clostridiose est très largement répandue (vaccination antitétanique). Des expérimentations réalisées sur le modèle murin ont permis de démontrer le pouvoir neutralisant des anticorps dirigés contre les toxines α produites par *C. perfringens*. Par ailleurs, l'immunisation maternelle est communément utilisée pour la prévention des clostridioses néonatales des veaux et des porcelets. Le problème apparaît différent chez la volaille, où la transmission d'anticorps maternels ne concerne que les IgY à demi-vie courte. Il n'existe pas, comme dans les autres espèces, de transfert d'IgA.

L'immunisation maternelle est utilisée avec succès pour d'autres maladies des volailles (maladie de Gumboro), et permet de protéger un grand nombre de sujets (amplification). La vaccination par les anatoxines de *C. perfringens* (par voie intramusculaire) de poules reproductrices à l'âge de 14 et 18 semaines, ou à 10 et 23 semaines, entraîne une augmentation significative des taux d'anticorps circulants dans le sérum des poules jusqu'aux âges respectifs de 49 et 55 semaines. Ces augmentations sont corrélées aux concentrations d'anticorps présents dans le sac vitellin ou dans le sérum des poussins âgés de un jour. (LOVLAND *et al.*, 2004).

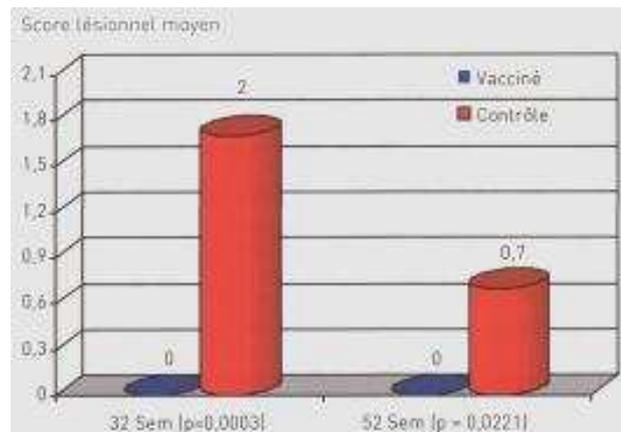


Figure 15 : score lésionnel moyen chez des poulets exposés expérimentalement à *C. perfringens* à l'âge de 15 jours. Comparaison entre deux lots vacciné et non vacciné (témoin).

Des essais en station ont été réalisés chez des poussins issus de poules âgées de 32 et 52 semaines, vaccinées ou non. Les poussins des deux groupes subissaient un challenge clostridien à l'âge de 15 jours et des indices lésionnels à *C. perfringens* ont été réalisés six jours après challenge. La vaccination semble protéger totalement les poulets contre l'entérite nécrotique (figure 15).

Un seul vaccin inactivé administrable aux reproducteurs et procurant une protection des poussins durant la phase de démarrage est actuellement produit. Son utilisation a débuté fin 2006 aux Etats-Unis et au Canada avec des retours du terrain très positifs. La mortalité hebdomadaire totale diminue de 32% dans les lots issus de parents vaccinés par rapport aux lots témoins, et la mortalité, entre 22 et 28 jours, est réduite de 47% (Schering Plough Animal Health).

*Les anticoccidiens
ionophores*

I. Généralités

Commercialisés depuis une trentaine d'années, les anticoccidiens ionophores sont des composés d'origine naturelle, issus de la fermentation de quelques espèces de microorganismes présents dans le sol et appartenant soit au genre *Streptomyces*, soit au genre *Actinomadura* (Mc DOUGLALD, 1991). Ces composés (de 200 à 2000 Da) forment des complexes liposolubles avec les cations polaires, parmi lesquels certains (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) jouent un rôle biologique déterminant. Les ionophores constituent un ensemble de substances antibiotiques, douées d'activités antibactérienne et anticoccidienne.

II. Propriétés physicochimiques

Les ionophores se présentent sous forme de solides peu solubles dans l'eau et plus solubles dans les solvants organiques. Leur fonction acide carboxylique et leurs groupements oxygénés environnants permettent de former avec les cations alcalins et alcalino-terreux des complexes stables, neutres et lipophiles (Mc DOUGLALD, 1991).

III. Types des ionophores

Selon leur mode de transport, les ionophores sont répartis en trois catégories (PAINTER et GRPRESSMAN, 1982) :

- Les « quasi-ionophores » sont des molécules polypeptidiques capables de former des pores conducteurs d'ions. Ils sont en cela différents des deux catégories suivantes d'ionophores.
- Les ionophores neutres se trouvent initialement à l'intérieur de la membrane puis diffusent à sa surface (figure 16). C'est alors qu'ils se combinent aux cations en formant des complexes hydrophiles. L'eau de solvation de l'ion est expulsée et remplacée par les oxygènes réactifs de l'ionophore contribuant à rendre le complexe lipophile. Cet ensemble apolaire peut alors migrer à l'intérieur de la bicouche phospholipidique. Arrivé à la surface de la membrane opposée, le complexe se dissocie et l'ionophore libre retourne à l'intérieur de la membrane. Le résultat net consiste en un passage du cation au travers de la membrane biologique. Les ionophores neutres, dont la valinomycine est un exemple, ne présentent pas une forte activité antimicrobienne.

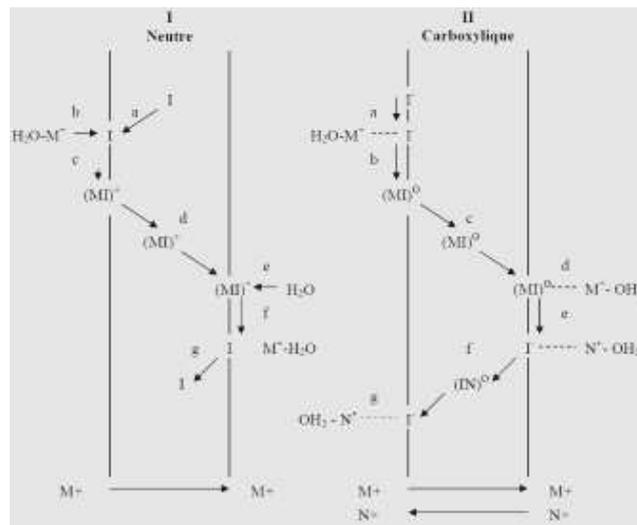


Figure 16 : les modes de transport catalysés par les ionophores neutres (I) et carboxyliques (II) dans les membranes biologiques (**PRESSMAN, 1976**)

- **Les ionophores carboxyliques** sont des molécules à chaîne ouverte. Les complexes formés avec les cations sont électriquement neutres et migrent indépendamment du potentiel de membrane, par un phénomène de diffusion passive.

Dans le présent chapitre, nous nous intéresserons plus particulièrement aux ionophores carboxyliques car ce sont les seuls qui sont utilisés chez la volaille, avec des indications anticoccidiennes.

Les anticoccidiens ionophores carboxyliques peuvent être classés en trois catégories selon leur structure chimique et leur mode d'action :

- **les ionophores monovalents** (salinomycine, monensin, narasin) sont les composés les plus largement utilisés. Ils réagissent avec les cations monovalents comme le sodium (Na^+) et le potassium (K^+).
- **les ionophores glycosides monovalents** (maduramicine et semduramicine) réagissent avec les cations monovalents comme le sodium (Na^+), le potassium (K^+) et avec l'ATP des cellules, notamment le sporozoïte.
- **les ionophores divalents** (lasalocid) interagissent préférentiellement avec les cations divalents comme le calcium (Ca^{2+}) et le magnésium (Mg^{2+}).

Les anticoccidiens ionophores

Les molécules utilisées varient d'un pays à l'autre. Les molécules autorisées en France sont représentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : les anticoccidiens autorisés en France

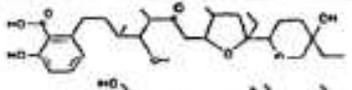
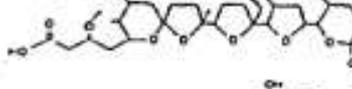
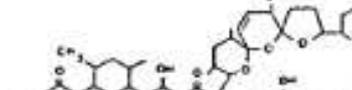
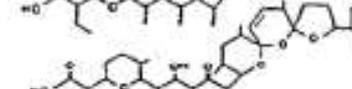
	N° UE	Principe actif	Marque	Espèces	Posologie (ppm)	Délai d'attente
S	E 756	décoquinatate	DECCOX	poulets	20-40	3 jours
I	E 757	monensin	ELANCOBAN	poulets	100-125	1 jour
			ELANCOBAN	poulettes ponte	100-120	16 semaines
			ELANCOBAN	dindons	60-100	1 jour / 16 semaines
S	E 758	robénidine	ROBENZ	poulets	30-36	5 jours
			ROBENZ	dindons	30-36	5 jours
I	E 763	lasalocid sodium	AVATEC	poulets	75-125	5 jours
			AVATEC	poulettes ponte	75-125	16 semaines
			AVATEC	dindons	90-125	12 semaines
S	E 764	(halofuginone)	STENOROL	poulets	2-3	5 jours
			STENOROL	poulettes ponte	2-3	16 semaines
			STENOROL	dindons	2-3	5 jours / 12 semaines
I	E 765	narasin	MONTEBAN	poulets	60-70	0 jour
I	E 766	salinomycine sodium	SACOX	poulets	50-70	5 jours
			SACOX	poulettes ponte	30-50	12 semaines
I	E 770	maduramicine ammonium	CYGRO	poulets	5-5	5 jours
			CYGRO	dindons	5-5	5 jours / 16 semaines
S	E 771	diclazuril	CLINACOX	poulets	1-1	0 jour
			CLINACOX	poulettes ponte	1-1	16 semaines
			CLINACOX	dindons	1-1	12 semaines
	5 1 771		CLINACOX	pintades	1-1	0 jour
I	E 772	narasin et nicarbazine	MAXIBAN	poulets	80-100	0 jour
S	N° 29	semduramicine sodium	AVIAX	poulets	20-25	5 jours
I	5 1 701	Monensin sodium	COXIDIN	poulets	100-125	1 jour
			COXIDIN	dindons	60-100	1 jour / 16 semaines
I	E 766	Salinomycine	KOKCISAN	poulets	60-70	3 jours
I	E 766	Salinomycine	SALINOMAX	poulets	50-70	5 jours
S	5 1 774	Nicarbazine	NICARBAZINE	poulets	125-125	1 jour

S : synthétique I : ionophore

IV. Structure et mode d'action des ionophores carboxyliques

Leur structure se présente sous forme de longues chaînes linéaires de polyéthers, avec à leur extrémité une fonction acide carboxylique (tableau 4) qui leur confère un caractère nettement acide. Cette propriété leur permet de former des complexes chimiques avec certains ions importants au plan physiologique, tels que le sodium et le potassium (Mc DOUGALD, 1991). Le mode d'action des anticoccidiens ionophores est basé sur leur structure chimique originale.

Tableau 4: structure et posologie de quelques anticoccidiens ionophores utilisés en aviculture (PRESSMAN, 1976)

Chemical name	Structure
Lasalocid TD = 75-125 µg/kg* Tox = 125-150 µg/kg†	
Monensin TD = 100-125 µg/kg Tox = 121-150 µg/kg	
Narasin TD = 60-80 µg/kg Tox = 100 µg/kg	
Salinomycin TD = 60-75 µg/kg Tox = 100 µg/kg	

*TD = therapeutic dose for chickens.
†Tox = lowest levels for first signs of toxicity in chickens.

Les polyéthers ionophores sont à la fois bactéricides et coccidiocides. Ils agissent sur la membrane plasmique des microorganismes sensibles et des cellules des vertébrés en augmentant sa perméabilité à un cation précis. Les cations dont la perte est la plus lourde de conséquences pour les microorganismes, sont le sodium et le potassium. L'augmentation du flux de ces ions modifie l'équilibre osmotique à l'intérieur de la cellule du vertébré, de la bactérie ou de la coccidie et entraîne l'altération de la fonction mitochondriale. Les ionophores ont la capacité de s'insérer dans les membranes des pathogènes et permettre le transport des ions sodium et potassium au travers de ces membranes, ce qui a justifié leur appellation d'ionophore (transporteur d'ions) (CHARTIER *et al.*, 2000).

V. Actions prophylactiques

V.1. Actions anticoccidiennes

Les ionophores sont autorisés comme des additifs de l'alimentation animale destinés au contrôle de la coccidiose. Ils présentent l'avantage de maintenir la pression d'infection coccidienne à un niveau assez bas qui tolère le développement d'une immunité naturelle lors du contact avec des coccidies.

L'action coccidiocide des polyéthers ionophores s'exerce essentiellement sur les stades évolutifs extracellulaires (sporozoïtes et mérozoïtes) qui subissent des modifications morphologiques à tel point que ces parasites deviennent incapables de pénétrer dans de nouvelles cellules épithéliales intestinales (**EUZEBY, 1987**).

Dans la lumière intestinale, les sporozoïtes exposés aux ionophores présentent un gonflement considérable, de larges vacuoles ainsi que des trous à la surface. Il a été montré que les ionophores ont un effet sur la seconde génération des mérozoïtes mais pas sur le développement des gamètes (**CHAPMAN, 1997**).

V.2. Action antibactérienne

Un premier mécanisme proposé (**BERGEN et BATES, 1984**) repose sur la facilitation du transfert membranaire du sodium.

- En présence du microorganisme, l'ionophore très liposoluble se loge dans la membrane, dans la partie apolaire de la bicouche lipidique.
- L'organisme unicellulaire produit en permanence un gradient de protons.
- L'ionophore fixerait le proton et le libérerait dans le milieu extérieur.
- Il fixerait ensuite un ion sodique dont l'intégration dans l'organisme intéressé serait accrue.
- Ce processus perturbateur du fonctionnement conduirait à la mort de l'organisme.

Ce mécanisme a cependant été remis en cause (**CHAPMAN, 1997**) car non cohérent avec les mesures physico-chimiques sur des bactéries traitées. Il est aussi apparu que le transport du sodium est largement influencé par les conditions de pH et de concentrations respectives des milieux extra et intracellulaires. Ce mécanisme a été expliqué comme suit :

- Lorsque les deux côtés de la membrane sont au même pH, le transfert du sodium se fait dans le sens du gradient de concentration de cet ion.
- Lorsque la concentration de l'ion est la même des deux côtés de la membrane, le transfert a lieu en sens inverse du gradient de pH.

L'effet létal serait donc une résultante d'une modification de pH ou d'osmolarité. Des études (**RUSSELL, 1987**) sur les modifications induites par le monensin sur une bactérie cible du rumen, *Streptococcus bovis*, montrent que les modifications intracellulaires sont en réalité plus complexes. Une baisse du pH est constatée, ainsi qu'une baisse du potassium et une élévation du sodium. Si l'élévation du taux de sodium est cohérente avec une stimulation du

transfert membranaire de cet ion, c'est en fait une élévation du pH qui devrait être observée car les mouvements de sortie des protons devraient être augmentés. L'interprétation la plus cohérente est que cette molécule affecte en réalité deux systèmes membranaires de transport :

- l'un facilitant l'entrée de sodium et la sortie de protons,
- l'autre facilitant la sortie du potassium et l'entrée des protons.

Ainsi, bien que l'affinité la plus marquée du monensin sur les ions soit pour le sodium, la modification cellulaire définitive dominante résulte d'un effet sur les transports de potassium, sans doute inhérent au gradient initial beaucoup plus élevé de cet ion entre les milieux extra et intracellulaires. Les modifications intracellulaires sont apparues cependant trop faibles pour entraîner la mort de la bactérie, en particulier la baisse du pH à 6,2 est modérée pour une bactérie acidophile capable de se multiplier à pH 5,4. Pour cette raison, la cause de l'effet bactéricide résulterait indirectement de ces modifications de répartition ionique : la production d'énergie disponible pour le microorganisme dépend de transferts d'électrons qui sont assurés chez les bactéries par des systèmes équivalents aux cytochromes des eucaryotes.

L'accumulation des protons entraînerait un accroissement et un épuisement de l'ATP utilisé pour les rejeter activement.

Sur un autre modèle bactérien (*Bacteroides succinogenes*), ces deux modifications intracellulaires, baisse du pH et baisse de la concentration d'ATP, ont été retrouvées, ce qui confirme l'idée d'une accumulation de protons, vis-à-vis de laquelle la bactérie réagit par un accroissement du rejet actif et épuise son ATP. La membrane externe des bactéries Gram négatives ne permet pas la pénétration de molécules hydrophobes de poids moléculaire supérieur à 600 Da et ne sont par conséquent pas sensibles à l'action des ionophores (WESTLEY, 1983).

Les ionophores présentent une activité antibiotique vis-à-vis des germes Gram positif mais leur toxicité et l'étroitesse de leur marge de sécurité empêche leur large utilisation en tant qu'antibiotiques (RUFF, 1982). Cette constatation ne s'applique pas à toutes les bactéries Gram positif. MARTEL *et al.* (2004) ont montré que les ionophores même à faible dose avaient un effet inhibiteur sur le développement de *Clostridium perfringens* (tableau 5). Toutefois, ces études *in vitro* ne permettent souvent pas de tirer des conclusions quant à l'efficacité sur le terrain.

Tableau 5 : distribution de la fréquence des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de cinq ionophores sur 44 souches de *Clostridium perfringens* (MARTEL *et al.*, 2004)

CMI Molécule	0,03 µg/ml	0,06 µg/ml	0,12 µg/ml	0,25µg/ ml	0,5µg/ ml	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	32 µg/ml	64 µg/ml
narasin	1	41	2	-	-	-	-	-	-	-	-
maduramycin	-	-	-	2	4	13	25	-	-	-	-
salinomycin	5	8	29	2	-	-	-	-	-	-	-
lasalocid	3	28	13	-	-	-	-	-	-	-	-
monensin	-	-	2	42	-	-	-	-	-	-	-

VI. Effet zootechniques des ionophores

Outre des effets bactéricide et coccidiocide directs, certains auteurs (**BORIES et LOUISOT, 1998**) considèrent que les anticoccidiens ionophores ont une action bénéfique sur la croissance chez les animaux d'élevage (volaille, porcs et ruminants). En effet, ils agissent chez la volaille et le porc sur la flore intestinale dont ils modulent les relations symbiotiques avec l'hôte. La réduction des prélèvements des micro-organismes (bactéries) sur les nutriments destinés à l'hôte, la moindre production concomitante de substances toxiques (amines) et la meilleure absorption intestinale liée à la diminution de l'épaisseur de la paroi des villosités intestinales, sont à l'origine de l'amélioration de l'indice de consommation et de la vitesse de croissance. Cette action des polyéthers sur les performances de croissance est donc indirecte. L'action des ionophores sur les microorganismes de la flore digestive peut entraîner des perturbations (ou des améliorations) de l'utilisation des nutriments (**TODD et al., 1984**).

Cependant, certains auteurs ont noté un effet négatif des ionophores sur le gain de poids et la consommation alimentaire, à des doses différentes de celles recommandées par les fabricants. C'est le cas de **HARMS et al. (1989)** qui ont testé la salinomycine et le monensin aux taux respectivement croissants de 44 à 88 ppm et de 81 à 161 ppm. Ils considèrent la baisse d'appétit comme étant le facteur essentiel de cette diminution de poids vif. **KERSHAVARZ et al. (1982)** ont obtenu des baisses dans le gain de poids chez le poulet même avec des doses préconisées par les fabricants de monensin.

Selon **EBRAHIMNEZHAD et POURREZA (2005)**, des taux élevés d'anticoccidiens dans la ration alimentaire réduisent significativement ($p > 0,05$) le gain de poids et l'efficacité

alimentaire. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par **WHEELHOUSE *et al.* (1985)** chez le poulet de chair, avec le lasalocid (125 ppm), la salinomycine (60 ppm) et le monensin (100 ppm). En effet, ils ont noté que l'incorporation de ces anticoccidiens dans la ration n'a pas significativement influencé la consommation alimentaire. Par ailleurs, les anticoccidiens sont responsables, dans une ration déficitaire en protéines, d'une baisse de la croissance.

PARSONS *et al.* (1983) en faisant varier le taux de protéines de 24 % à 16,5 % dans deux rations supplémentées en monensin (à 121 mg/Kg et à 160 mg/Kg), ont observé une baisse de la croissance lorsque le taux de protéines diminuait.

VI. Problèmes de toxicité

La sensibilité à l'intoxication par les ionophores est très variable et il semble que parmi les différentes espèces, les volailles soient parmi les moins sensibles (tableau 6) mais les bénéfices attribuables aux ionophores chez la volaille ne sont pas dénués de risque.

Tableau 6 : toxicité par voie orale des ionophores carboxyliques (DL₅₀ en mg/Kg de poids vif) pour différentes espèces (**DECARPENTRIE, 1997**)

Espèces	monensin	narasin	maduramicine	salinomycine	lasalocide
Cobaye	160				
Souris	70-125	13-19	31-40		146
Rat	40	16-24	24-36	45-145	422
Lapin	42	>11			40
Chien	4-10	>10		10-125	
Poulet	200	24-78		45	71
Dindon				4-10	
Canard					
Veau	22-45				
Mouton	12				
Chèvre	26				
Porc	16-50			>18	
Cheval	2-3	1		1-2	21

DECARPENTRIE (1997) a suggéré trois mécanismes possibles d'intoxication par les ionophores carboxyliques :

- **Création d'un déséquilibre ionique au niveau cellulaire**

Lorsque les ionophores forment des complexes lipophiles avec des cations mono ou divalents, ils transportent des cations métalliques spécifiques à travers les membranes et perturbent le gradient ionique cellulaire dans certains tissus de l'animal traité. En se fixant au niveau des membranes de certains organites, ils sont susceptibles d'entraîner des perturbations dans le fonctionnement de ces derniers (**LONGSTOM, 1985**).

Plusieurs études rapportent les effets de certains ionophores au niveau des mitochondries, des liposomes ainsi qu'une action sur le processus d'exocytose pour un certain nombre de cellules (**PRESSMAN, 1976**).

La toxicité du monensin a été plus largement signalée, car il est le plus ancien et le plus utilisé chez la volaille.

Le monensin transporte préférentiellement l'ion sodium. De ce fait, il véhicule cet ion vers l'intérieur des cellules en échange d'un proton. Cet échange ionique conduit à une alcalose et à une perte de potassium intracellulaire. Par la suite, les concentrations accrues en sodium intracellulaire conduisent indirectement à une augmentation de la concentration intracellulaire en ion calcium. Ce phénomène est dû à un accroissement de l'influx calcique, à une libération du calcium à partir du réticulum endoplasmique et des mitochondries ainsi qu'à la diminution de l'efflux calcique. Certains considèrent que l'augmentation intracellulaire de calcium est le fait le plus important de la pathogenèse biochimique de la mycotoxicose induite par le monensin (**WROGEMANN et PENA, 1976 ; TRUMP *et al.*, 1980**).

- **Action sur le métabolisme des catécholamines**

Certaines altérations cardiovasculaires induites par des ionophores peuvent être associées à la libération de catécholamines. Le monensin induit une sécrétion accrue de catécholamines par les cellules chromaffines de la médullo-surrénale (**YATES *et al.*, 1981**). La salinomycine, quant à elle, augmente le taux de catécholamines plasmatiques. Celles-ci pourraient promouvoir postérieurement l'afflux de Ca^{2+} dans les myocytes et créer un phénomène peroxydatif.

- Altération péroxydative

Certaines études signalent que les lésions musculaires induites par le monensin peuvent avoir lieu par l'intermédiaire de lésions induites par les radicaux libres (ANADON *et al.*, 1991). Les radicaux libres peuvent altérer le tissu par voie de peroxydation des lipides et par voie d'oxydation des groupes sulfhydriles protéiques, entraînant des perturbations de la perméabilité transmembranaire ainsi que du fonctionnement de certaines enzymes.

Il est évident que la première action des ionophores carboxyliques est de faciliter le transport d'ions à travers les membranes biologiques, ce qui implique en même temps de multiples effets, non seulement au niveau cellulaire (NOVILLA *et al.*, 1992), mais aussi au niveau des organites intracellulaires possédant une membrane sensible à leur action.

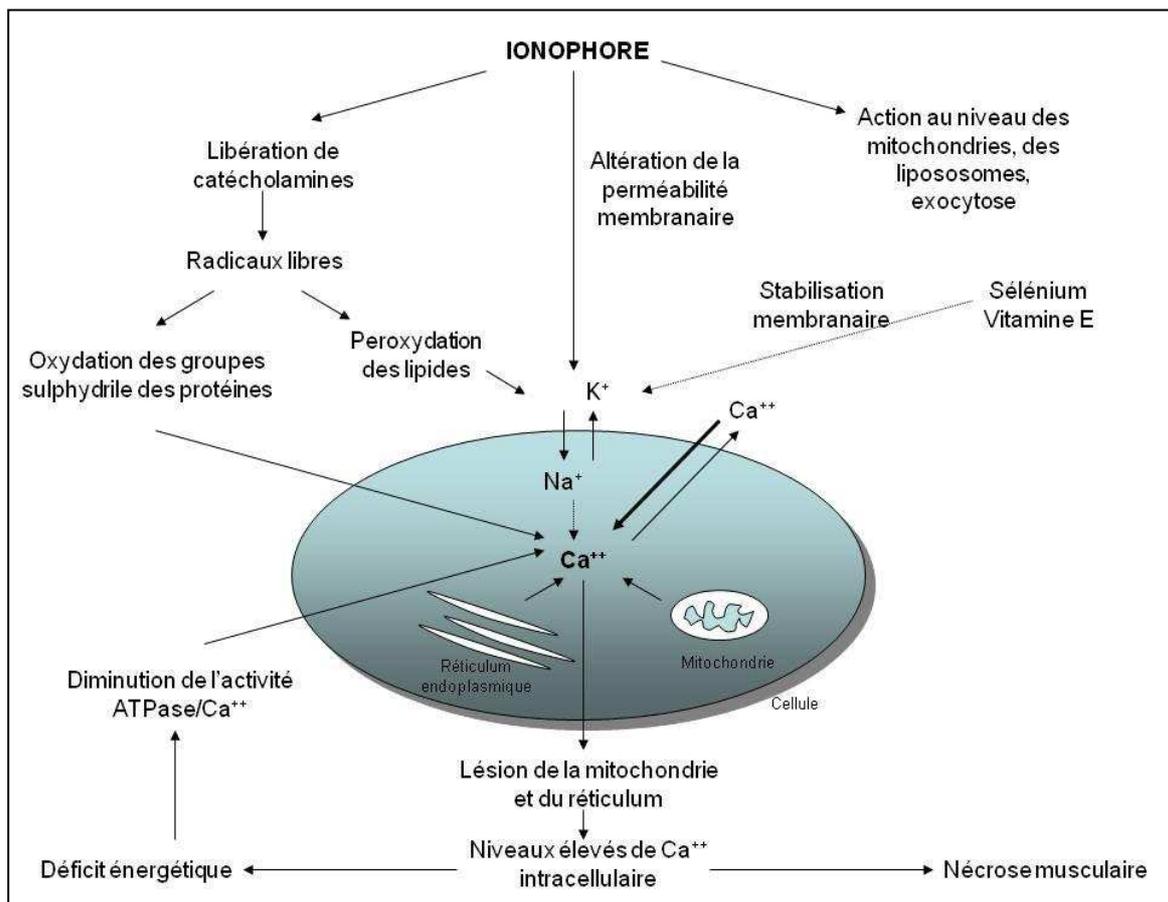


Figure 17 : les mécanismes théoriques de la toxicité des ionophores carboxyliques. Exemple du monensin (DECARPENTRIE, 1997)

*Les modèles
expérimentaux
d'entérite nécrotique*

Les modèles expérimentaux de l'entérite nécrotique

Plusieurs modèles de reproduction expérimentale de l'entérite nécrotique ont été décrits dans la bibliographie (WILLIAMS *et al.*, 2003 ; REYNOLDS *et al.*, 2004). En raison de lacunes dans les connaissances concernant les facteurs prédisposant et la pathogénie exacte de l'entérite nécrotique, aucun modèle actuel n'arrive à refléter la déclaration et le développement de la maladie sur le terrain.

La plupart des études ont soit porté sur une co-infection avec les coccidies, soit utilisé un régime riche en blé et en farine de poisson.

LONG et TRUSCOTT (1976) ont établi le premier modèle expérimental de reproduction de l'entérite nécrotique en distribuant à des lots de poulets un aliment contaminé avec une concentration de 10^7 UFC/g de *Clostridium perfringens*. La mortalité variait entre 11 et 26%.

Ce modèle a ensuite été modifié en incluant des concentrations élevées de farines de poisson dans l'alimentation avant l'inoculation par voie orale de *C. perfringens* (AL SHEIKHLY et TRUSCOTT, 1977a).

AL-SHEIKHLY et AL-SAIEG (1980) ont amélioré le modèle en induisant une coccidiose clinique qui provoque des lésions d'entérite nécrotique et ont obtenu un taux de mortalité variant entre 28 et 53%.

Ces modèles expérimentaux permettent le développement de l'entérite nécrotique mais ne constituent pas une explication des causes d'apparition sur le terrain, puisque des cas d'entérite nécrotique peuvent apparaître en l'absence de tout déséquilibre alimentaire et pas forcément après un épisode de coccidiose clinique.

I. Utilisation des souches de *Clostridium perfringens*

En général, les souches *C. perfringens* utilisées pour la reproduction de l'entérite nécrotique sont sélectionnées sur la base des études *in vivo*. Dans la plupart des modèles, ces souches ont été isolées lors de cas d'entérite nécrotique clinique. Cependant, certains des isolats de *C. perfringens* obtenus des cas d'entérite nécrotique ne sont pas capables d'induire la maladie expérimentalement (KHALDHUSDAL *et al.*, 1999 ; BARBARA *et al.*, 2008 ; COOPER et SONGER, 2009).

CHALMERS *et al.* (2007) ont comparé cinq souches de *C. perfringens* isolées de cas d'entérite nécrotique terrain (SNECP43, SNECP44, SNECP47, SNECP49 et SNECP50). Ils ont constaté que les poulets inoculés avec la souche SNECP50 ont accusé une baisse du gain

Les modèles expérimentaux de l'entérite nécrotique

de poids, des scores lésionnels spécifiques et des taux de mortalité très élevés par rapport aux oiseaux inoculés avec les autres souches.

La reproduction expérimentale de l'entérite nécrotique s'est faite soit avec une seule souche de *C. perfringens* (généralement la souche type A) (THOMPSON *et al.*, 2006 ; GHOLAMIANDEHKORDI *et al.*, 2007) ou bien avec une association de deux souches (souche type A + souche type B) de *C. perfringens* (McREYNOLDS *et al.*, 2007 ; PARK *et al.*, 2008 ; STRINGFELLOW *et al.*, 2009)

Certains auteurs ont attribué la difficulté de reproduire la maladie à l'origine plasmidique des loci responsables de la pathogénicité du *C. perfringens* (LEPP *et al.*, 2010).

L'infection peut se faire par inoculation orale, par contamination de l'aliment ou de la litière avec des spores de *C. perfringens* (HAMDY *et al.*, 1983 ; KEYBURN *et al.*, 2006 ; CHALMERS *et al.*, 2007 ; SI *et al.*, 2007 ; BARBARA *et al.*, 2008 ; PEDERSEN *et al.*, 2008).

La concentration et la durée d'exposition à *C. perfringens* sont différentes selon le modèle utilisé. PARK *et al.* (2008) ont inoculé une seule dose (10^9 CFU/oiseau) à 26 jours d'âge, d'autres équipes ont utilisé plusieurs doses de 10^6 à 10^9 UFC/oiseau, la durée d'inoculation pouvant aller jusqu'à 8 jours (DAHIYA *et al.*, 2005 ; OLKOWSKI *et al.*, 2006 ; BARBARA *et al.*, 2008 ; COLLIER *et al.*, 2008 ; MIKKELSEN *et al.*, 2009 ; TIMBERMONT *et al.*, 2009). L'infection à *C. perfringens* peut être réalisée entre l'âge de 1 à 26 jours, le plus souvent entre 17 et 19 jours d'âge avec des administrations des bactéries pendant 3 à 4 jours (LEE *et al.*, 2010).

II. Co-infection avec des coccidies

L'espèce coccidienne la plus utilisée pour induire l'entérite nécrotique expérimentalement est *Eimeria maxima* (WILLIAMS *et al.*, 2003 ; PARK *et al.*, 2008 ; MILLER *et al.*, 2010).

D'autres espèces coccidiennes telles qu'*Eimeria acervulina*, *Eimeria tenella* et *Eimeria mitis* ont également permis d'induire une entérite nécrotique expérimentalement (TIMBERMONT *et al.*, 2009). Par ailleurs, certains chercheurs ont administré à des poulets des vaccins anticoccidiens avec des doses 10 à 24 fois plus élevées que les doses recommandées par les fabricants trois jours avant l'inoculation de *C. perfringens* ou un jour après l'inoculation des clostridies, afin d'induire des lésions d'entérite nécrotique (McREYNOLDS *et al.*, 2004 ; PEDERSEN *et al.*, 2008 ; TIMBERMONT *et al.*, 2009).

Les modèles expérimentaux de l'entérite nécrotique

Les coccidies seules dans les conditions d'un modèle expérimental ne sont pas capables d'induire des lésions spécifiques d'entérite nécrotique, mais en utilisant l'association coccidies-*C. perfringens*, il y a induction des lésions d'entérite nécrotique (COLLIER *et al.*, 2008 ; PARK *et al.*, 2008).

III. Effet favorable de l'immunodépression

Certains auteurs ont suggéré que le développement de l'entérite nécrotique sur le terrain est dû à la co-infection avec *C. perfringens* et des virus immunodépresseurs tel que le virus de la bursite infectieuse (IBDV), le virus de l'anémie infectieuse aviaire et le virus de la maladie de Marek. La reproduction expérimentale de l'entérite nécrotique a été établie en utilisant la co-infection *C. perfringens* et le virus de la bursite infectieuse (WILLIAMS *et al.*, 2003 ; GHOLAMIANDEHKORDI *et al.*, 2007 ; McREYNOLDS *et al.*, 2007 ; STRINGFELLOW *et al.*, 2009 ; TIMBERMONT *et al.*, 2009).

McREYNOLDS *et al.* (2004) ont utilisé une co-infection de *C. perfringens* avec des vaccins contre la bursite infectieuse à des doses dix fois plus élevées que les doses recommandées par les fabricants. Ils ont démontré que ces vaccins avaient augmenté la gravité des lésions spécifiques d'entérite nécrotique par rapport aux lots recevant les vaccins seuls ou uniquement l'inoculation de *C. perfringens*.

Le stress thermique est connu pour son exacerbation des différentes maladies chez les volailles, notamment l'entérite nécrotique. TSIOURIS *et al.* (2009a, b) ont mené une série d'expériences en utilisant différentes températures afin d'évaluer l'effet de la chaleur ou du froid sur le développement expérimental de l'entérite nécrotique. Ces chercheurs ont utilisé un modèle d'entérite nécrotique avec une vaccination coccidienne et un régime alimentaire riche en protéines. Ils ont observé que le stress thermique produit avec une température élevée (35°C – 12 heures/ jour) pendant cinq jours a augmenté la gravité de la maladie. De plus, ils ont observé que le froid est susceptible d'induire des lésions d'entérite nécrotique.

IV. Utilisation d'aliments riches en protéines

Afin d'induire expérimentalement des lésions d'entérite nécrotique, certains chercheurs ont utilisé des régimes alimentaires riches en céréales (blé, seigle, orge, avoine) ou un changement brutal de la composition alimentaire (passage d'un aliment pauvre en protéines à un aliment riche en protéines) (WILLIAMS *et al.*, 2005 ; DAHIYA *et al.*, 2006 ; MCDEVITT *et al.*, 2006 ; COOPER et SONGER, 2009).

Les modèles expérimentaux de l'entérite nécrotique

Une teneur comprise entre 24 et 38% de protéines dans l'aliment augmente le risque de développement de l'entérite nécrotique (PARK *et al.*, 2008 ; MIKKELSEN *et al.*, 2009). PALLIYEGURU *et al.* (2010) ont comparé l'effet de différentes rations (pomme de terre, farine de poisson et tourteau de soja) sur l'entérite nécrotique. Bien que les différentes rations aient la même teneur en protéines et la même composition en acides aminés, les lots de poulets nourris avec de la pomme de terre ont présenté des lésions plus sévères d'entérite nécrotique. Ces auteurs ont attribué cet effet à la présence d'un facteur antinutritionnel (forte activité inhibitrice de la trypsine) et à la faible teneur en lipides dans la pomme de terre.

V. Modèle expérimental de l'entérite nécrotique établi par l'équipe de l'anses

Ce modèle utilise une co-infection coccidies-*C. perfringens* sans engendrer un déséquilibre alimentaire. L'équipe a constaté qu'une co-infection *Eimeria acervulina* – *C. perfringens* favorisait l'apparition de lésions en foyers de nécrose, alors qu'une co-infection *E. maxima* – *C. perfringens* favorisait le développement de lésions diffuses typiques des cas de terrain (figure 18).



Figure 18 : lésions d'entérite nécrotique. A : foyers de nécrose. B : nécrose diffuse (photos prises à l'anses durant l'étude en février 2012)

Ils ont observé aussi une induction des lésions de nécrose plus marquée lorsque l'inoculation était réalisée par un mélange de deux souches de *C. perfringens*, notées A et B (10^8 UFC/ml souche A+ souche B, volume par volume), isolées de cas d'entérite nécrotique du terrain.

Les modèles expérimentaux de l'entérite nécrotique

L'équipe a démontré que le lien entre coccidiose et entérite nécrotique n'était pas absolu. En effet, l'induction de lésions typiques d'entérite nécrotique se produit avec des faibles quantités de coccidies (2000 oocystes/poulet d'*Eimeria maxima* et 4000 oocystes/poulet d'*Eimeria acervulina*), incapables d'engendrer une coccidiose clinique à elles seules. Lorsque les doses infectieuses de coccidies sont augmentées, les lésions d'entérite nécrotique n'apparaissent pas. Dans ce modèle, ce n'est donc pas la coccidiose mais la présence de coccidies, se développant de façon non clinique, qui permet l'apparition des lésions d'entérite nécrotique après administration des clostridies.

*La Partie
expérimentale*

*Objectif de
l'étude*

Notre étude a pour objectif de tester l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique dans les conditions du modèle expérimental déjà établi par l'équipe de l'unité Virologie Immunologie Parasitologie Aviaires et Cunicoles et l'unité Alimentation Animale du laboratoire anses de Ploufragan-Plouzané.

L'expérimentation a englobé cinq essais :

1. Premier essai : Etude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique dans les conditions du modèle expérimental établi par l'équipe de l'anses en 2009.

Le but de cet essai est de tester l'effet des anticoccidiens ionophores sur le développement de l'entérite nécrotique avec les coccidies du laboratoire de parasitologie susceptibles d'être sensibles aux ionophores. Les ionophores autorisent un développement complet et une faible excrétion des coccidies, même sensibles. Le but est de voir si ce développement est suffisant pour permettre l'installation de *Clostridium* et l'induction de lésions d'entérite nécrotique. Dans le cas de présence de lésions de nécrose chez des oiseaux recevant les anticoccidiens, on pourra supposer que ces derniers ne sont pas efficaces pour contrôler le développement de *Clostridium*. Dans le cas contraire, il ne sera pas possible de conclure sur un effet direct des ionophores sur la bactérie, les produits pouvant avoir agi suffisamment sur les coccidies pour empêcher l'implantation des clostridies. Il faudra alors utiliser des coccidies résistantes aux ionophores pour tenter de mesurer cet effet direct sur les clostridies.

2. Deuxième essai : sélection d'un isolat de coccidies en provenance du terrain résistant aux anticoccidiens ionophores (narasin et monensin)

Le but par cette étape est de collecter des isolats de coccidies susceptibles d'être résistants aux ionophores ciblés et d'évaluer leur niveau de sensibilité afin de conserver les populations les plus résistantes.

3. Troisième essai : confirmation de la résistance aux ionophores (narasin et monensin) de l'isolat sélectionné

Le but est de confirmer la résistance aux anticoccidiens ionophores (monensin et narasin) de l'isolat sélectionné comme étant le plus résistant, pour ensuite l'utiliser à la place des coccidies du modèle original.

4. Quatrième essai : validation du modèle de reproduction expérimentale d'entérite nécrotique avec l'isolat de coccidies sélectionné

Cette étape a consisté à tester différentes doses infectieuses de coccidies de l'isolat sélectionné afin d'optimiser la dose nécessaire pour obtenir des lésions typiques d'entérite nécrotique.

5. Cinquième essai : étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique

L'objectif de cette dernière étape est d'évaluer l'effet direct des anticoccidiens ionophores sur l'entérite nécrotique, dans le modèle optimisé et validé avec les coccidies résistantes.

*Matériels
et
méthodes*

I. Période d'étude

L'étude s'étend sur une période de six mois, du 1^{er} octobre 2011 au 31 mars 2012.

II. Lieu de l'étude

L'étude est menée dans le laboratoire de parasitologie de l'unité Virologie Immunologie Parasitologie Aviaires et Cunicoles (VIPAC) de l'anses de Ploufragan.

III. Premier essai: étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique (avec des souches de coccidies du laboratoire de parasitologie de l'anses)

III.1. Durée de l'essai

L'expérimentation se déroule sur une période de huit jours, du 4 octobre 2011 au 12 octobre 2011.

III.2. Animaux

Un effectif de 400 poussins conventionnels non vaccinés, mâles, âgés d'un jour, issus de la souche Ross jaune, sont reçus le 26 septembre 2011 au laboratoire de parasitologie, et livrés par le couvoir Perrot à Pommerit-Jaudy, situé dans le département des Côtes-d'Armor.

A leur arrivée, les poussins sont répartis dans deux batteries chaudes (cinq étages dans chaque batterie, 40 poussins par étage) dans l'animalerie de démarrage (figure 19).



Figure 19 : arrivée et mise en place des poussins dans la batterie du démarrage

A l'âge de 8 jours, les poussins sont pesés et identifiés par une bague alaire numérotée (figure 20).



Figure 20 : pesée et bagage des poussins à l'âge de 8 jours

Une sélection de 192 poussins est faite selon un poids le plus homogène possible après réalisation d'un histogramme de poids. Le poids des poussins sélectionnés varie entre 150 et 230 g. Par la suite (dans le même jour), les poussins sont transférés de l'animalerie de démarrage à l'animalerie où s'effectue l'essai.

III.3. Conditions d'élevage

III.3.1. Animalerie de démarrage

L'animalerie de démarrage a une surface de 12 m², incluant un sas douche. Elle possède deux batteries de cinq étages. La surface d'un étage est de 0,8 m² et permet d'accueillir 40 poussins.

En dessous de chaque étage, un papier cartonné est mis en place sur un plancher afin de récupérer les fientes. Des abreuvoirs automatiques sont installés latéralement à chaque étage, avec une mangeoire en façade, d'une longueur de 1 m.



Figure 21 : une batterie de démarrage

Dans les premiers jours, un abreuvoir siphoné est placé à chaque étage pour faciliter l'accès des poussins à l'eau de boisson (figure 21). L'eau des abreuvoirs siphonnés est changée quotidiennement.

Tous les poussins reçoivent le même aliment fabriqué à l'anses, aliment standard SPCD (spécial poulet de chair démarrage) sous forme de farine, sans supplémentation. La composition de l'aliment est décrite en annexe n° 10.

L'aliment et l'eau sont distribués sans restriction (*ad libitum*) pendant la phase de démarrage.

Les conditions d'ambiance sont contrôlées, l'air est filtré à l'entrée et à la sortie de l'animalerie par des filtres à 99,9% de rétention des poussières (figure 22).

La température ambiante est maintenue à 33°C à l'arrivée des poussins, puis réduite progressivement jusqu'à atteindre 27°C avant la mise en place dans l'animalerie de l'essai. Un nettoyage complet de l'animalerie est réalisé tous les jours avec un jet d'eau ; les fientes sont éliminées tous les deux jours puis incinérées sur site.



Figure 22 : système de filtration des animaleries (A : entrée d'air filtré. B : filtre de sortie d'air de l'animalerie)

III.3.2. Animalerie où s'effectue l'essai

L'animalerie possède une surface de 40 m², incluant le sas de douche. Elle recèle un support métallique pour cages. Chaque cage a une superficie de 0,1 m² et dispose d'un abreuvoir automatique sur une façade et d'une mangeoire de 30 cm de longueur sur l'autre façade (figure 23). Les conditions d'ambiance sont contrôlées. L'air est filtré à l'entrée et à la sortie de chaque animalerie sur des filtres à 99,9% de rétention des poussières (figure 22).



Figure 23 : mise en place des cages dans l'animalerie (A : la façade des abreuvoirs
B : la façade des mangeoires)

Dans le cadre d'un travail avec des agents pathogènes, les précautions d'usage sont respectées pour l'inoculation de *Clostridium perfringens*, chaque intervenant dans l'expérimentation doit avoir une cotte, des bottes, un masque et des gants qui resteront dans l'animalerie contaminée, avec douche obligatoire en sortie d'animalerie.

III.3.3. Préparation de la supplémentation alimentaire

L'aliment distribué est de type SPCD sous forme de farine. Il est supplémenté ou non en monensin ou narasin et réparti équitablement dans des seaux (20 kg d'aliment dans chaque seau), chacun correspondant à un lot (tableau 7). La formule de l'aliment est présentée dans l'annexe n° 10. La supplémentation alimentaire se fait dans la salle de préparation de l'aliment, au laboratoire de parasitologie. Un nettoyage du matériel est effectué avant et après chaque supplémentation avec un produit différent, afin d'éviter les risques de mélange des produits utilisés. L'aliment est pesé à J6, à J7 et à J13.



Figure 24 : préparation de la supplémentation alimentaire

L'incorporation des anticoccidiens ionophores utilisés est détaillée dans le tableau 7.

Tableau 7 : niveau d'incorporation des anticoccidiens ionophores (monensin et narasin)

Produit	N° de lot	Posologie	Date de fabrication/date de péremption
monensin 100 ppm	A768376	10,2 g/20 kg d'aliment	30-07-2010/30-06-2012
narasin 70 ppm	A773912	14,2 g/20 kg d'aliment	30-07-2010/30-06-2012

L'eau de boisson est distribuée à volonté avec un système d'abreuvement automatique. De ce fait, la consommation d'eau est un paramètre non exploitable pour cet essai.

III.3.4. Nettoyage et désinfection des animaleries

L'élimination des déchets, cadavres et aliments, est réalisée par incinération sur le site de l'anses.

A la fin de l'essai, le lavage et la désinfection de l'animalerie se font comme suit :

- lavage complet de l'animalerie avec un jet d'eau à haute pression,
- coupure de la ventilation et désinfection par pulvérisation de Delegol[®] (voir composition et spectre d'action en annexe n° 5) dans tout l'espace de la salle avec un appareil dédié. Le produit désinfectant est laissé pendant 24 heures pour une action optimale,
- remise en route de la ventilation,
- après 24 à 48 heures, démontage du matériel d'élevage et transport dans la salle de lavage,
- nettoyage et désinfection des murs, du sol et des supports des cages avec un appareil à vapeur (marque Kärcher) délivrant de la vapeur sous pression à plus de 100°C,
- nettoyage et stérilisation du matériel d'élevage dans la salle de lavage.

III.4. Protocole expérimental

Le protocole expérimental est détaillé dans la figure 25.

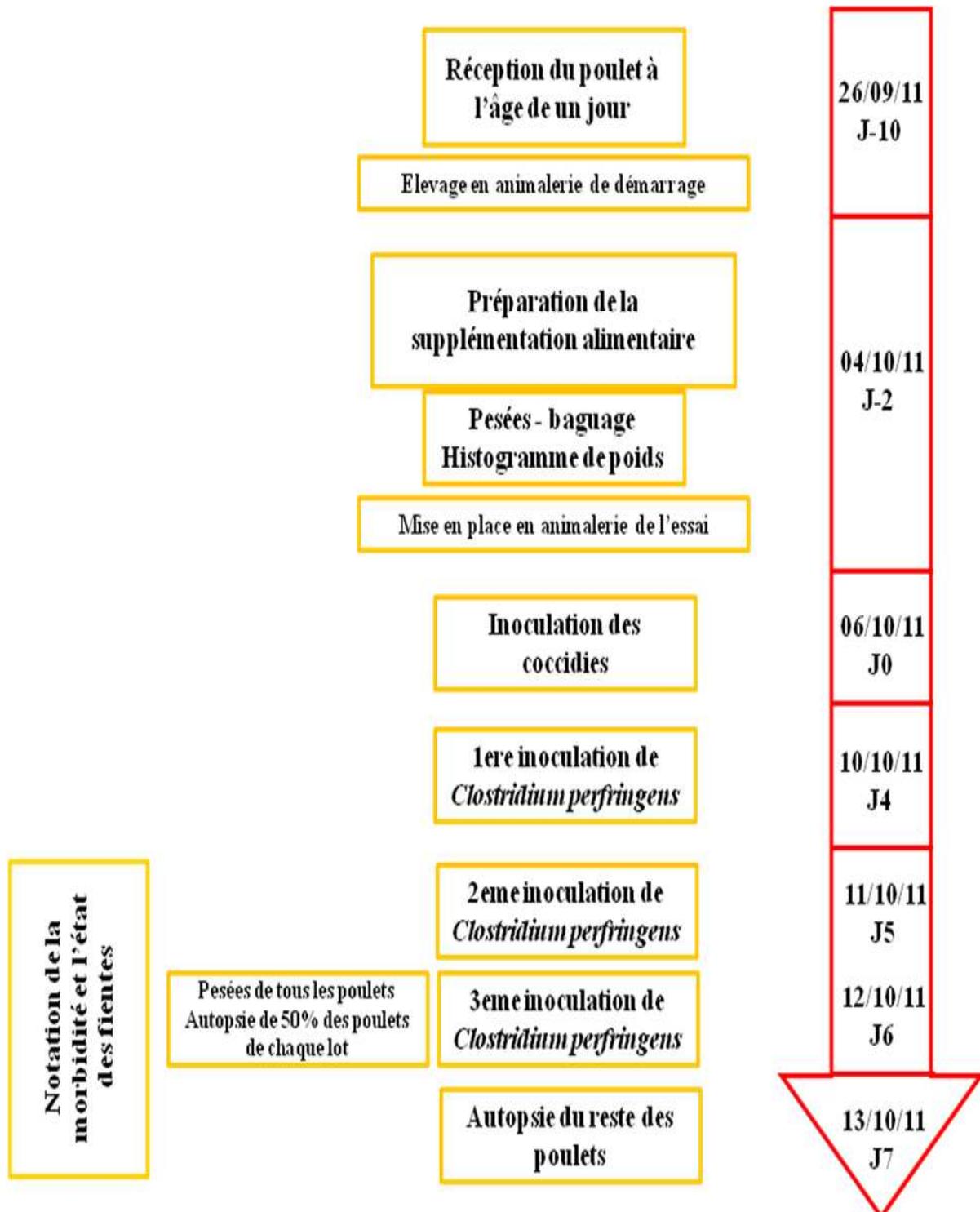


Figure 25 : protocole expérimental du premier essai

La distribution des lots pour cette expérimentation est présentée dans le tableau 8.

Tableau 8 : distribution des lots expérimentaux pour l'essai N°1

Intitulé	Description	Objectif
NI	Lot non infecté	Témoin négatif
I1	Lot infecté coccidies seules	Témoin pour notation des lésions coccidiennes
I2	Lot infecté coccidies seules supplémenté narasin	Effet du narasin sur les coccidies à la dose inoculée
I3	Lot infecté coccidies seules supplémenté monensin	Effet du monensin sur les coccidies à la dose inoculée
I4	Lot infecté coccidies et <i>C. perfringens</i>	Témoin entérite nécrotique
I5	Lot infecté coccidies et <i>C. perfringens</i> supplémenté narasin	Effet du narasin sur <i>C. perfringens</i> à la dose inoculée
I6	Lot infecté coccidies et <i>C. perfringens</i> supplémenté monensin	Effet du monensin sur <i>C. perfringens</i> à la dose inoculée
I7	Lot infecté <i>C. perfringens</i> seul	Evaluation de la capacité de <i>C. perfringens</i> à engendrer l'entérite nécrotique sans coccidies

III.4.1. Mise en place des animaux

Les poulets sont répartis en huit lots (tableau 8), à raison de 24 poussins par lot. Chaque lot occupe six cages : quatre poussins par cage jusqu'au 1^{er} abattage à 15 jours, puis deux poulets par cage jusqu'à 22 jours. Il y a donc au total 48 cages.

La répartition des poussins dans les cages se fait de sorte que le poids moyen soit identique dans chaque cage (vois annexe n° 6)

III.4.2. Préparation et inoculation des coccidies

Lors de la mise au point du modèle, il a été observé qu'une co-infection *Eimeria acervulina* + *Clostridium perfringens* favorise l'apparition de lésions de type foyers de nécrose, alors qu'une co-infection *Eimeria maxima* + *Clostridium perfringens* favorise le développement de lésions diffuses typiques des cas de terrain. L'inoculation du mélange des souches *E. maxima* et *E. acervulina* est

cependant réalisée afin de s'affranchir d'un effet du produit à tester sur le développement des coccidies, les lésions d'*E. acervulina* étant plus faciles à observer que celles d'*E. maxima*.

Les deux souches de coccidies, *E. acervulina* et *E. maxima* utilisées pour cet essai font partie de la collection de l'équipe de parasitologie de l'unité VIPAC de l'anses Ploufragan-Plouzané. La technique de préparation de l'inoculum des coccidies est décrite dans annexe n° 3.

La concentration des oocystes de coccidies à inoculer :

- *E. maxima* : 2.000 oocystes sporulés par oiseau.
- *E. acervulina* : 4.000 oocystes sporulés par oiseau.

L'inoculation est réalisée *per os*, à l'aide d'une pipette, avec un volume de 1 ml de la suspension contenant les deux espèces de coccidies (figure 26).



Figure 26 : inoculation des poulets (**A** : inoculation des coccidies. **B** : inoculation de *Clostridium perfringens*)

III.4.3. Préparation et inoculation de *Clostridium perfringens*

Selon le modèle expérimental établi par l'équipe de l'anses en 2009, il a été observé une efficacité plus intéressante lorsque l'inoculation est réalisée par un mélange de deux souches de *Clostridium perfringens*, notées A et B, isolées de cas d'entérite nécrotique du terrain. Ces souches sont stockées dans une solution à 25% de glycérol dans un surgélateur à -80°C dans l'unité HQPAP. La technique de préparation et administration de l'inoculum de *Clostridium perfringens* est illustrée dans l'annexe n°1.

III.4.3.1. Description des souches (voir annexe n° 2)

- Souche A : fournie par le LDA22 (Laboratoire de Développement et d'Analyses du département des Côtes d'Armor), référence de la souche : 103009089, isolée sur un poulet de 19 jours. Identification des toxines par l'Institut Pasteur : *Alpha, Thêta et NetB*.
- Souche B : isolée par l'unité AA de l'anses Ploufragan-Plouzané sur un poulet de 20 jours, référence : P3D2. Identification des toxines par l'Institut Pasteur : *Alpha et Thêta*.

III.4.3.2. Inoculation des poulets par le mélange A + B de *C. perfringens*

Les poulets sont inoculés avec le mélange des clostridies quatre jours après inoculation des coccidies. L'inoculation est réalisée *per os* avec 2 ml du mélange A + B (10^8 UFC/poulet) une fois par jour pendant 2 jours à 24 heures d'intervalle. A partir du 1er jour d'inoculation de *C. perfringens*, une douche est obligatoire à la sortie de l'animalerie.

III.5. Critères suivis

Les grilles de notations sont celles utilisées habituellement par l'équipe de parasitologie pour le suivi lors d'infections coccidiennes.

III.5.1. Paramètres zootechniques

III.5.1.1. Poids moyen

Une pesée individuelle de tous les poulets est effectuée à J6, par la suite le poids moyen de chaque lot est calculé.

III.5.1.2. Gain de poids

La moyenne des gains de poids est calculée pour chaque lot après obtention des poids à J6. Le gain de poids est calculé pour chaque oiseau (poids à J6 – poids initial), et la moyenne est calculée par la suite.

III.5.1.3. Indice de consommation

L'indice de consommation (IC) est le rapport de la consommation alimentaire sur la croissance. IC = quantité d'aliment ingérée par lot / gain de poids total pour chaque lot.

Remarque : l'aliment gaspillé durant la période de l'essai est récupéré et pesé, pour être ensuite soustrait de la mesure de l'aliment consommé. A la fin de l'expérimentation, la quantité d'aliment gaspillé durant l'essai est divisée par le nombre de lots, puis soustrait à la quantité ingérée de chaque lot.

III.5.2. Paramètres cliniques et lésionnels

III.5.2.1. Notation de la morbidité

La morbidité est notée quotidiennement de J5 à J7, selon le barème présenté dans le tableau 9. Après être entré dans l’animalerie, l’observateur se tient immobile dans la salle jusqu’à ce que les oiseaux reprennent un comportement non influencé par sa présence. L’examen porte sur une cage de chaque lot.

Tableau 9 : barème de la notation de la morbidité

0	Attitude normale des animaux
1	Plumes ébouriffées (surtout celles du cou)
2	Début de frilosité et de prostration
3	Frilosité et prostration marquées, animaux apathiques
4	Position en boule des animaux, ailes tombantes, station debout pénible, yeux fermés

III.5.2.2. Taux de mortalité

Un suivi matin et soir est effectué durant tout l’essai afin de noter et récupérer les sujets morts. Taux de mortalité par lot = (nombre de morts par lot/effectif de départ dans chaque lot) X100.

III.5.2.3. Notation de l’aspect des matières fécales

L’aspect des matières fécales se fait de J5 à J7 selon le barème présenté dans le tableau 10. Après chaque notation, le papier de collecte des fientes est éliminé et un papier cartonné propre est mis en place.

Tableau 10 : barème de la notation de l’aspect des matières fécales

0	Fientes normales
1	Fientes molles
2	Fientes très molles mais pas liquides
3	Fientes liquides mais pas glaireuses
4	Fientes très liquides contenant des mucosités

III.5.2.4. Notation des lésions intestinales à J6 et J7

Des autopsies sont réalisées sur les poulets morts des suites de la maladie et sur des poulets euthanasiés, pour noter les lésions intestinales. Les euthanasies pour autopsies et notations des lésions sont réalisées à J6 (50% des sujets par lot) et à J7 (le reste des sujets). {La réalisation

d'autopsies au-delà n'est pas pertinente pour la notation des lésions, celles-ci étant résorbées rapidement. Il est ainsi plus intéressant de les réaliser le plus tôt possible}. Les poulets sont euthanasiés par électroanesthésie suivie d'exsanguination par section des veines jugulaires, des artères carotides et de la colonne vertébrale. L'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon) est prélevé, étalé puis ouvert longitudinalement dans sa totalité pour la notation des lésions.

III.5.2.4.1. Notation des lésions d'entérite nécrotique

La notation des lésions d'entérite nécrotique se fait selon le barème présenté dans le tableau 11.

Tableau 11 : notation des lésions d'entérite nécrotique

N	Aucune lésion
A	Contenu intestinal liquide et paroi pâle
B	Présence de dépressions
C	Présence de foyers de nécrose
D	Nécrose diffuse

Les profils C et D sont considérés comme étant des lésions caractéristiques de l'entérite nécrotique.

III.5.2.4.2. Notation des lésions engendrées par *Eimeria acervulina*

La notation se fait selon le barème de **Johnson et Reid (1970)**, elle est présentée dans le tableau 12.

Tableau 12 : barème de notation des lésions dues à *Eimeria acervulina*

Reid 1	Quelques points blancs en surface de l'épithélium muqueux, surtout dans le duodénum. Moins de cinq lésions au cm ² .
Reid 2	Points blancs nombreux dans le duodénum et/ou le jéjunum mais non coalescents. Plus de cinq points blancs sur 1 cm de longueur d'intestin. Coloration normale.
Reid 3	Les points blancs sont assez nombreux pour se toucher par endroits et la muqueuse est décolorée. Le contenu est liquide. On peut trouver un enduit blanc sur la muqueuse, mais l'indice reste 3 tant qu'on observe des points blancs sur l'épithélium sous cet enduit.
Reid 4	Les points blancs ne sont plus visibles. La muqueuse est très décolorée et peut être recouverte d'un enduit blanc riche en oocystes (confirmation microscopique). L'enduit peut avoir disparu, la lésion est très difficile à noter. Comparer avec l'intestin d'autres sujets avant de donner une note définitive.

III.5.2.4.3. Notation des lésions dues à *Eimeria maxima*

La notation se fait selon le barème de **Johnson et Reid (1970)**, elle est présentée dans le tableau 13.

Tableau 13 : barème de notation des lésions dues à *Eimeria maxima*

Reid 1	Quelques pétéchies sur la séreuse autour du diverticule de Meckel, ou ailleurs sur l'intestin.
Reid 2	Pétéchies plus nombreuses sur la séreuse, petites pétéchies sur la muqueuse, contenu liquide, mucus orangé. Paroi intestinale épaissie.
Reid 3	Ballonnement de l'intestin grêle et épaississement de la paroi intestinale. Mucus orangé abondant, traces de sang mélangé au mucus.
Reid 4	Ballonnement marqué, mucus orangé parsemé de sang et de caillots, contenu liquide, odeur putride.

IV. Second essai : sélection d'un isolat de coccidies du terrain résistant aux anticoccidiens ionophores (narasin et monensin)

IV.1. Période de l'essai

L'expérimentation se déroule sur une période de 50 jours, du 4 octobre au 22 novembre 2011.

IV.2. Animaux

Des coquelets (souche Isabrown) sont fournis par le couvoir Hendrix-Genetic à Mûr de Bretagne, situé dans le département des Côtes-d'Armor et élevés au SELEAC. Un effectif de 9 coquelets est transféré au laboratoire de parasitologie à l'âge de 70 jours. Ensuite, un effectif de 63 coquelets est mis en place en animalerie du laboratoire de parasitologie à l'âge de 38 jours.

IV.3. Conditions d'élevage

A leur arrivée, les coquelets sont mis en place dans l'animalerie de l'essai (cf. III.3.2).

L'aliment distribué est de type PLD (poulette démarrage) sous forme de farine, non supplémenté.

L'aliment et l'eau sont distribués *ad libitum*.

IV.4. Protocole expérimental

Le protocole expérimental est représenté dans la figure 27.

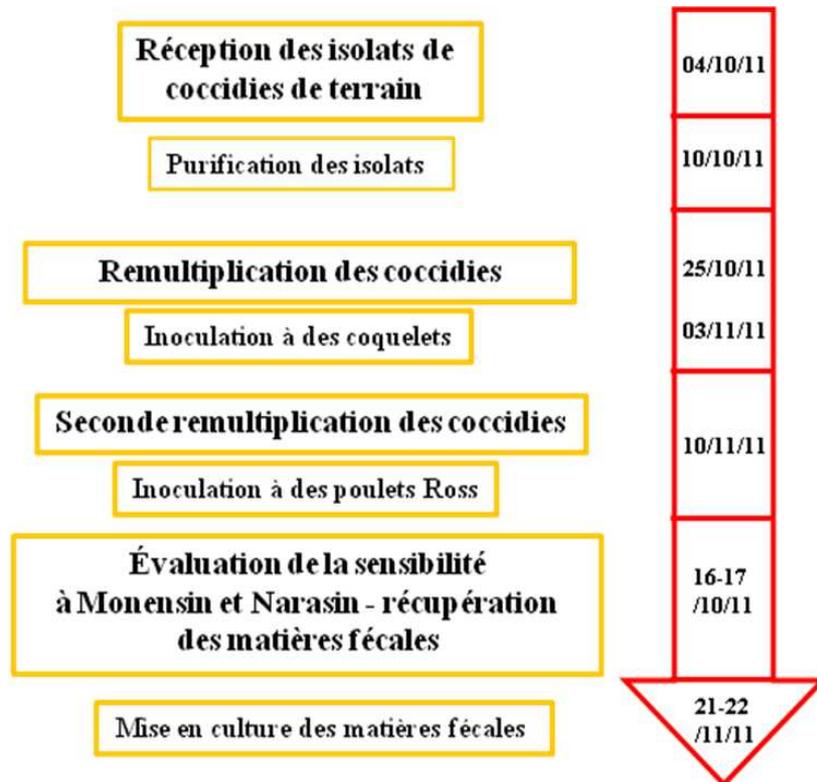


Figure 27 : protocole expérimental du second essai

IV.4.1. Réception et purification des isolats

Les isolats de coccidies sont obtenus à partir des prélèvements de terrain (matières fécales) qui sont envoyés par des techniciens avicoles ou des vétérinaires du terrain. Les isolats provenant de lots de poulets vaccinés contre la coccidiose sont exclus de l'étude.

Une évaluation de la concentration en oocystes est effectuée (voir technique de flottation et technique de comptage d'oocystes en cellule de McMaster en annexes n° 4). Ne sont retenus que les échantillons qui contiennent des quantités importantes d'oocystes (concentration supérieure à 1.000 oocystes par gramme de matière fécale), dans lesquels *Eimeria maxima* et/ou *Eimeria acervulina* semblent être présentes, en se basant sur la morphologie et la taille des oocystes observés et en éliminant les échantillons contenant *Eimeria tenella*.

IV.4.2. Multiplication des coccidies

Chaque isolat retenu est multiplié sur trois coquelets âgés de 70 jours. L'inoculation est effectuée avec la quantité d'oocystes purifiés divisée par le nombre d'oiseaux (trois). Les matières fécales

sont collectées à J4 et J5 pour récupération d'*Eimeria acervulina* et de J6 à J8 pour récupération d'*Eimeria maxima*.

IV.4.3. Seconde multiplication et évaluation de la résistance des isolats de coccidies aux anticoccidiens ionophores (narasin et monensin)

Une seconde multiplication est effectuée sur 63 coquelets inoculés à l'âge de 38 jours avec une dose de 100.000 oocystes de coccidies par oiseau.

IV.4.3.1. Mise en place des animaux

Les poulets sont répartis en trois lots, à raison de 21 poulets par lot, chaque lot occupant 7 cages (un isolat par cage). Chaque cage contient trois coquelets.

Les trois lots sont les suivants :

- Un lot témoin sans supplémentation,
- Un lot supplémenté avec le narasin (voir concentration dans le tableau 7),
- Un lot supplémenté avec monensin (voir concentration dans le tableau 7).

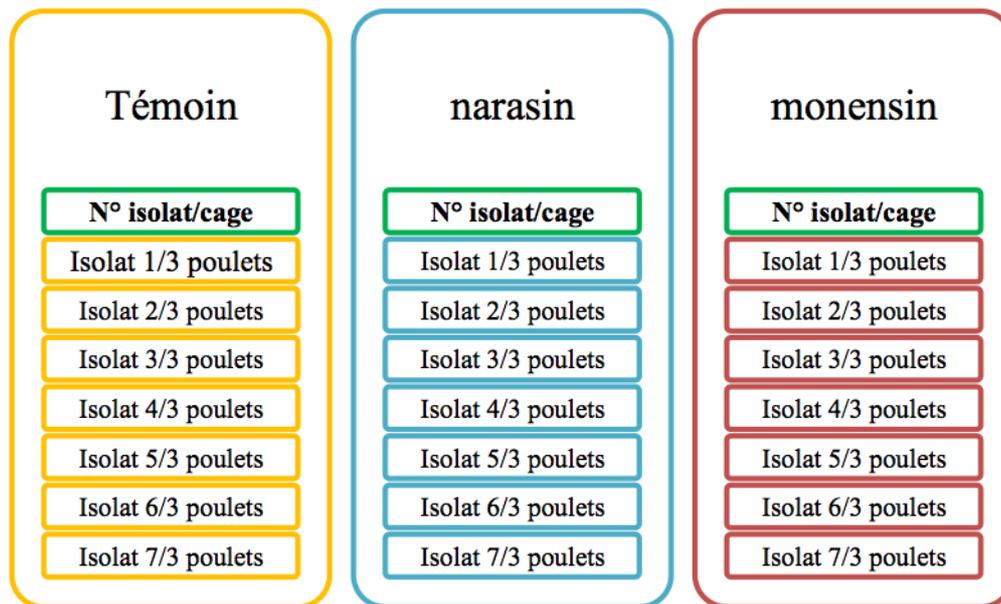


Figure 28 : répartition des poulets et des cages par lot

IV.4.3.2. Critère suivi pour l'évaluation de la résistance

L'isolat de coccidies est sélectionné en évaluant le critère suivant :

IV.4.3.2.1. Notation des lésions intestinales

La notation des lésions se fait à J6 pour *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* (et *Eimeria tenella*).

IV.4.3.2.1.1. Notation des lésions à *Eimeria acervulina* et *Eimeria maxima*

Le barème pour la notation des lésions d'*Eimeria acervulina* et *Eimeria maxima* est décrit précédemment (cf. III.5.2.4.1.2 et III.5.2.4.1.3).

IV.4.3.2.1.2. Notation des lésions à *Eimeria tenella* (JOHNSON et REID, 1970)

Tableau 14 : barème de notation des lésions dues à *Eimeria tenella*

Reid 1	quelques pétéchies sur la séreuse ou la muqueuse cæcale, absence de sang dans les cæca, contenu cæcal pâteux
Reid 2	pétéchies sur la séreuse et la muqueuse cæcale, contenu cæcal pâteux mélangé à du sang ou de la fibrine, paroi épaisse mais sillons présents
Reid 3	paroi cæcale très épaisse, sillons non visibles, absence de contenu cæcal, remplacé par du sang ou de la fibrine
Reid 4	cæca distendus en forme de massue. Le sang liquide (schizogonies) ou coagulé en caillot occupe toute la lumière du cæcum distendu.

V. Troisième essai : confirmation de la résistance aux ionophores (narasin et monensin) de l'isolat sélectionné

V.1. Période de l'essai

L'expérimentation se déroule sur une période de huit jours, du 7 au 15 décembre 2011.

V.2. Animaux

Un effectif de 16 poussins mâles frères de la poule Isabrown, âgés d'un jour, non vaccinés, originaires du couvoir SFPA à Mûr de Bretagne, situé dans le département des Côtes-d'Armor, est

utilisé. Les animaux sont mis en place dans l'animalerie du démarrage (cf. III.3.1) puis transférés à l'âge de 28 jours dans l'animalerie de l'essai (cf. III.3.2).

V.3. Protocole expérimental

Le protocole expérimental est représenté dans la figure 29.

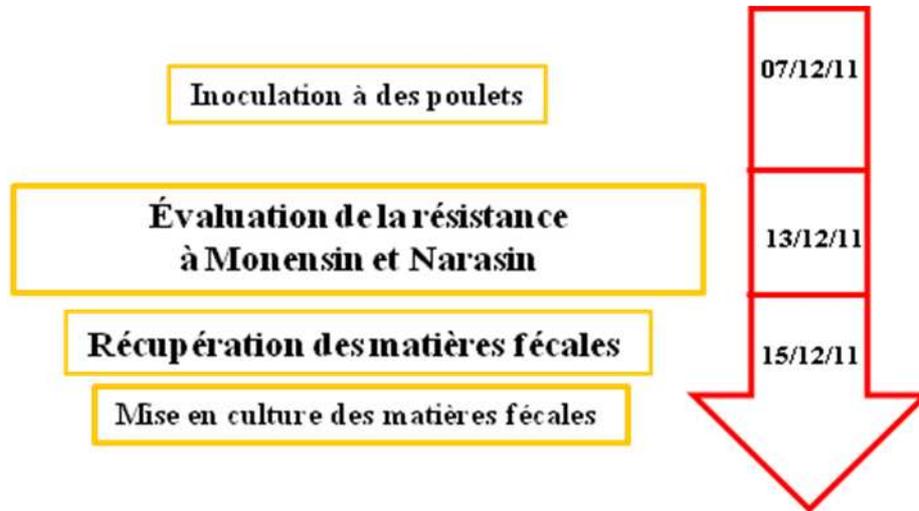


Figure 29 : protocole expérimental du troisième essai

V.3.1. Mise en place des animaux

Les poulets sont répartis à l'âge de 28 jours en 4 lots (4 poulets par lot) dans l'animalerie de l'essai, 2 lots témoins (infectés coccidies et non supplémentés), un lot supplémenté narasin et un lot supplémenté monensin.

V.3.2. Inoculation des animaux

Les poulets sont inoculés *per os* avec 10.000 oocystes de l'isolat retenu lors de l'étape précédente de sélection (chapitre IV).

V.4. Critères suivis pour l'évaluation de la résistance

Les critères suivis pour cet essai sont les mêmes que pour le second essai.

VI. Quatrième essai : validation du modèle entérite nécrotique avec l'isolat de coccidies sélectionné (isolat n°9)

VI.1. Période de l'essai

L'expérimentation se déroule sur une période de seize jours, du 17 janvier 2011 au 2 février 2011

VI.2. Animaux

Un effectif de 48 poussins issus de la souche Ross, non vaccinés, est mis en place le 17 janvier 2012, à l'âge d'un jour, au laboratoire de parasitologie et fourni par le couvoir Perrot à Pommerit-Jaudy, situé dans le département des Côtes-d'Armor.

VI.3. Conditions d'élevage

A leur arrivée, les poussins sont élevés dans l'animalerie de démarrage jusqu'à l'âge de 9 jours puis transférés dans l'animalerie de l'essai (cf. III.3.2)

VI.4. Protocole expérimental

Le protocole expérimental pour cet essai est présenté dans la figure 30.

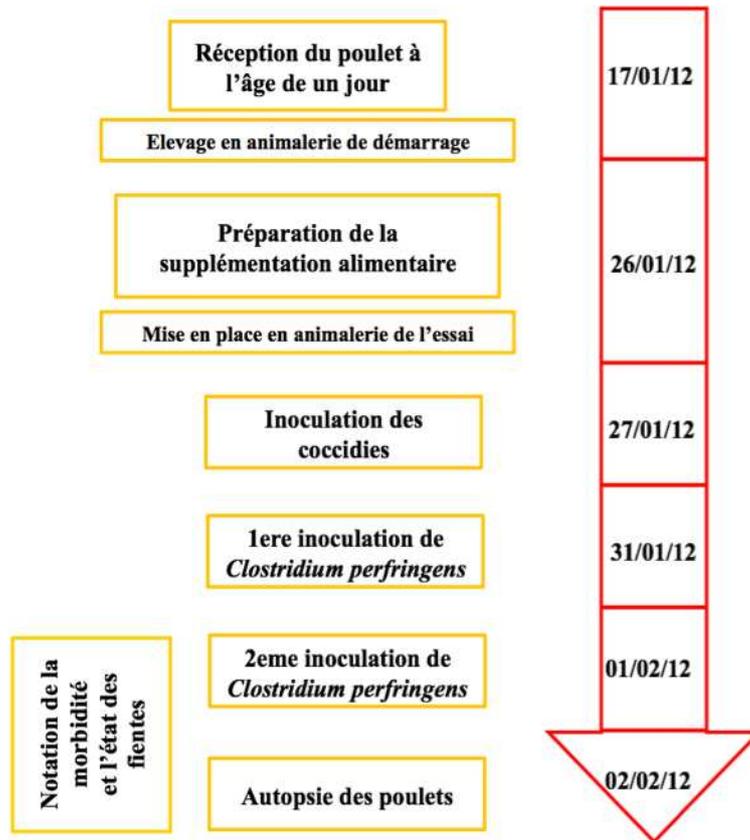


Figure 30 : protocole expérimental du quatrième essai

La distribution des lots pour cet essai est illustrée dans le tableau 15.

Tableau 15 : distribution des lots expérimentaux pour le quatrième essai

Code	Description
I1	Lot infecté coccidies (dose 1) et <i>C. perfringens</i>
I2	Lot infecté coccidies (dose 2) et <i>C. perfringens</i>
I3	Lot infecté coccidies (dose 3) et <i>C. perfringens</i>
I4	Lot infecté coccidies (dose 4) et <i>C. perfringens</i>

Effectif des oiseaux par lot : 6

Nombre de cages par lot : 2

Nombre de poulets par cage : 3

VI.4.1. Inoculation des coccidies

Les différentes concentrations de coccidies sont préparées à partir de cultures récupérées de l'isolat 9 lors du second essai.

Les doses inoculées sont les suivantes :

- Dose 1 : 2.500 oocystes par oiseau
- Dose 2 : 5.000 oocystes par oiseau
- Dose 3 : 7.500 oocystes par oiseau
- Dose 4 : 10.000 oocystes par oiseau

VI.4.2. Inoculation de *Clostridium perfringens*

La technique de préparation de l'inoculum de *Clostridium perfringens* est décrite en annexe n° 1. L'inoculum comprend un mélange de deux souches (souche type A et souche type B) de *Clostridium perfringens* préparées, volume à volume, au laboratoire HQPAP. Il est apporté le jour de l'inoculation au laboratoire de Parasitologie. La dose inoculée est de 10^8 UFC par oiseau (le comptage est fait après inoculation pour vérifier la concentration).

VI.5. Critères suivis

VI.5.1. Notation de la mortalité et l'état des matières fécales

La notation de la mortalité et de l'état des matières fécales se fait à partir de la deuxième inoculation de *Clostridium perfringens*.

Le barème de notation de la mortalité et de l'état des fientes est décrit plus haut (paragraphe III.9.4.2.2 et tableau 10)

VI.5.2. Notation des lésions intestinales

La notation des lésions intestinales se fait selon les barèmes décrits précédemment (tableaux 11, 12 et 13) pour les coccidies et l'entérite nécrotique. Les autopsies sont réalisées six jours après l'inoculation des coccidies.

VII. Cinquième essai : étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique dans les conditions du modèle expérimental, avec un isolat de coccidies du terrain résistant aux ionophores testes

VII.1. Durée de l'essai

L'expérimentation se déroule sur une période de seize jours, du 22 février 2012 au 9 mars 2012.

VII.2. Animaux

Un effectif de 350 poussins conventionnels, mâles, âgés d'un jour, non vaccinés, issus de la souche Ross jaune, est mis en place le 22 février 2012 au laboratoire de parasitologie, et fourni par le couvoir Perrot à Pommerit-Jaudy, situé dans le département des Côtes-d'Armor.

A leur arrivée, les poussins sont répartis dans deux batteries chaudes (cinq étages dans chaque batterie, 40 poussins par étage = ça fait 400) dans l'animalerie de démarrage (figure 18).

A 8 jours, les poussins sont pesés et identifiés par une bague alaire numérotée (figure 19).

Une sélection de 192 poussins est établie après réalisation d'un histogramme de poids. Le poids des poussins sélectionnés varie entre 197 et 238 g (voir annexe n° 7). Par la suite, les poussins sont transférés de l'animalerie de démarrage vers l'animalerie où s'effectue l'essai. Les conditions d'élevage sont identiques à celles du premier essai (cf. III.3).

VII.3. Protocole expérimental

Le protocole expérimental pour cet essai est présenté dans la figure 31.

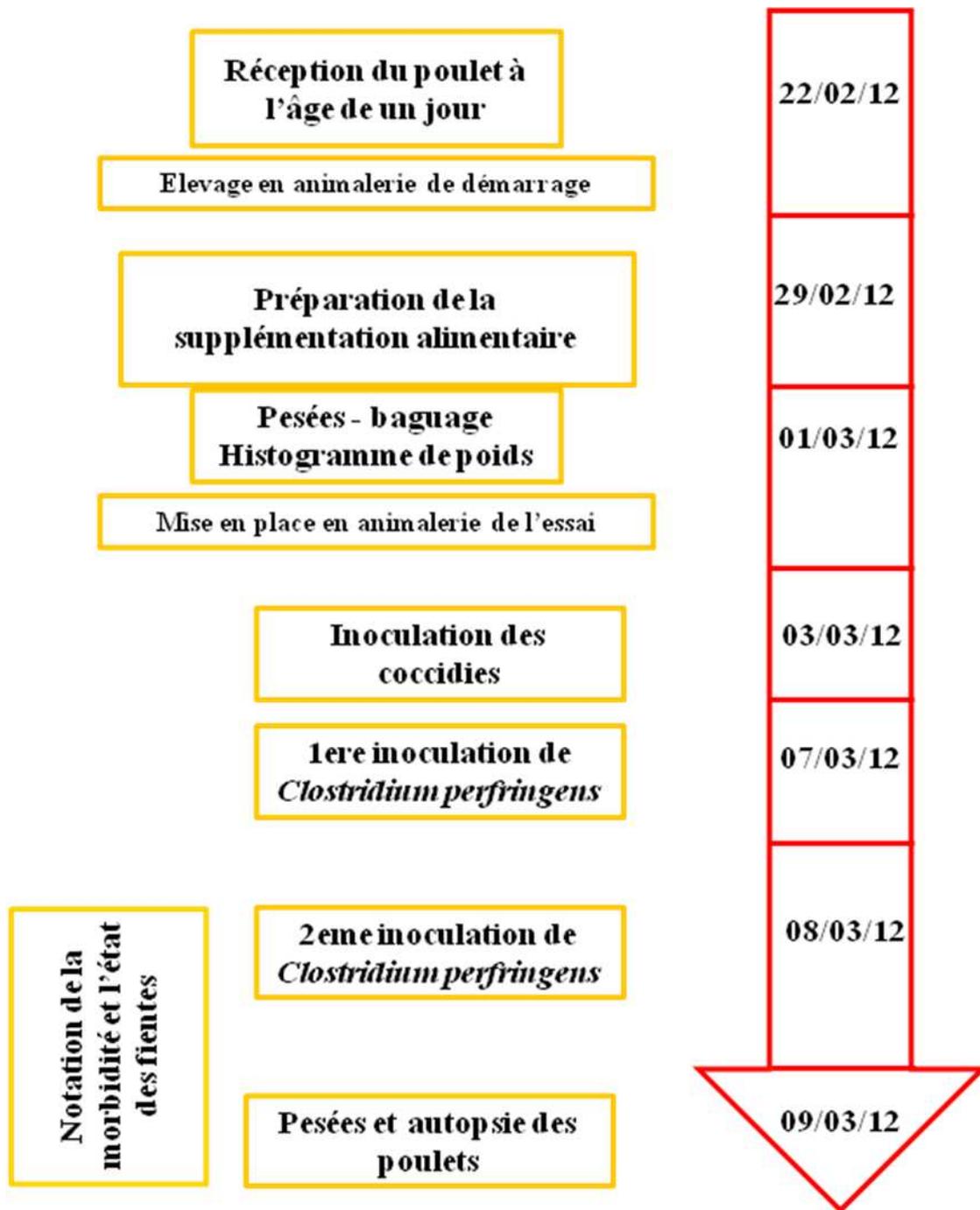


Figure 31 : protocole expérimental du cinquième essai

La distribution des lots pour cet essai est présentée dans le tableau 16.

Tableau 16 : distribution des lots expérimentaux pour le cinquième essai

Lot	Description	Objectif
NINS	Non infecté, non supplémenté	Témoin négatif
Icox NS	Infecté coccidies, non supplémenté	Témoin : lésions de coccidioses
INS	Infecté coccidies + clostridies, non supplémenté	Témoin : lésions d'entérite nécrotique
Iclos NS	Infecté clostridies, non supplémenté	Vérification de la capacité de <i>Clostridium perfringens</i> à engendrer de l'entérite nécrotique
ISN	Infecté coccidies + clostridies, supplémenté narasin	Effet du narasin sur l'entérite nécrotique
Icox N	Infecté coccidies, supplémenté narasin	Effet du narasin sur les coccidies à la dose inoculé
Icox M	Infecté coccidies, supplémenté monensin	Effet du monensin sur les coccidies à la dose inoculé
ISM	Infecté coccidies + clostridies, supplémenté monensin	Effet du monensin sur l'entérite nécrotique

L'effectif des oiseaux par lot est le même que dans le premier essai.

L'inoculum de coccidies se fait avec les cultures récupérées de l'isolat 9 lors du second essai.

VII.4. Critères suivis

Les critères pris en compte sont les mêmes que dans le premier essai (cf. III.9.4).

VIII. Tests statistiques utilisés pour l'analyse des résultats

L'analyse statistique des paramètres quantitatifs (poids à J6 et gain de poids) se fait par les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis et de Mann Whitney avec le logiciel **Systat**.

Les différences sont significatives si $P \leq 0.05$.

Résultats

I. Premier essai : étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique dans les conditions du modèle expérimental établi par l'équipe de l'anses en 2009

I.1. Evaluation des paramètres zootechniques retenus pour cet essai

L'évaluation des paramètres zootechniques a été réalisée statistiquement par les tests non paramétriques (test de Kruskal-Wallis et test de Mann Whitney pour tous les essais, la différence est significative si $P \leq 0.05$).

La comparaison des poids et des gains de poids à J6 est réalisée entre les lots :

- NI, I1, I2 et I3 afin de vérifier la présence de l'infection coccidienne et la sensibilité des coccidies aux ionophores.
- NI, I1, I4 et I7 afin de vérifier le développement de l'entérite nécrotique.
- NI, I1, I4, I5 et I6 pour l'évaluation de l'effet des anticoccidiens ionophores (monensin et narasin) sur le développement de l'entérite nécrotique.

I.1.1. Poids moyen à J6

Les poids des poulets à J6 sont présentés dans la figure 29.

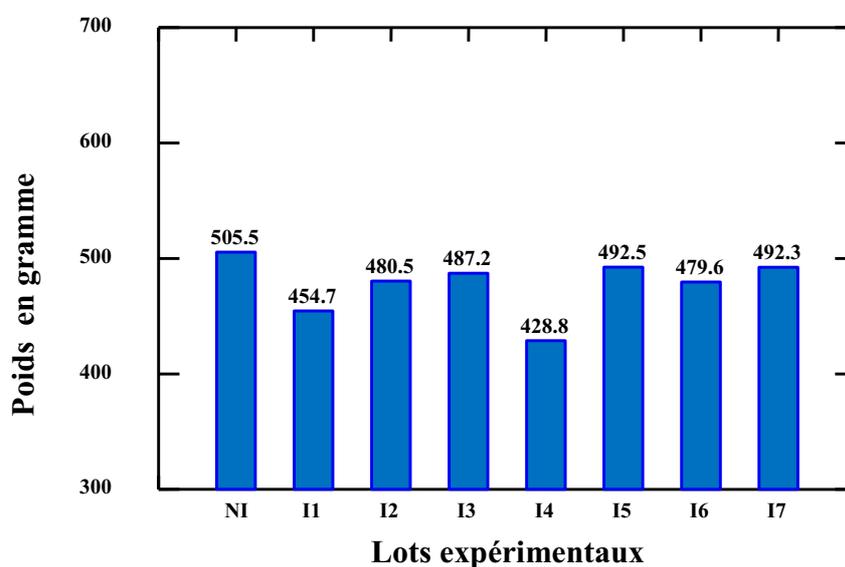


Figure 32 : poids des poulets à J6 pour (premier essai)

Le plus faible poids (428,8 g) a été noté dans le lot I4 (lot infecté coccidies et clostridies sans supplémentation), et dans le lot I1 (454,7 g, lot infecté coccidies seulement).

Le poids dans le lot I6 (lot infecté coccidies et clostridies et supplémente avec le monensin) est de 479,6 g, par rapport au lot NI (lot témoin, non infecté, non supplémente) où le poids était de 505,5g.

I.1.1.2. Poids à J6 des lots NI, I1, I2 et I3

Remarque : la comparaison des poids et des gains de poids de J6 entre les lots se fait statistiquement avec les tests de Kruskal-Wallis et de Mann Whitney pour tous les essais (la différence est significative si $P \leq 0.05$).

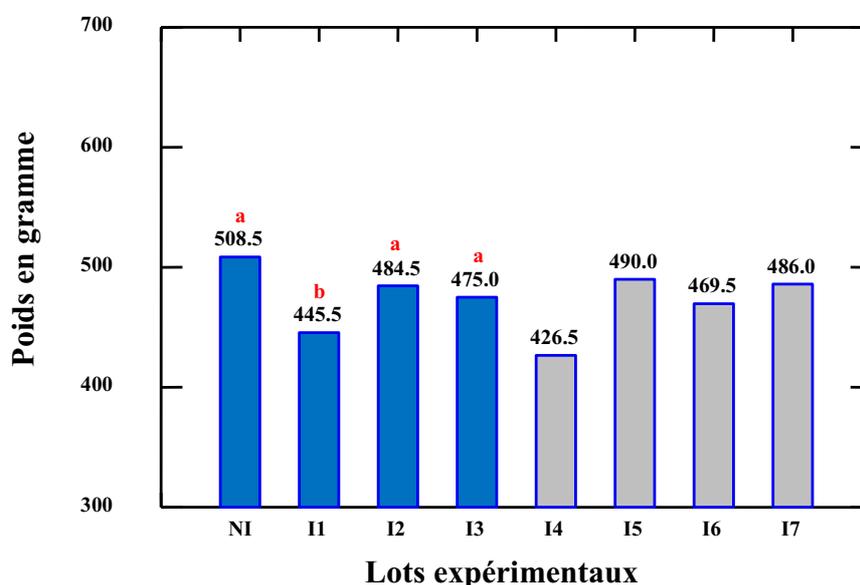


Figure 33 : représentation graphique des médianes des poids à J6 des lots NI, I1, I2 et I3

La différence est significative entre les lots NI et I1, elle est également significative entre les lots I1 et I3 et entre les lots I2 et I1. Il n’y a pas de différence significative entre les lots NI, I2 et I3.

I.1.1.2. Poids à J6 des lots NI, I1, I4 et I7

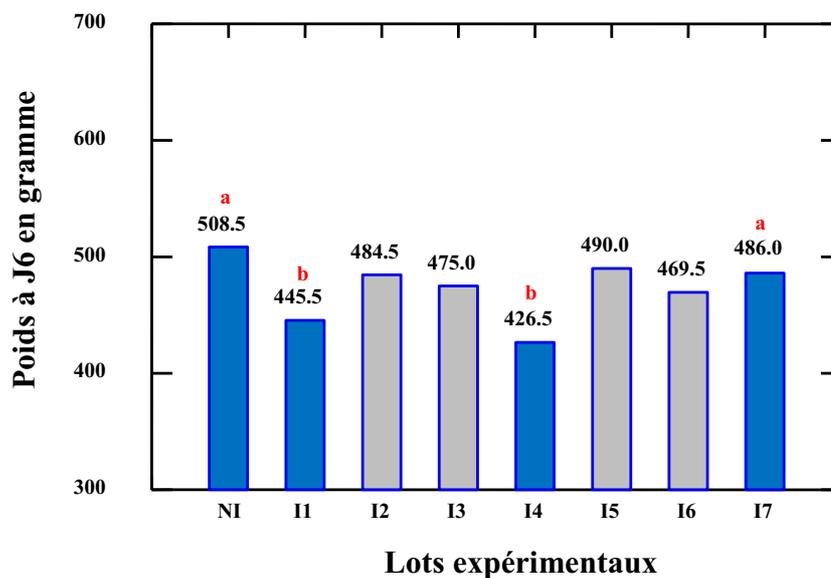


Figure 34: représentation graphique des médianes des poids à J6 des lots NI, I1, I4 et I7

Il n’y a pas de différence significative entre les lots NI et I7. Il n’y a pas non plus de différence significative entre les lots I1 et I4. Cependant, il y a une différence significative entre le lot NI et les lots I1 et I4, et entre le lot I7 et les lots I1 et I4.

I.1.1.2. Poids à J6 des lots NI, I1, I4, I5 et I6

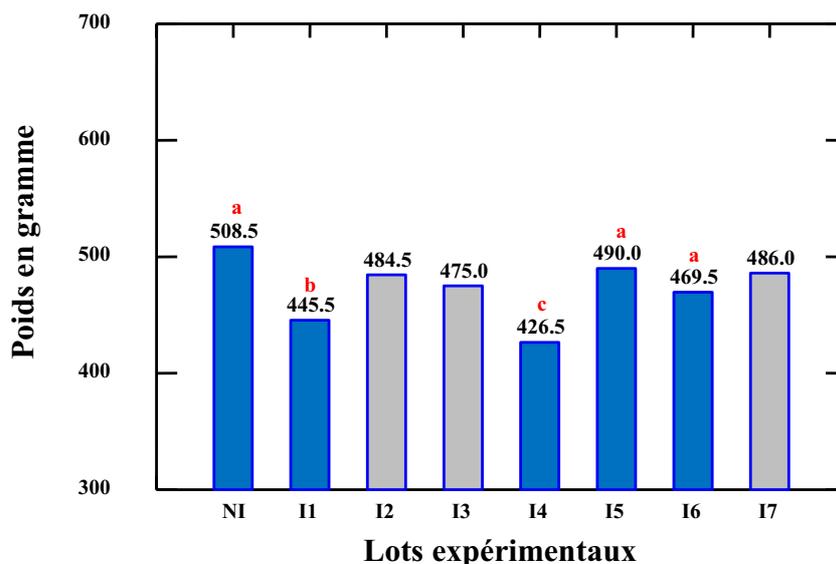


Figure 35: représentation graphique des médianes des poids moyens à J6 des lots NI, I1, I4, I5 et I6

Il n’y a pas de différence significative entre les lots NI, I5 et I6. Cependant il y a une différence significative entre les lots I4 et I5, entre les lots I4 et I6, entre le lot I1 et les lots I5 et I6, et enfin entre le lot I1 et le lot I4.

I.1.2. Gain de poids de J0 à J6

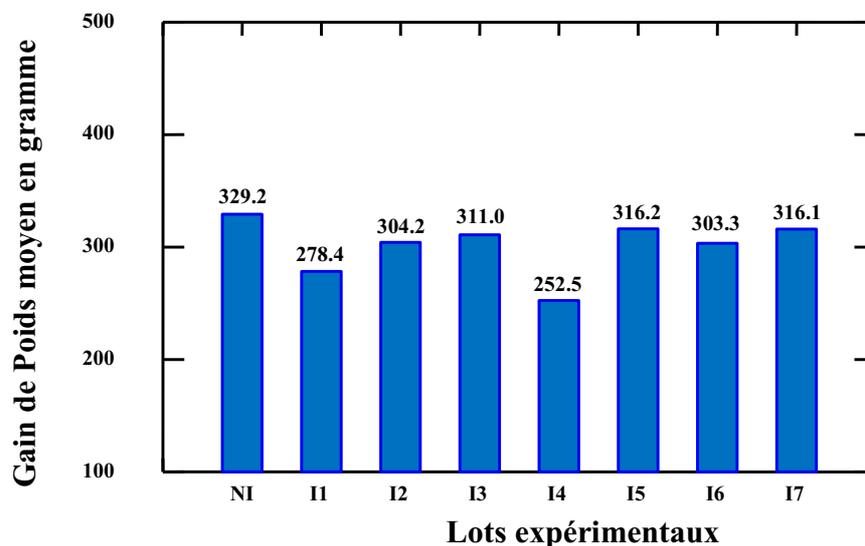


Figure 36 : moyennes des gains de poids par lot de J0 à J6 pour (premier essai)

Le plus faible gain de poids moyen (252,5 g) a été noté dans le lot 4 (lot infecté coccidies et clostridies sans supplémentation). Le gain de poids le plus élevé a été observé dans le lot témoin NI, non infecté et non supplémenté (329,2 g).

I.1.2.1. Gain de poids de J0 à J6 des lots NI, I1, I2, I3

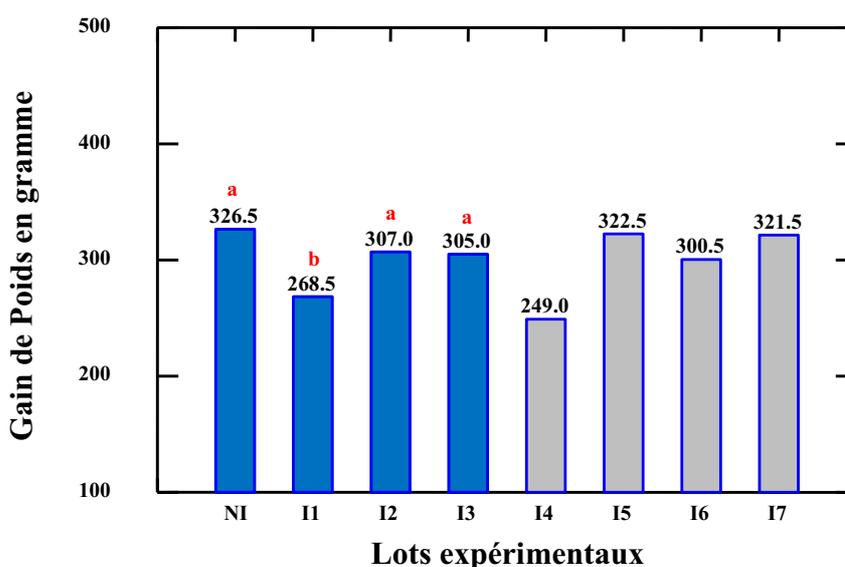


Figure 37 : représentation graphique des médianes de gain de poids des lots NI, I1, I2, I3

La différence est significative entre les lots NI et I1, et entre les lots I2 et I1. Par contre, il n’y a pas de différence significative entre les lots NI, I1 et I3.

I.1.2.2. Gain de poids de J0 à J6 des lots NI, I1, I4 et I7

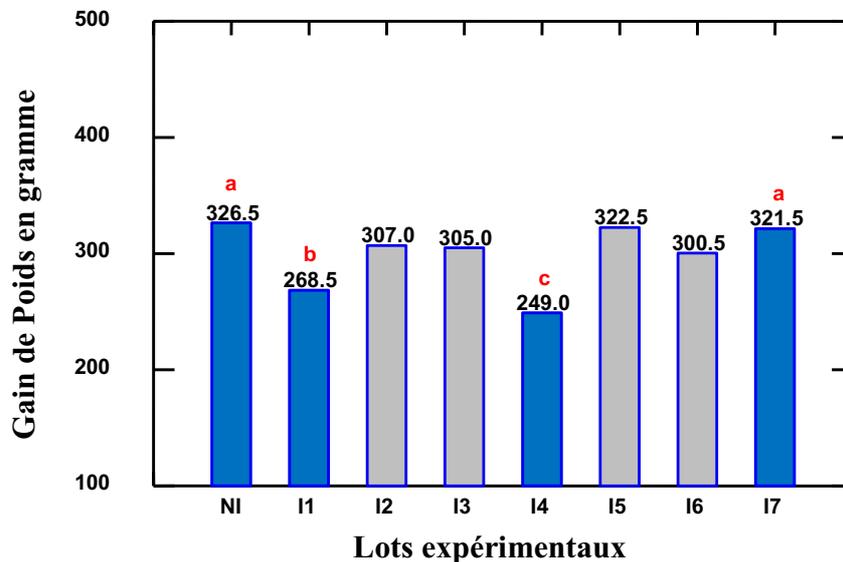


Figure 38 : représentation graphique des médianes de gain de poids des lots NI, I1, I4 et I7

La différence est significative entre les lots NI et I1 et les lots NI et I4. Elle est également significative entre les lots I1 et I4, et les lots I7 et I4. Il n’y a pas de différence significative entre les lots NI et I7.

I.1.2.3. Gain de poids de J0 à J6 des lots NI, I1, I4, I5 et I6

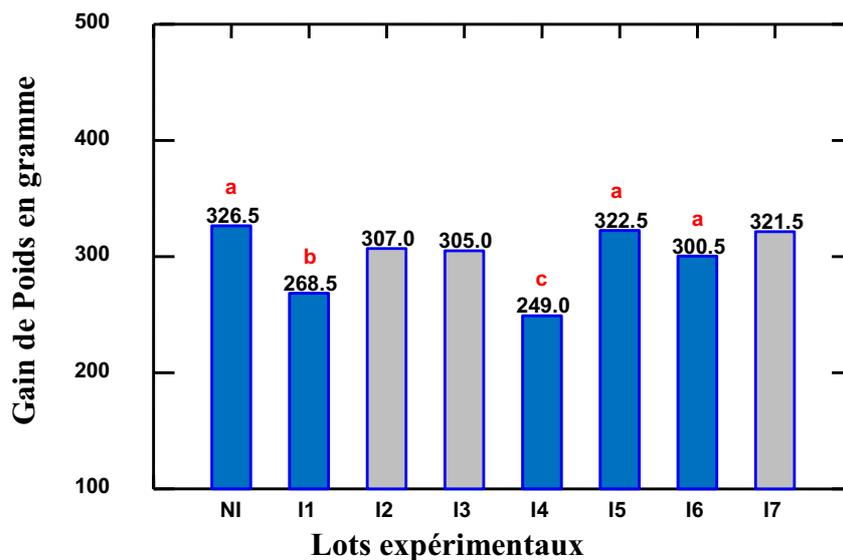


Figure 39 : représentation graphique des médianes de gain de poids des lots NI, I1, I4, I5 et I6

La différence n'est pas significative entre les lots NI, I5 et I6. Cependant, il y a une différence significative entre les lots I1 et I5, et entre les lots I1 et I6.

I.1.3. Poids moyen final à J13

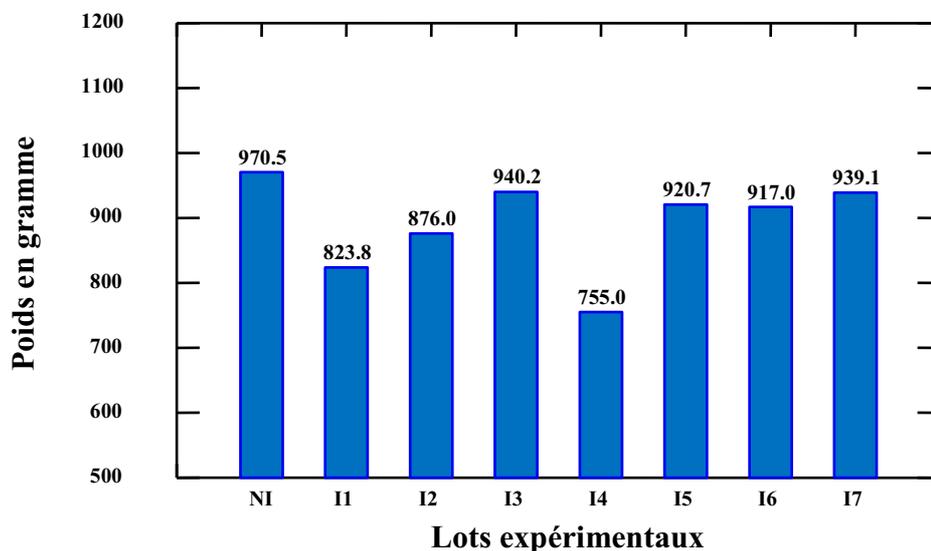


Figure 40 : poids moyen final par lot

On observe que les poids moyens à la fin de l'essai sont les plus bas dans les lots I1 (lot infecté coccidies seules) et I4 (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*).

I.1.4. Gain de poids de J0 à J13

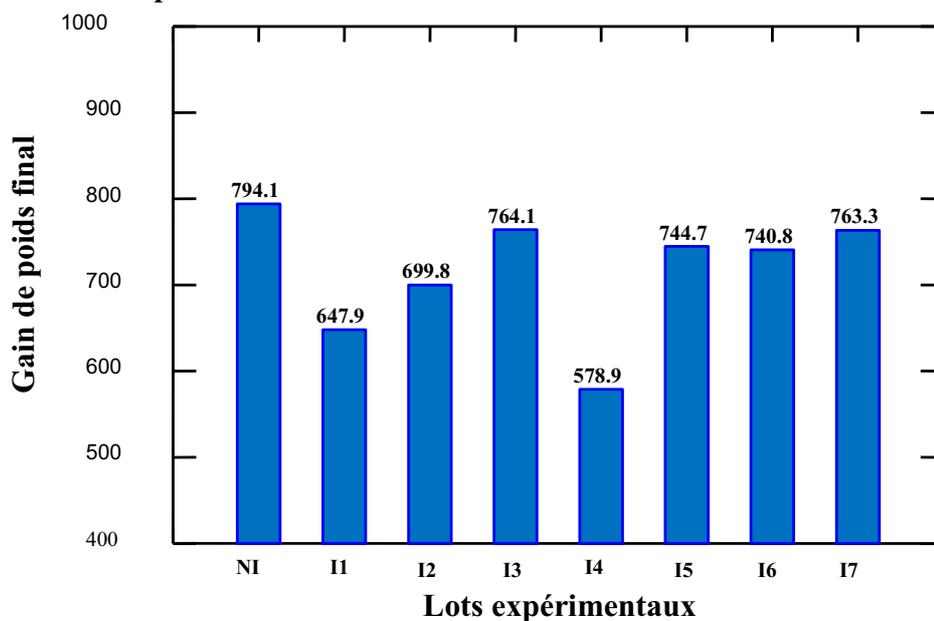


Figure 41 : gain de poids final par lot

Le plus faible gain de poids moyen final (755,0 g) a été noté dans le lot I4 (lot infecté coccidies et clostridies sans supplémentation) par rapport au lot témoin NI où on a noté un gain de poids moyen final de 970,5 g. On n'a pas effectué l'analyse statistique du poids moyen final car ce paramètre n'a pas été étudié dans le dernier essai.

I.1.3. Indice de consommation à J6

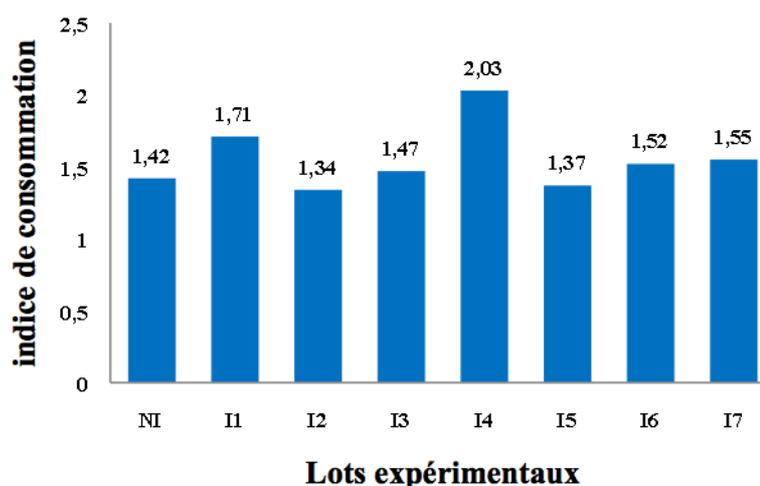


Figure 42 : indice de consommation à J6 par lot (premier essai)

Le meilleur indice de consommation a été obtenu dans le lot I2 (lot infecté coccidies et supplémenté narasin) et dans le lot I5 (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, supplémenté narasin).

On remarque que l'indice de consommation dans le lot I5 (infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, supplémenté narasin) est meilleur que l'indice de consommation dans le lot témoin NI (non infecté et non supplémenté).

L'indice de consommation le plus élevé a été noté dans le lot I4 (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, non supplémenté).

I.2. Evaluation des paramètres cliniques et lésionnels pour cet essai

Tableau 17 : évaluation des paramètres cliniques et lésionnels

Lot		NI	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7
Morbidité		0	0	0	0	0	0	0	0
Mortalité %		0	0	0	4.17	0	0	0	0
Matières fécales J+5		0	2	0	0	1	1	0	1
Lésion d'<i>Eimeria acervulina</i>	0	12	2	3	8	3	8	8	10
	1	0	5	8	4	2	4	2	2
	2	0	5	1	0	7	0	2	0
	3	0	0	0	0	1	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0
Lésions d'<i>Eimeria maxima</i>	0	12	7	9	12	10	11	12	12
	1	0	1	3	0	1	0	0	0
	2	0	2	0	0	2	1	0	0
	3	0	2	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0
Lésions de l'entérite nécrotique	N	12	7	10	11	7	11	9	11
	A	0	5	0	1	3	1	2	1
	B	0	0	1	0	0	0	1	0
	C	0	0	1	0	0	0	0	0
	D	0	0	0	0	3	0	0	0

I.2.1. Morbidité

Selon le tableau, on remarque que la morbidité a été absente dans tous les lots

I.2.2. Mortalité

Au cours de l'expérimentation, un seul sujet est mort à J6 dans le lot I3. Dans les autres lots, il n'y a pas eu de morts au cours de l'essai.

I.2.3. Aspect des matières fécales

L'aspect des matières fécales était normal pour les lots NI (lot témoin), I2 (lot infecté coccidies, supplémenté narasin), I3 (lot infecté coccidies et supplémenté monensin) et I6 (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, supplémenté monensin), et un peu modifié (note entre 1 et 2) pour les lots I1, I4, I5 et I7.

I.2.4. Indices lésionnels

-Lésions de coccidioses

Les lésions des coccidioses à *Eimeria acervulina* et *Eimeria maxima* d'indice 2 ont été observées dans les lots I1, I2, I4 (lots sans supplémentation) et dans les lots I5 et I6 (lots supplémentés narasin ou monensin).

-Lésions d'entérite nécrotique

On observe quelques poulets avec des lésions d'entérite nécrotique d'indice A et B, ces lésions ne sont pas caractéristiques d'une entérite nécrotique. On observe aussi des sujets avec un indice D dans le lot I4 et deux sujets avec indice B et C dans le lot 2.

II. Second essai : sélection d'un isolat de coccidies du terrain résistant aux anticoccidiens ionophores (narasin et monensin)

II.1. Evaluation des isolats reçus du terrain (espèces de coccidies et concentration en oocystes)

Tableau 18 : tableau récapitulatif de l'évaluation des isolats de coccidies terrain

N° d'isolat Analyse	Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6	Isolat 7	Isolat 8	Isolat 9	Isolat 10
Identification des espèces présentes selon des critères morphologiques et de mensuration	Présence d'oocystes d' <i>Eimeria tenella</i> et <i>Eimeria acervulina</i>	Présence d'oocystes d' <i>Eimeria acervulina</i> et <i>Eimeria maxima</i> avec une bonne sporulation	Présence de quelques oocystes d' <i>Eimeria acervulina</i>	Présence d'oocystes d' <i>Eimeria acervulina</i>	Pas d'oocystes de coccidies observés après les étapes de purification	Existence de trois types morphologiques, <i>Eimeria acervulina</i> , <i>Eimeria maxima</i> , et <i>Eimeria tenella</i>	Présence d'oocystes d' <i>Eimeria acervulina</i> et <i>Eimeria maxima</i> avec une sporulation moyenne	Présence de 3 types morphologiques, <i>Eimeria acervulina</i> , <i>Eimeria maxima</i> , et <i>Eimeria tenella</i>	Présence d'oocystes d' <i>Eimeria acervulina</i> , <i>Eimeria maxima</i> et <i>Eimeria tenella</i>	Présence d' <i>Eimeria acervulina</i> , <i>Eimeria maxima</i> .
Concentration en oocystes avant multiplication	15.000 oocystes /ml	23.000 oocystes/ml	Contenaient uniquement <i>Eimeria acervulina</i> en faible quantité et mal sporulée			26.000 oocystes/ml	19.000 oocystes /ml	40.000 oocystes /ml	40.000 oocystes/ml	<5000 oocystes /ml
Concentration en oocystes après multiplication sur des coquelets	2.700.000 oocystes /ml	170.000 oocystes /ml				140.000 oocystes /ml	110.000 oocystes /ml	1.400.000 oocystes /ml	300.000 oocystes /ml	300.000 oocystes /ml

Suite aux données obtenues, nous avons conservé uniquement sept isolats (1, 2, 6, 7, 8 et 9) pour la suite de l'étude car ils contiennent un nombre d'oocystes élevé et la morphologie et la taille de ces oocystes suggère la présence d'une ou deux espèces coccidiennes recherchées (*Eimeria acervulina* et *Eimeria maxima*).

II.2. Evaluation de la sensibilité des isolats retenus aux anticoccidiens ionophores (narasin et monensin)

II.2.1. Evaluation de la sensibilité au narasin

Tableau 19 : évaluation de la sensibilité des isolats sélectionnés au narasin

Isolat	1	2	6	7	8	9	10
narasin	-	+	-	+	-	+	-
EO J4, J5 & J6						3.1	3.3
Lésion J6	A2 M1 T3	A2 M2 T2	A4 M2 T4	A3 M2 T2	A3 M1 T2	A3 M1 T0	A1 M2 T4
Lésion J7 (A)	A2 M1 T2	A1 M1 T2	A2 M1 T2	A2 M1 T3	A2 M3 T3	A3 M1 T0	A1 M2 T4
Lésion J7 (B)	A2 M2 T1	A2 M1 T2	A2 M2 T4	A2 M3 T3	A3 M1 T3	A3 M1 T0	A1 M2 T4

II.2.2. Evaluation de la sensibilité au monensin

Tableau 20 : évaluation de la sensibilité des isolats sélectionnés au monensin

Isolat	1	2	6	7	8	9	10
monensin	-	+	-	-	+	-	+
EO J4, J5 & J6						3.5	2.8
Lésion J6	A2 M1 T3	A2 M2 T2	A4 M2 T4	A3 M2 T2	A2 M1 T2	A3 M1 T0	A2 M1 T2
Lésion J7 (A)	A2 M1 T1	A2 M0 T3	A2 M1 T2	A2 M1 T3	A2 M1 T4	A3 M1 T0	A1 M2 T4
Lésion J7 (B)	A2 M2 T1	A2 M1 T2	A2 M2 T4	A2 M3 T3	A2 M1 T4	A3 M1 T0	A1 M2 T4

- : témoin non traité, + : supplémenté narasin ou monensin. **EO** : excrétion oocystaire (en 10⁶ par gramme de fiente). **Lésion** : selon la notation de Johnson et Reid 1970 (A : *Eimeria acervulina* M : *Eimeria maxima* T : *Eimeria tenella*). **A** : poulet I. **B** : poulet.

Selon les deux évaluations de sensibilité (monensin et narasin), les sept isolats présentent une résistance plus ou moins prononcée aux ionophores. L'isolat 9 présente un intérêt pour la résistance et la présence majoritaire des deux espèces coccidiennes *Eimeria acervulina* et *Eimeria maxima*, il sera donc utilisé pour la validation du modèle expérimental.

III. Troisième essai : confirmation de la résistance de l'isolat sélectionné (isolat 9) aux ionophores (narasin et monensin)

III.1. Réévaluation de la résistance de l'isolat 9 au narasin

Tableau 21 : évaluation de la résistance de l'isolat 9 au narasin

Jour d'inoculation	J6		J8	
	Témoin	Supplémenté narasin	Témoin	Supplémenté narasin
Lésion poulet 1	A3 M0 T0	A4 M0 T0	A2 M0 T0	A2 M0 T0
Lésion poulet 2	A4 M0 T0	A3 M0 T0	A2 M0 T0	A2 M2 T0

Lésion : selon notation de **Johnson et Reid 1970** (A : *Eimeria acervulina* B : *Eimeria maxima* T : *Eimeria tenella*)

III.2. Réévaluation de la résistance de l'isolat 9 au monensin

Tableau 22 : évaluation de la résistance de l'isolat 9 au monensin

Jour d'inoculation	J6		J8	
	Témoin	Supplémenté monensin	Témoin	Supplémenté monensin
Lésion poulet 1	A2 M0 T0	A3 M0 T0	A3 M0 T0	A2 M0 T0
Lésion poulet 2	A3 M2 T0	A3 M0 T0	A3 M0 T0	A3 M0 T0

Lésion : selon notation de **Johnson et Reid 1970** (A : *Eimeria acervulina* B : *Eimeria maxima* T : *Eimeria tenella*)

Selon les deux évaluations avec monensin et narasin, on observe que l'isolat 9 est toujours résistant à ces deux ionophores avec une présence prédominante des lésions liées à *Eimeria acervulina*.

Cet isolat sera donc conservé pour l'induction des lésions d'entérite nécrotique dans le modèle expérimental.

IV. Quatrième essai: validation du modèle expérimental d'entérite nécrotique avec l'isolat sélectionné pour sa résistance aux ionophores

Tableau 23 : évaluation des paramètres lésionnels pour le quatrième essai

Doses d'oocystes inoculées		2500	5000	7500	10 000
Score lésionnel		Nombre de poulets			
Lésions d'<i>Eimeria acervulina</i>	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	1
	2	9	4	9	1
	3	3	8	3	10
	4	0	0	0	0
Moyenne des scores lésionnels		2,25	2,66	2,25	2,75
Lésions d'<i>Eimeria maxima</i>	0	10	10	10	8
	1	0	0	0	0
	2	2	2	2	4
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
Moyenne des scores lésionnels		0,33	0,33	0,33	0,88
Lésions d'entérite nécrotique	N	3	6	5	5
	A	0	0	0	1
	B	0	0	0	1
	C	9	6	7	5
	D	0	0	0	0
Moyenne des scores lésionnels		2,25	1,5	1,75	1,5

La lésion d'indice C d'entérite nécrotique (en foyers de nécrose) est observée chez une majorité de poulets avec la dose infectieuse de 2500 oocystes par oiseau.

Les lésions d'indice D d'entérite nécrotique (nécrose diffuse) n'ont pas été observées dans cet essai.

La dose de 5000 oocystes de coccidies a été retenue pour la suite de l'expérimentation.

V. Cinquième essai: étude de l'effet des anticoccidiens ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique

V.1. Evaluation des paramètres zootechniques

L'évaluation des paramètres zootechniques a été réalisée statistiquement par les tests non paramétriques (test de Kruskal-Wallis et test de Mann Whitney pour tous les essais, la différence est significative si $P \leq 0.05$).

La comparaison des poids et des gains de poids à J6 est réalisé entre les lots :

- **NINS, IcoxNS, INS et IclosNS** afin de vérifier la présence de l'infection coccidienne et la sensibilité des coccidies aux ionophores.
- **NINS, IcoxNS, INS et IclosNS** afin de vérifier le développement de l'entérite nécrotique.
- **NINS, IcoxNS, INS, ISN et ISM** pour l'évaluation de l'effet des anticoccidiens ionophores (monensin et narasin) sur le développement de l'entérite nécrotique.

V.1.1. Poids à J6

Les poids moyens des poulets à J6 sont présentés dans la figure 40.

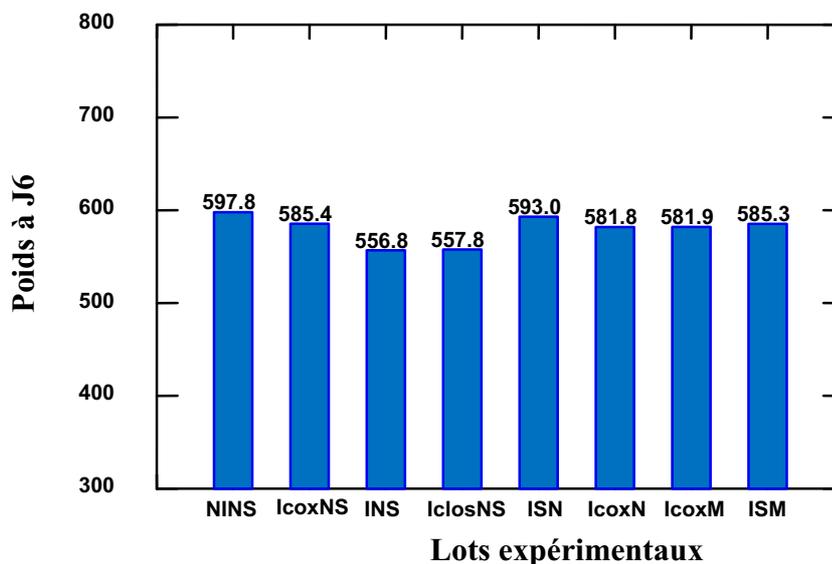


Figure 43 : poids des poulets à J6 (cinquième essai)

On observe que les plus faibles poids moyens ont été notés dans les lots **INS** (lot infecté coccidies-clostridies, non supplémenté) et **IclosNS** (lot infecté clostridies, non supplémenté).

On observe aussi un poids moyen de 593,0 g dans le lot **ISN** (lot infecté coccidies –clostridies et supplémenté narasin), et un poids moyen de 585,3g dans le lot **ISM** (lot infecté coccidies-clostridies et supplémenté monensin) par rapport au lot **INS** (lot infecté coccidies-clostridies et non supplémenté) avec un poids moyen de 556,8 g.

V.1.1.2. Poids à J6 des lots NINS, IcoxNS, IcoxN et IcoxM

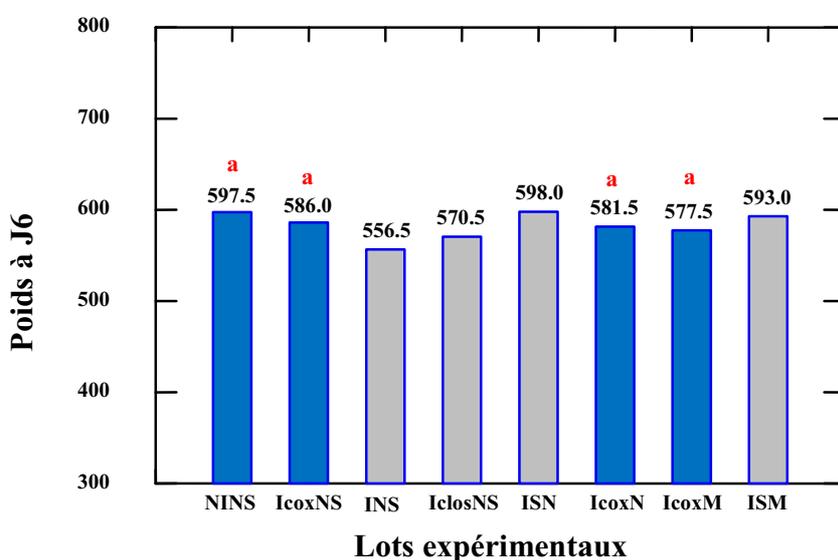


Figure 44 : représentation graphique des médianes des poids à J6 des lots NINS, IcoxNS, IcoxN et IcoxM

Selon la figure 42, on observe qu’il n’y a pas de différence significative entre les lots NINS, IcoxNS, IcoxN et IcoxM (P=0.791).

V.1.1.1. Poids à J6 entre les lots NINS, IcoxNS, INS et IclosNS

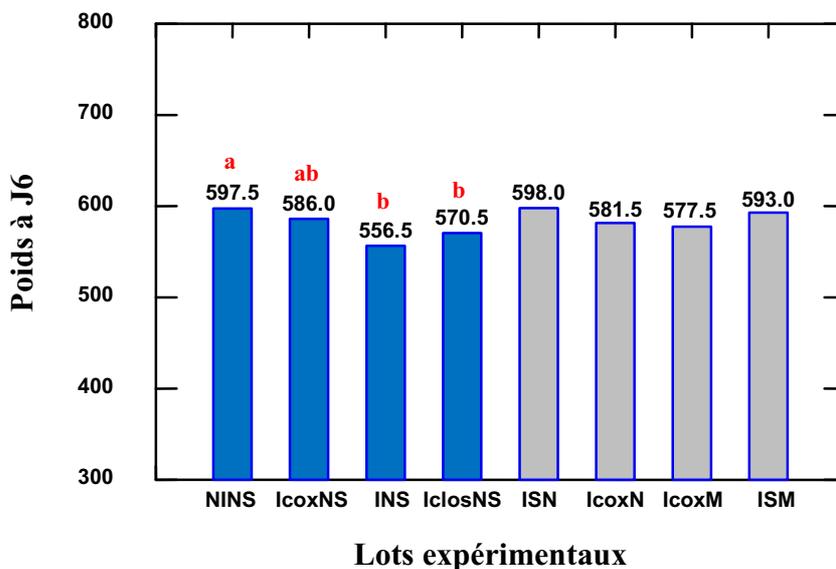


Figure 45 : représentation graphique des médianes des poids à J6 des lots NINS, IcoxNS, INS et IclosNS

La différence n'est pas significative entre les lots NINS et IcoxNS, et entre les lots INS et IclosNS. Cependant, la différence est significative entre les lots NINS et INS, et entre les lots INS et IcoxNS.

V.1.1.3. Poids à J6 entre les lots NINS, IcoxNS, INS, ISN et ISM

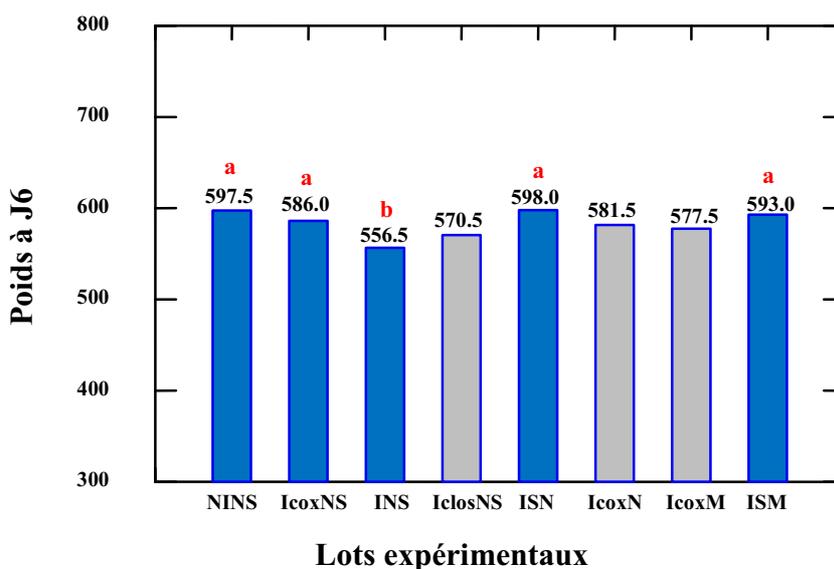


Figure 46 : représentation graphique des médianes de poids à J6 des lots NINS, IcoxNS, INS, ISN et ISM

La différence n'est pas significative entre les lots NINS et ISN, et entre les lots NINS et ISM. Cependant, la différence est significative entre les lots INS et ISN, et entre les lots INS et ISM.

V.1.2. Gain de poids de J0 à J6

Les gains de poids des poulets de J0 à J6 sont présentés dans la figure 44.

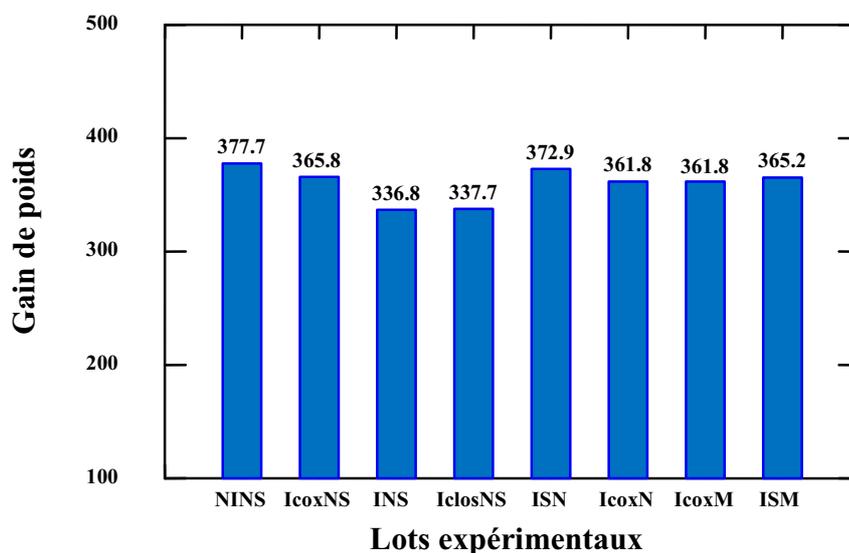


Figure 47 : évolution des gains de poids des lots de J0 à J6 (cinquième essai)

Les gains de poids les plus faibles sont observés dans les lots INS (lot infecté coccidies-clostridies et non supplémenté) et IclosNS (lot infecté clostridies non supplémenté).

V.1.2.1. Gains de poids de J0 à J6 des lots NINS, IcoxNS, IcoxN et IcoxM

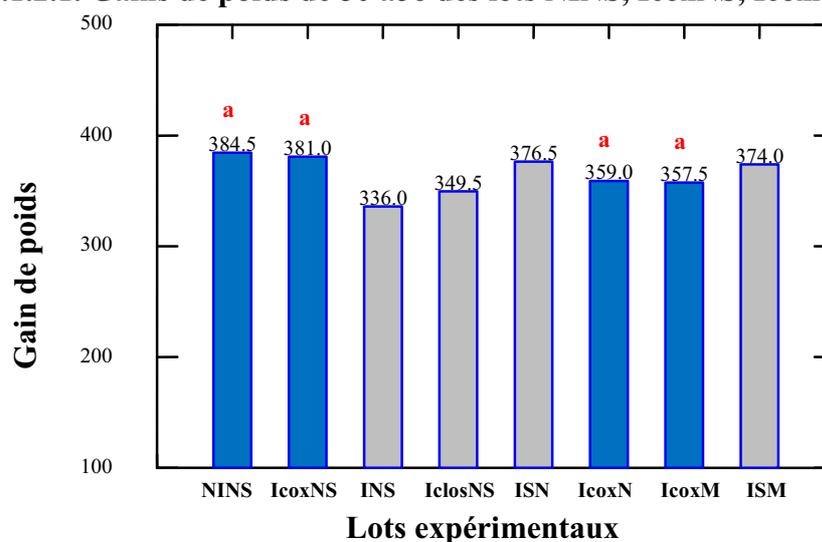


Figure 48 : représentation graphique des médianes du gain de poids de J6 des lots NINS, IcoxNS, IcoxN et IcoxM

Il n'y a pas de différence significative entre les lots NINS, IcoxNS, IcoxN et IcoxM.

V.1.2.2. Comparaison des gains de poids de J0 à J6 des lots NINS, IcoxNS, INS et IclosNS

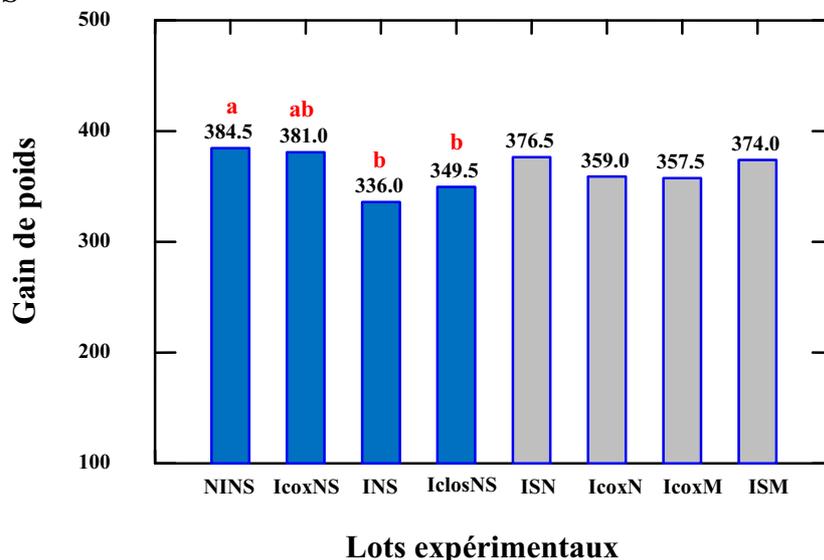


Figure 49 : représentation graphique des médianes du gain de poids de J6 des lots NINS, IcoxNS, INS et IclosNS

Il n'y a pas de différence significative entre les lots NINS et IcoxNS, ni entre les lots IcoxNS, INS et IclosNS. Cependant, il y a une différence significative entre les lots NINS, INS et IclosNS.

V.1.2.3. Comparaison des gains de poids des lots NINS, IcoxNS, INS, ISN et ISM

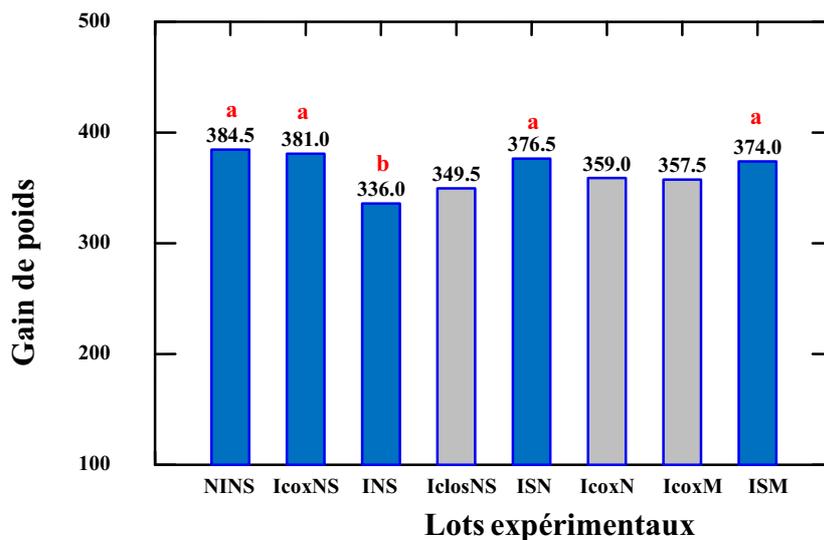


Figure 50 : représentation graphique des médianes des gains de poids de J0 à J6 des lots NINS, IcoxNS, INS, ISN et ISM

La différence n'est pas significative entre les lots NINS, IcoxNS, ISN et ISM. Cependant, il y a une différence significative entre le lot INS et les autres lots.

V.1.3. Indice de consommation

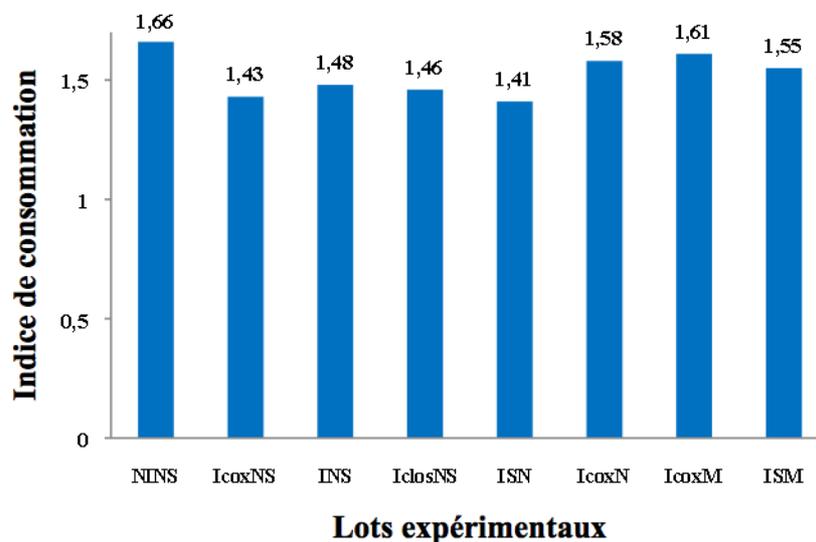


Figure 51 : évaluation de l'indice de consommation de J0 à J6 par lot (cinquième essai)

Les meilleurs indices de consommation ont été obtenus dans le lot ISN (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, supplémenté avec le narasin) et dans le lot IcoxNS (lot infecté coccidies et non supplémenté).

Les indices de consommation les plus élevés ont été notés dans les lots IcoxN (lot infecté coccidies et supplémenté avec le narasin), IcoxM (lot infecté coccidies et supplémenté avec le monensin) et ISM (lot infecté coccidies, *Clostridium perfringens* et supplémenté avec le monensin).

V.2. Evaluation des paramètres cliniques et lésionnels

Tableau 24 : paramètres cliniques et lésionnels suivis

Numéro de lot	NINS	IcoxNS	INS	IclosNS	ISN	IcoxN	IcoxM	ISM
Morbidité	0	0	0	0	0	0	0	0
Mortalité %	0	0	0	0	0	0	0	0
Matières fécales J+5	0	2	0	0	1	1	0	1
Lésion d'<i>Eimeria acervulina</i>	0	24	0	0	24	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	7	6	0	4	10	9
	3	0	16	18	0	20	14	15
	4	0	0	0	0	0	0	0
Lésions d'<i>Eimeria maxima</i>	0	24	20	23	24	22	18	24
	1	0	2	1	0	2	6	0
	2	0	1	0	0	0	1	0
	3	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0
Lésions de l'entérite nécrotique	N	24	23	14	22	22	24	24
	A	0	5	0	2	0	0	0
	B	0	0	1	0	0	0	0
	C	0	0	8	0	2	0	0
	D	0	0	1	0	0	0	0

V.2.1. Morbidité

Aucune morbidité n'a été observée durant l'essai.

V.2.2. Mortalité

Il n'y a pas eu de morts au cours de cette expérimentation.

V.2.3. Aspect des matières fécales

L'aspect des matières fécales était normal pour les lots NINS (lot témoin), IcoxM (lot infecté coccidies, supplémenté avec le monensin), IclosNS (lot infecté *Clostridium perfringens* et non supplémenté) et INS (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, non supplémenté), et un peu modifié (note entre 1 et 2) dans les lots ISN (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, supplémenté avec le narasin), IcoxN (lot infecté coccidies et supplémenté avec le narasin), et ISM (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, supplémenté avec le monensin).

V.2.4. Indices lésionnels

- Lésions dues aux coccidies

Des lésions d'indice 2 et 3 causées par *Eimeria acervulina* ont été observées dans les lots IcoxNS, INS, ISN, IcoxN, IcoxM, et ISM. Des lésions dues à *Eimeria maxima* ont été observées dans les lots IcoxNS, IcoxN et ISM.

-Lésions d'entérite nécrotique

La lésion d'entérite nécrotique d'indice D a été observée sur un seul poulet dans le lot INS (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, non supplémenté). Des lésions d'entérite nécrotique d'indice C ont été observées dans les lots INS (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, non supplémenté), ISN (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, supplémenté narasin) et ISM (lot infecté coccidies et *Clostridium perfringens*, supplémenté monensin).

Discussion

La méconnaissance concernant la pathogénie exacte de l'entérite nécrotique et l'implication de différents facteurs dans son développement rendent difficile la mise en place d'un modèle expérimental fiable capable de répondre à toutes les questions concernant l'effet des différentes molécules contre le développement de l'entérite nécrotique.

Sur le terrain, l'entérite nécrotique dans sa forme classique entraîne de fortes mortalités et un tableau lésionnel très caractéristique (lésions en foyers de nécrose ou nécrose diffuse au niveau de l'intestin grêle). Malgré un grand nombre de modèles expérimentaux d'entérite nécrotique rapportés dans la littérature scientifique (LANCKRIET, 2010 ; OLKOWSKI *et al.*, 2008 ; VAN IMMERSEEL *et al.*, 2008 ; COLLIER *et al.*, 2008 ; PARK *et al.*, 2008 ; WILLIAMS *et al.*, 2003 ; WILLIAMS *et al.*, 2005 ; PARK *et al.*, 2008 ; OLKOWSKI *et al.*, 2006 ; BARBARA *et al.*, 2008 ; COLLIER *et al.*, 2008 ; MIKKELSEN *et al.*, 2009), aucun d'eux ne reflète la déclaration de la maladie sur le terrain. Dans ces modèles, la mortalité peut varier entre 0 et 60% et le tableau lésionnel n'est pas toujours caractéristique d'une entérite nécrotique. Ces modèles parlent d'entérite nécrotique subclinique, déterminée par une baisse du gain de poids mais sans lésion d'entérite et de nécrose caractéristiques. L'entérite nécrotique subclinique, telle qu'elle est décrite dans la littérature scientifique, n'est pas très spécifique car elle se manifeste comme n'importe quel problème de malabsorption chez le poulet sans lien évident avec *Clostridium perfringens* et sans les lésions de nécrose caractérisant l'entérite nécrotique. Cette appellation d'entérite nécrotique subclinique pourrait être remise en question et remplacée par l'expression 'clostridiose intestinale subclinique'. Ainsi, de par sa définition, la clostridiose intestinale subclinique est une infection due à *Clostridium perfringens* sans manifestation de lésions caractéristiques d'entérite et de nécrose avec une baisse des performances.

Dans le modèle expérimental décrit dans ce présent travail, la mortalité est faible voire absente, et les lésions d'entérite nécrotique sont focales plutôt que diffuses. Parmi les causes possibles de la faible mortalité, l'âge d'inoculation des oiseaux est peut-être trop précoce : sur le terrain la maladie touche les oiseaux âgés entre 14 et 50 jours. Les lésions en foyers de nécrose ont peut-être un effet plus limité qu'une nécrose diffuse sur toute une partie de l'épithélium de l'intestin, ce qui peut réduire l'impact sur la mortalité. Cependant, malgré l'absence de mortalité, notre modèle permet tout de même de tester l'efficacité des ionophores sur le développement des lésions caractéristiques de la maladie.

Lors du premier essai, les gains de poids des lots I1 (infecté coccidies seules) et NI (lot témoin) étaient significativement différents. Ce résultat a permis de confirmer l'infection coccidienne (avec les lésions du tube digestif également) et il a montré le développement d'une coccidiose subclinique dans cet essai. Le gain de poids des lots infectés avec les coccidies et supplémentés en narasin et monensin (I2 et I3) a été significativement différent du gain de poids du lot I1 (infecté coccidies et non supplémenté). De plus, le gain de poids de ces deux lots (I2 et I3) n'était pas significativement différent du lot témoin non infecté et non supplémenté et l'intensité des lésions coccidiennes était moins forte dans les lots (I2 et I3) que dans le lot I1 (infecté coccidies seules et non supplémenté). Ce résultat nous permet de confirmer la sensibilité des coccidies utilisées dans cet essai au monensin et au narasin.

La différence était significative entre le gain de poids du lot I4 (infecté coccidies et *Clostridium perfringens*) et le gain de poids du lot témoin NI, elle était également significative entre les gains de poids des lots NI et I7 (infecté par *Clostridium perfringens* seul), ainsi que les gains de poids des lots I4 et I7. Ces résultats indiquent que le modèle d'induction expérimentale de l'entérite nécrotique a fonctionné et permettent aussi la confirmation que *Clostridium perfringens* seul n'est pas capable d'induire des lésions d'entérite nécrotique, ni de baisse de performance dans les conditions de notre modèle. Ces résultats sont similaires aux résultats des travaux de **COLLIER *et al.* (2008)** et **PARK *et al.* (2008)**.

On a observé aussi qu'il n'y avait pas de différence significative entre les gains des poids des lots I5, I6 (infectés et supplémentés) et le lot témoin NI. Par contre, il y a une différence significative entre ces lots (I5 et I6) et le lot I4 (infecté coccidies, *Clostridium perfringens* et non supplémenté). Dans les conditions expérimentales du premier essai, les ionophores ont permis d'inhiber l'entérite nécrotique. Cependant, comme les coccidies étaient sensibles aux ionophores, l'inhibition du développement des coccidies peut être la cause indirecte de l'efficacité vis-à-vis de l'entérite nécrotique. Il n'est donc pas possible de savoir si les ionophores ont eu un effet sur les clostridies ou non.

Ces premiers résultats nous ont conduit à rechercher un isolat de coccidies du terrain contenant les deux espèces coccidiennes *Eimeria acervulina* et *Eimeria maxima* résistantes aux anticoccidiens ionophores testés afin de pouvoir valider le modèle expérimental avec ces coccidies résistantes et tester l'effet direct des ionophores sur l'entérite nécrotique.

Lors de la sélection des isolats de coccidies résistants aux ionophores, plusieurs isolats résistants ont été obtenus, qui contenaient deux ou trois des espèces coccidiennes suivantes : *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* et *Eimeria tenella*. Le temps imparti étant limité, l'isolat numéro 9 a été retenu car il contenait *Eimeria acervulina* mais pas *Eimeria tenella*. Avec plus de temps, d'autres techniques étaient envisageables :

- retenir un isolat contenant les trois espèces coccidiennes et procéder à l'élimination d'*Eimeria tenella* par isolement des deux autres espèces et remultiplication par plusieurs passages sur des coquelets,
- isoler des oocystes uniques afin de cloner des souches de coccidies puis tester leur sensibilité aux anticoccidiens.

Lors de la transposition du modèle avec les coccidies résistantes, les lésions de nécrose observées étaient plus marquées avec la dose de 2500 oocystes qu'avec les autres doses de 5000, 7500 et 10000 oocystes. Cette observation vient confirmer les résultats des travaux de l'équipe de l'anses en 2009 qui démontraient que quelques coccidies incapables d'engendrer une coccidiose subclinique étaient capables d'induire des lésions caractéristiques d'entérite nécrotique.

Quand on augmente la dose de coccidies, il y a une moins bonne implantation de *Clostridium*, en tout cas moins de lésions. Cette observation permet d'émettre l'hypothèse suivante :

- Plus on augmente la dose de coccidies, plus il y a destruction des cellules de l'épithélium intestinal dans la zone de développement des coccidies. Si ces destructions sont trop importantes ou elles se passent trop rapidement, elles peuvent avoir un effet néfaste sur l'implantation et le développement des clostridies, qui ont moins de support pour s'accrocher.

Malgré cette constatation, la dose de 5000 oocystes par oiseau a été conservée pour la suite de l'expérimentation, afin de rester proche du protocole du premier essai et du modèle établi initialement par l'équipe de l'anses.

Dans le dernier essai, malgré la sévérité des lésions coccidiennes dans le lot IcoxNS (infecté coccidies et non supplémenté), il n'y a pas eu de différence significative entre le gain de poids du lot IcoxNS et le gain de poids du lot témoin NINS. Ce résultat nous indique que l'intensité des lésions coccidiennes n'est pas proportionnelle à l'impact sur la croissance. Contrairement au premier essai, il n'y a pas eu de coccidiose subclinique. Pourtant, la dose coccidienne inoculée dans le dernier essai était du même ordre de grandeur que la dose inoculée dans le premier essai. Ce résultat suggère que les coccidies de l'isolat terrain ont un potentiel pathogène inférieur aux coccidies de la souche du laboratoire, ou que la co-infection avec *E. acervulina* et *E. maxima* a plus d'impact sur la croissance qu'*E. acervulina* seule.

Concernant la résistance des coccidies aux ionophores dans le dernier essai, il n'y a aucune différence significative entre les gains de poids des lots NINS (lot témoin), IcoxN, IcoxM (lots infectés coccidies et supplémentés) et IcoxNS (lot infecté coccidies et non supplémenté). Néanmoins, numériquement les valeurs des gains de poids des lots IcoxN et IcoxM sont plus faibles que les valeurs dans le lot IcoxNS et le lot NINS. De plus au niveau lésionnel, le nombre de poulet dans les lots IcoxM et IcoxN présentant des lésions d'*Eimeria acervulina* avec un indice trois était similaire au nombre de poulet avec le même indice lésionnel dans le lot IcoxNS (infecté coccidies et non supplémenté). Ces résultats semblent confirmer la résistance des coccidies aux ionophores dans le cinquième essai.

La différence dans les gains de poids a été significative entre le lot INS (infecté coccidies, *C. perfringens* et non supplémenté) et le lot témoin NINS, ce résultat indique que le modèle d'induction expérimentale d'entérite nécrotique a bien fonctionné dans le dernier essai.

Lors de l'autopsie effectuée sur les sujets infectés coccidies et *C. perfringens*, une coloration violacée a été observée au niveau du duodénum atteint des lésions d'entérite nécrotique. Ces lésions n'étaient pas présentes dans le lot infecté avec les coccidies seules. Cette observation peut être prise en considération dans le diagnostic lésionnel de l'entérite nécrotique.

Le gain de poids du lot IclosNS (infecté *C. perfringens* et non supplémenté) était différent significativement du gain de poids du lot témoin NINS, et cela, malgré l'absence de lésions caractéristiques d'une entérite nécrotique. Ce résultat suggère un impact sur les performances des clostridies seules, sans l'aide des coccidies, alors que ce phénomène n'avait pas été observé lors du premier essai. Cela pourrait correspondre à ce que certains auteurs définissent avec le terme dysbactériose, c'est-à-dire la diminution des performances due à une infection bactérienne ou causée par d'autres microorganismes (DUCATELLE *et al.*, 2009). Et à ce qu'on définisse dans notre étude de clostridiose intestinale subclinique.

Une différence significative a été notée entre le gain de poids des lots infectés coccidies + *C. perfringens* et supplémentés (ISN, ISM) et le gain de poids du lot INS (infecté et non supplémenté). De plus, il n'y avait pas de différence significative entre les gains de poids des lots ISN, ISM et le lot témoin. Selon ces résultats, il semble y avoir un effet direct des ionophores sur l'entérite nécrotique dans les conditions de notre modèle expérimental et un effet bénéfique sur les performances de croissance. Nos résultats sont plus pertinents et viennent appuyer les hypothèses suggérées sur l'efficacité des ionophores contre l'entérite nécrotique. Dans ces études (**WALDENSTEDT *et al.*, 1999 ; ELWINGER *et al.*, 1992**), les chercheurs observent une diminution de la concentration de *C. perfringens* au niveau caecal dans les lots supplémentés en narasin par rapport aux lots témoin où la concentration bactérienne était plus élevée, or une concentration élevée de *C. perfringens* ne corrèle pas forcément avec le développement de l'entérite nécrotique (**GHOLAMIANDEHKORDI *et al.*, 2006**). D'autres chercheurs (**LANCKRIET *et al.*, 2010 ; BOLDER *et al.*, 1999 ; ENGBERG *et al.*, 2000 ; VISSIENNON *et al.*, 2000 ; BRENNAN *et al.*, 2001 ; JOHANSEN *et al.*, 2007**) ont constaté un effet bénéfique des ionophores sur les performances dans les conditions des modèles expérimentaux utilisant un aliment contaminé avec des spores de *C. perfringens*. Toutefois, ces résultats ne démontrent pas l'effet direct des ionophores sur l'entérite nécrotique puisque leurs modèles ne présentaient pas des lésions caractéristiques de la maladie, c'est à dire des lésions de nécrose de l'épithélium intestinal.

Nos résultats semblent confirmer *in vivo* les résultats obtenus *in vitro* sur la sensibilité des souches de *C. perfringens* aux ionophores (**MARTEL *et al.*, 2010**).

En dépit des éléments tendant à montrer une efficacité directe des ionophores contre l'entérite nécrotique dans les conditions de notre modèle expérimental, quelques lésions en foyer de nécrose caractéristiques d'une entérite nécrotique ont été observées dans les lots infectés coccidies - *C. perfringens* et supplémentés en monensin et narasin. Ces résultats nous conduisent à poser plusieurs questions. La prise alimentaire a-t-elle été mal faite ? Les souches de *C. perfringens* utilisées dans notre modèle sont-elles partiellement résistantes vis-à-vis de ces ionophores ? D'autres facteurs dont on ne soupçonne pas l'impact peuvent également intervenir.

Conclusion et perspectives

Le travail présenté ici a consisté à adapter un modèle de reproduction de l'entérite nécrotique induit par des coccidies. Dans cette adaptation, les coccidies sensibles du modèle original ont été remplacées par des coccidies résistantes à deux anticoccidiens ionophores, le narasin et le monensin. Cette étape était nécessaire pour évaluer un rôle direct de ces anticoccidiens sur le contrôle de *Clostridium perfringens*. Les deux anticoccidiens semblent avoir un effet inhibiteur sur l'entérite nécrotique, en réduisant fortement les lésions de nécrose du tube digestif et en préservant des performances zootechniques optimales.

Néanmoins, ces résultats doivent être confirmés en reproduisant cette étude. De plus, ils ne concernent que les isolats de clostridies utilisés : il est possible que des populations de *C. perfringens* sur le terrain soient moins sensibles, éventuellement du fait de résistance inhérente ou acquise. Il serait intéressant de vérifier l'effet des ionophores sur des isolats de *C. perfringens* différents mais aptes à induire une entérite nécrotique.

La démonstration de l'efficacité des deux anticoccidiens ionophores testés dans notre modèle ne garantit toutefois pas leur intérêt pour maîtriser l'entérite nécrotique sur le terrain, des cas pouvant se déclarer lors de l'utilisation de ces molécules. De même, les résultats ne peuvent être extrapolés aux autres anticoccidiens ionophores.

Des alternatives de lutte contre l'entérite nécrotique sont envisageables et peut-être plus pertinentes, comme l'utilisation de vaccins ou des prébiotiques. Notre modèle peut éventuellement servir à évaluer ces approches et à mieux connaître la maladie et sa pathogénie.

Le modèle peut également être amélioré en vue d'intensifier les manifestations cliniques (en agissant sur l'âge des animaux, les doses infectieuses, les souches clostridiennes, la fréquence des inoculations et les dates d'observation des lésions...). Il peut également être opportun de réévaluer l'effet des ionophores avec des lésions de nécrose diffuses plutôt que focales (en utilisant *E. maxima* résistante aux ionophores).

*Références
bibliographiques*

Références

1. **Al-Sheikly F., et Al-Saieg, 1980** : Role of coccidia in the occurrence of necrotic enteritis of chickens. *Avian Diseases*. 24, 324-333.
2. **Al-Sheikly F., et Truscott R.B., 1976** : The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of crude toxins of *Clostridium perfringens* into the duodenum. 21, 241-255. *Avian Dis*. 21, 241-255.
3. **Al-Sheikhly F., Truscott R.B., 1977a** : The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of broth cultures of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis*. 21, 230-240.
4. **Al-Sheikhly F., Truscott R.B., 1977b** : The interaction of *Clostridium perfringens* and its toxins in the production of necrotic enteritis of chickens. *Avian Dis* 21(2):256-63.
5. **Al-Sheikhly F., Truscott R.B., 1977c** : The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of crude toxins of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis*. 21, 241-255.
6. **Anado.A., Velez.C., Matinez-Larranaga M.R., Bringas.P., Diaz M.J., 1991** : Pharmacokinetics of norfloxacin in chickens after single intravenous and oral administration of the drug. *Acta Vet Scand.*, (87), 286-288.
7. **Apajalahti J.H.A., Särkilahti L.K., Mäki B.R.E., Heinkinen J.P, Nurminen P.H., et Holben William E., 1998** : “Effective Recovery of Bacterial DNA and Percent-Guanine-Plus-Cytosine-Based. Analysis of Community Structure in the Gastrointestinal Tract of Broiler Chickens” *Applied and Environmental Microbiology*. p. 4048-4088, Vol. 64, No.10.
8. **Apajalahti J., Kettunen A. et Graham. H., 2004** : “Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken”. *World’s Poultry Science Journal*, Vol. 60.
9. **Awwad M.H.H., Afify M.A., Zouel Fakar S.A., Shalaby B., Chevaux E., Delforge J., Dusset L., Khetoum M., 2005** : Effets de l’addition de *Pediococcus acidilactici* sur l’infection à *Escherichia coli* et sur la colonisation par *Clostridium perfringens* et *Salmonella typhimurium* chez le poulet. Sixième journées de la recherche avicole.
10. **Baba E., Fuller A.L., Gilbert J.M., Thayer S.G., McDougald L.R., 1992** : Effects of *Eimeria brunetti* infection and dietary zinc on experimental induction of necrotic enteritis in broiler chickens. *Avian Dis*. 36, 59-62.
11. **Barbara A.J., Trinh H.T., Glock R.D., et Songer J.G., 2008** : Necrotic enteritis-producing strains of *Clostridium perfringens* displace non-necrotic enteritis from the gut of chicks. *Vet. Microbiol*. 126 : 377-382.
12. **Barnes H.J., Wages D.P., Opengart K., Dohms J.E., 2003** : Diseases of poultry 11th edition. United States Iowa, Blackwell publishing professional: 775-791.

Références

13. **Bergen W.G. et Bates D.B., 1984** : Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *J Anim Sci* 58: 1465-1483.
14. **Bolder N.M., Wagenaar J.A., Putirulan F.F., Veldman K.T. et Sommer M., 1999** : The effect of flavophospholipol (Flavomycin) and salinomycin sodium (Sacox) on the excretion of *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteritidis*, and *Campylobacter jejuni* in broilers after experimental infection. *Poultry Science* 78, 1681-1689.
15. **Bories M.G., Louisot P., Date de consultation : décembre 2011** : Rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale/ <en ligne> Acces internet () <http://www.etudiants.ch/upload/documents/Admin/etufile>
16. **Bradley R.E., Radhakrishnan C.V., 1973** : Coccidiosis in chickens obligates relationship between *Eimeria tenella* and certain species of cecal microflora in the pathogenesis of the disease. *Avian diseases*. 17, 461-476.
17. **Branton S.L., Reece F.N., Hagler Jr., W.M., 1987** : Influence of a wheat diet on mortality of broiler chickens associated with necrotic enteritis. *Poult. Sci.* 66, 1326-1330.
18. **Branton S.L., Lott B.D., Deaton J.W., Maslin W.R., Austin F.W., Pote L.M., Keirs R.W., Latour M.A., Day E.J., 1997** : The effect of added complex carbohydrates or added dietary fiber on necrotic enteritis lesions in broiler chickens. *Poult. Sci.* 76, 24-28.
19. **Brennan J., Bagg R., Barnum D., Wilson J. & Dick P., 2001** : Efficacy of narasin in the prevention of necrotic enteritis in broiler chickens. *Avian Diseases*, 45, 210-214.
20. **Brugère-Picoux J., Silim A., 1992** : Clostridioses aviaires. In : Manuel de pathologie aviaire. Eds Brugere-Picoux J. et Silim A., Imprimerie du cercle des élèves de l'ENV d'Alfort, Paris, France, pp 257-260.
21. **Chalmers G., Bruce H.L., Toole D.L., Barnum D.A., et Boerlin P., 2007** : Necrotic enteritis potential in a model system using *Clostridium perfringens* isolated from field outbreaks. *Avian Dis.* 51:834-839.
22. **Chapman H.D., 1997** : Biochemical genetic and applied aspects of drug resistance in *Eimeria* parasites of the fowl. *Avian diseases*, 26: 221-244.
23. **Chartier C., Itard J., Morel P.C. et Troncy P.M., 2000** : Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Maison-Alfort : IEMVT - 717p.
24. **Collier C.T., Hofacre C.L., Payne A.M., Anderson D.B., Kaiser.P., Mackie.R.I., Gaskins H.R., 2008** : Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth. *Veterinary immunology and immunopathology* 122 : 104-115.

Références

25. **Cooper K.K., et Songer J.G., 2009** : Necrotic enteritis in chickens: A paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. *Anaerobe* 15:55-60.
26. **Dahiya J.P., Hoehler D., Wilkie D.C., Van Kessel A.G., et Drew M.D., 2005** : Dietary glycine concentration affects intestinal *Clostridium perfringens* and lactobacilli population in broiler chickens. *Poult. Sci.* 84:1875-1885.
27. **Daube G., 1992** : *Clostridium perfringens* et pathologies digestives. *Ann. Med. Vet.* 136 : 5-30.
28. **Decarpentrie S.L.J., 1997** : Intoxications des volailles par les antibiotiques et les anticoccidiens –étude bibliographique- thèse pour l’obtention du doctorat vétérinaire. Diplôme d’Etat. Ecole vétérinaire de Toulouse.
29. **Doucet R., 1999** : Entérite nécrotique des volailles de chair, des pistes pour contrer sa recrudescence. *Semaine Vétérinaire.* 948.
30. **Ducatelle R., Haesebrouck F., Pasmans F., et Van Immerseel F., 2009** : Les interactions entre l’alimentation et la santé intestinale en aviculture. 9eme journée d’étude des productions porcines et avicoles. Impact sur l’alimentation sur la santé animale : nouveaux développements.
31. **Ebrahimnezhad Y., et Pourreza J., 2005** : Effects of ionophorous anticoccidial drugs, salinomycin and lasalocid, on the performance of broiler chicks and the relationship of these drugs to supplementary methionine. *Poultry Sci.* 4 (11): 911-916.
32. **Engberg R.M., Hedemann M.S., Leser T.D., & Jensen B.B., 2000** : Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. *Poultry Science,* 79, 1311-1319.
33. **Engberg R.M., Hedemann M.S., Jensen, B.B., 2002** : The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 43, 569-579.
34. **Euzeby J., 1987** : Protozoologie médicale et comparée. Volume 2 : Myxozoa- Microspora- Asctospora- Apicomplexa Paris : Fondation Mérieux, 474p.
35. **Fabri T.H.F., 2000** : Necrotic enteritis, Clostridial enteritis or dysbacteriosis? *Proceedings of an Elanco Symposium, Cork, September.*
36. **Fukata T., et al., 1988** : Influence of *Clostridium perfringens* and its toxin in germ-free chickens. *Res. Vet. Sci.* 44, 68-70.
37. **Fuller R., 1999** : Probiotics for farm animals. In: Tannock, G.W. (Ed.), *Probiotics: A Critical Review.* Horizon Scientific Press, Wymondham, UK, pp. 15-22.
38. **Gholamiandekhordi A.R., et al., 2006** : Molecular and phenotypical characterization of *Clostridium perfringens* isolates from poultry flocks with different disease status. *Vet. Microbiol.* 113, 143-152.

Références

39. **Gholamiandehkordi A.R., et al., 2007** : Quantification of gut lesions in a subclinical necrotic enteritis model. *Avian Pathol.* 36, 375–382.
40. **Grave K., Kaldhusdal M.; Kruse H.; Harr L.M.F.; Flatlandsmo K., 30 January 2004** : “What has happened in Norway after the ban of avoparcin? Consumption of antimicrobials by poultry”. *Preventive Veterinary Medicine*, Volume 62, Number 1, pp. 59-72(14).
41. **Hamdy A.H., Thomas R.W., Kratzer D.D., et Davis R.B., 1983** : Lincomycin dose response for treatment of necrotic enteritis in broilers. *Poult. Sci.* 62:585-588.
42. **Harms R.H.; Ruiz N., et Buresh R., 1989** : Influence of salinomycine on the performance of broiler chicks. *Poultry Sci.* 66: 51-54.
43. **Hofacre C., 2000** : Necrotic enteritis affects modern broiler production. *Feedstuffs* 77 (10).
44. **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.
45. **Hofshagen M., Kaldhusdal M., 1992** : Barley inclusion and avoparcin supplementation in broiler diets. 1. Effect on small intestinal bacterial flora and performance. *Poult. Sci.* 71, 959-969.
46. **Johanson A., Greko C., Engström B.E., et Karlsson M., 2003** : ‘Antimicrobial susceptibility of Swedish, Norwegian and Danish isolates of *Clostridium perfringens* from poultry, and distribution of tetracycline resistance genes’.
47. **Johansen C.H., Bjerrum L., & Pedersen K., 2007** : Impact of salinomycin on the intestinal microflora of broiler chickens. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49, 30.
48. **Johansson K.R., Sarles W.B., 1948** : Bacterial population changes in the ceca of young chickens infected with *Eimeria tenella*. *J Bacteriol* ; 56 (5):635-47.
49. **Kaldhusdal M., Skjerve E., 1996** : Association between cereal contents in the diet and incidence of necrotic enteritis in broiler chickens in Norway. *Prev. Vet. Med.* 28, 1-16.
50. **Kaldhusdal M., Hofshagen M., Lovland A., Langstrand H., Redhead K., 1999** : Necrotic enteritis challenge models with broiler chickens raised on litter: evaluation of preconditions, *Clostridium perfringens* strains and outcome variables. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 24, 337-343.
51. **Kaldhusdal M., Schneitz C., Hofshagen M., Skjerve E., 2001** : Reduced incidence of *Clostridium perfringens* associated lesions and improved performance in broiler chickens, treated with normal intestinal bacteria from adult fowl. *Avian Dis.* 45, 149-156.

Références

52. **Kaldhusdal M., Lovland A., 2000** : The economic impact of *Clostridium perfringens* is greater than anticipated. *World Poult.* 16, 50-51.
53. **Kenny M., Oct 2003** : “Nutrition and litter quality”. *Courtesy of Poultry World*.
54. **Keshavarz K., et Mc Dougald L.R., 1982** : Anticoccidial drugs: growth and performance depressing effects in young chickens. *Poultry Sci.* 61 (4): 699-705.
55. **Keyburn A.L., Sheedy S.A., Ford M.E., Williamson M.M., Awad M.M., Rood J.I., Moore R.J., 2006** : Alpha-toxin of *Clostridium perfringens* is not an essential virulence factor in necrotic enteritis in chickens. *Infect. Immun.* 74, 6496-6500.
56. **Keyburn A.L., Boyce J.D., Vaz P., Bannam T.L., Ford M.E., Parker D., Rubbo A.D., Rood J.I., Moore R.J., 2008** : NetB, a new toxin that is associated with avian necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens*. *PLoS Pathog.* 4, e26.
57. **Keyburn A.L., Yan X.X., Bannam T.L., Van Immerseel F., Rood J.I., et Moore R.J., 2010** : Association between avian necrotic enteritis and *Clostridium perfringens* strains expressing NetB toxin. *Veterinary Research*, 41, 21.
58. **Kimura N., Mimura F., Nishida S., Kobayashi A., 1976** : Studies on the relationship between intestinal flora and cecal coccidiosis in the chicken. *Poultry science*, 55, 1375-1383.
59. **Knarreborg A., Simon M.A., Engberg R.M., Jensen B.B., Tannock G.W., 2002** : Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5918-5924.
60. **Kohler B., 2000** : *Clostridium perfringens* intoxication affects bird performance. *World poultry.* 16 (5) : 57-59.
61. **Kulkarni R.R., Parreira V.R., Sharif S., Prescott J.F., 2006** : *Clostridium perfringens* antigens recognized by broiler chickens immune to necrotic enteritis. *Clin. Vaccine Immunol.* 13, 1358-1362
62. **Lanckriet A., Timbermont L., Eeckhaut V., Haesebrouck F., Ducatelle R., et Van Immerseel F., 2010** : Variable protection after vaccination of broiler chickens against necrotic enteritis using supernatants of different *Clostridium perfringens* strains. *Vaccine* 28:5920-5923.
63. **Lee K.W., Lee S.H., Lillehoj H.S., Li G.X., Jang S.I., Babu U.S., Park M.S., Kim D.K., Lillehoj E.P., Neumann A.P., Rehberger T.G., et Siragusa G.R., 2010** : Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. *Poult. Sci.* 89:203-216.
64. **Lepp D., Roxas B., Parreira V.R., Marri P.R., Rosey E.L., Gong J., Songer J.G., Vedantam G., et Prescott J.F., 2010** : Identification of novel pathogenicity loci in

Références

- Clostridium perfringens* strains that cause avian necrotic enteritis. PLoS ONE 5:e10795.
65. **Long J.R., Truscott R.B., 1976** : Necrotic enteritis in broiler chickens. III.Reproduction of the disease. Can. J. Comp. Med. 40, 53-59.
66. **Longstom V.C., Galey H., Lovell R., Buck W.B., 1985** : Toxicity and therapeutics of monensin, a review. Vet. Med. (11). 75-84.
67. **Løvland A., Kaldhusdal M., Redhead K., Skjerve E., et Lillehaug A., 2004** : Maternal vaccination against subclinical necrotic enteritis in broilers. Avian Pathol. 33:83-92.
68. **Lu J., Hofacre C.L., Lee M.D., 2006** : Emerging technologies in microbial ecology aid in understanding the complex disease Necrotic Enteritis. J. Appl. Poultry. Res. 15 : 145-153.
69. **Lu Jiangrang., Idris Umelaalim., Harmon Barry., Hofacre Charles., Maurer John J., and Lee Margie D., Nov. 2003** : “diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken”. Applied and environmental microbiology, 69 (11) 6816-6824.
70. **Mann T.B., 1945** : Chick rearing. IV. The mechanism of infection to six-day disease with special reference to intestinal putrefaction. J Agr Sci; 35:108-15.
71. **Martel A., Devriese L.A., Cauwert K., Gussem De., Decostere A., et Haesebrouck F., 2004** ,: Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials, Avian Pathology, 33:1, 3-7.
72. **Martin T.G., et Smyth J.A., 2010** : The ability of disease and non disease producing strains of *Clostridium perfringens* from chickens to adhere to extracellular matrix molecules and Caco-2 cells. *Anaerobe*, 16, 533-539.
73. **McDevitt R.M., Brooker J.D., Acamovic T., et Sparks N.H.C., 2006** : Necrotic enteritis: A continuing challenge for the poultry industry. World’s Poult. Sci. J. 62:221-247.
74. **Mc Dougald L.R., 1991** : Orientations pour les années 1990 dans le contrôle de la coccidiose des poulets- une revue des anticoccidiens. Pfizer: Symposium international sur les coccidioses aviaires/Alger-club des pins.
75. **McGaughey CA., 1959** : ‘Six day disease’ of chicks. Ceylon Vet J. 7: 41-6.
76. **McReynolds J.L., Byrd J.A., Anderson R.C., Moore R.W., Edrington T.S., Genovese K.J., Poole T.L., Kubena L.F., Nisbet D.J., 2004** : Evaluation of immunosuppressants and dietary mechanisms in an experimental disease model for necrotic enteritis. Poult. Sci. 83, 1948-1952.

Références

77. **McReynolds, J. L., Byrd J.A., Genovese K.J., Poole T.L., Duke S.E., Farnell M.B., et., Nisbet D.J., 2007** : Dietary lactose and its effect on the disease condition of necrotic enteritis. *Poult. Sci.* 86:1656-1661.
78. **Miller R.W., Skinner J., Sulakvelidze A., Mathis G.F., et Hofacre C.L., 2010** : Bacteriophage therapy for control of necrotic enteritis of broiler chickens experimentally infected with *Clostridium perfringens*. *Avian Dis.* 54:33-40.
79. **Mikkelsen L.L., Vidanarachchi J.K., Olnood C.G., Bao Y.M., Selle P.H., et Choct M., 2009** : Effect of potassium diformate on growth performance and gut microbiota in broiler chickens challenged with necrotic enteritis. *Br. Poult. Sci.* 50:66-75.
80. **Novilla M.N., 1992** : The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. *Vet. Hum. Toxicol.*, 34(1). 66-70.
81. **Olkowski A.A., Wojnarowicz C., Chirino-Trejo M., Drew M., 2006** : Responses of broiler chickens orally challenged with *Clostridium perfringens* isolated from field cases of necrotic enteritis. *Res. Vet. Sci.* 81, 99-108.
82. **Olkowski A.A., et al., 2008** : Sub-clinical necrotic enteritis in broiler chickens: novel etiological consideration based on ultra-structural and molecular changes in the intestinal tissue. *Res. Vet. Sci.* 21, 21.
83. **Painter G.R., et Pressman B.C.; 1982** : Dynamic aspects of ionophore mediated membrane transport. *Top Curr Chem* 101: 83-110.
84. **Palliyeguru M.W.C.D., Rose S.P., et Mackenzie A.M., 2010** : Effect of dietary protein concentrates on the incidence of subclinical necrotic enteritis and growth performance of broiler chickens. *Poult. Sci.* 89:34-43.
85. **Parish, W.E., 1961** : Necrotic enteritis in the fowl (*Gallus gallus domesticus*). 1. Histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii*. *J. Comp. Pathol.* 71, 377-393.
86. **Park S.S., Lillehoj H.S., Allen P.C., Park D.W., FitzCoy S., Bautista D.A., et Lillehoj E.P., 2008** : Immunopathology and cytokine responses in broiler chickens coinfecting with *Eimeria maxima* and *Clostridium perfringens* with the use of an animal model of necrotic enteritis. *Avian Dis.* 52:14-22.
87. **Parson C.M., et Barker D.H., 1982** : Effect of dietary protein level and monensin on performance of chicks. *Poultry Sci.*, 61 (10): 2083-8.
88. **Pedersen K., Bjerrum L., Heuer O.E., Wong D.M.A.L.F., et Nauerby B., 2008** : Reproducible infection model for *Clostridium perfringens* in broiler chickens. *Avian Dis.* 52:34-39.
89. **Pressman B.C., 1976** : Biological application of ionophores. *Ann. Rev. Biochem.* 45:501

Références

90. **Prévot A. R., 1938.** : Études de systématique bactérienne. IV. Critique de la conception actuelle du genre *Clostridium*. Ann Inst Pasteur (Paris) 61, 72-91 (in French).
91. **Pribram E., 1929** ;: A contribution to the classification of microorganisms. Jour. Bacteriol., 18, 361.
92. **Riddell C., Kong X.M., 1992** : The influence of diet on necrotic enteritis in broiler chickens. Avian Dis. 36, 499-503.
93. **Rivière B.A., 2008** : *Clostridium perfringens*, un nouveau défi sanitaire pour la production avicole. Bulletin des GTV (43) : 49-55.
94. **RNOEA.**, : réseau national d'observations épidémiologiques en aviculture, documents professionnels de l'Anses Ploufragan.
95. **Ruff M.D., 1982** : Veterinary application section Polyether antibiotic. Vol. 2, Ed. Marcel DEKKER, N. Y. 303-332.
96. **RUSSELL J.B., 1987** : A proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminal bacterial growth: effects on ion flux and protonmotive force. J. Anim. Sci. 64: 1519-1525.
97. **Shane S.M., 2004** : Update on the poultry disease situation in the USA. Poult. Int. 43, 10-15.
98. **Shering Plough Animal Health., 2006** : *Clostridium perfringens* type A, Field efficacy without sub-therapeutic antibiotics. Part I: Coccidiosis vaccine trials 2006. Technical services bulletin. p436.
99. **Shivaramaiah S., Wolfenden R.E., Barta J.R., Morgan M.J., Wolfenden A.D., Hargis B.M., Téllez G., 2011 jun** : Avian Dis 55(2):319-23.
100. **Stringfellow K., McReynolds J., Lee J., Byrd J., Nisbet D., et Farnell M., 2009** : Effect of bismuth citrate, lactose, and organic acid on necrotic enteritis in broilers. Poult. Sci. 88:2280-2284.
101. **Si W., Gong J., Han Y., Yu H., Brennan J., Zhou H., et Chen S., 2007** : Quantification of cell proliferation and alpha-toxin gene expression of *Clostridium perfringens* in the development of necrotic enteritis in broiler chickens. Applied and Environmental Microbiology, 73, 7110-7113.
102. **Thompson, D.R., Parreira V.R., Kulkarni R.R., et Prescott J.F., 2006** : Live attenuated vaccine-based control of necrotic enteritis of broiler chickens. Vet. Microbiol. 113:25-34.

Références

103. **Tice George., 2002 :** " Clostridial Proliferation and Intestinal Instability" *Elanco Global Enteritis Symposium – Cambridge, UK.*
104. **Timbermont L., Lanckriet A., Gholamiandehkordi A.R., Pasmans F., Martel A., Haesebrouck F., Ducatelle R., Van Immerseel F., 2008 :** Origin of *Clostridium perfringens* isolates determines the ability to induce necrotic enteritis in broilers. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect Dis.* 32, 503-512.
105. **Timbermont L., Lanckriet A., Gholamiandehkordi A.R., Pasmans F., Martel A., Haesebrouck F., Ducatelle R., et Van Immerseel F., 2009 :** Origin of *Clostridium perfringens* isolates determines the ability to induce necrotic enteritis in broilers. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 32:503-512.
106. **Timbermont. L, Haesebrouck F., Ducatelle R. et Van Immerseel F., 2011 :** Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. *Avian Pathology.* 40 (4), 341-347.
107. **Todd G.C., Novilla M.N., Howard L.C., 1984 :** Comparative toxicology of monensin-sodium in laboratory animals. *J. Anim. Sci.,* (58). 1512-1517.
108. **Trump B.F., Berezsky I.K., Laiho., K.U., Osornio., A.R., Wergner W.J., 1980 :** The role of calcium in cell injury. A review. *Scan. Electron. Microsc.,* 2. 437-462.
109. **Tsiouris V., Georgopoulou I., Batzios C., Papaioannou N., Fortomaris P., et Ducatelle R., 2009a :** Role of cold stress as a predisposing factor in necrotic enteritis in broiler chickens. Pages 149–153 in Proc. 2nd Mediterranean Summit of World's Poult. Sci. Assoc., Antalya, Turkey. World's Poult. Sci. Assoc., Beekbergen, the Netherlands.
110. **Tsiouris V., Georgopoulou I., Fortomaris P., Papaioannou N., Batzios C., et Petridou E., 2009b :** Effects of heat stress on the pathogenesis of necrotic enteritis in broiler chickens. Pages 133– 137 in Proc. 2nd Mediterranean Summit of World's Poult. Sci. Assoc., Antalya, Turkey. World's Poult. Sci. Assoc., Beekbergen, the Netherlands.
111. **Van der Sluis W., 2000 :** Clostridial enteritis – a syndrome emerging worldwide. *World poultry.* 16 (5) : 56-57.
112. **Van Immerseel F., De Buck J., Pasmans F., Huyghbaert G., Haesebrouck F., Ducatelle R., 2004 :** *Clostridium perfringens* in poultry : an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology.* 33 : 6, 537-549.
113. **Van Immerseel F., Rood J.I., Moore R.J et Titball R.W., 2009 :** Rethinking our understanding of the pathogenesis of necrotic enteritis in broilers. *Trends in Microbiology,* 17, 32-36.
114. **Veron M., Le Minor L., 1989 :** *Clostridium*, Bactériologie médicale 2nd édition, p1107.

Références

115. **Vissiennon T., Kröger H., Köhler T. & Kliche R. 2000** : Effect of avilamycin, tylosin and ionophore anticoccidials on *Clostridium perfringens* enterotoxaemia in chickens. *Berliner und Münchener Tierärztlicher Wochenschrift* , 113, 9-13.
116. **Wade B., Keyburn A.L., Ford M.E., Rood J.I., et Moore R.J. 2010** : *Clostridium perfringens* genes with implications for both virulence and colonization during necrotic enteritis. *In proceedings of the Prato Conference on the Pathogenesis of Bacterial Disease of Animals*. Prato, Italy, 72.
117. **Waldenstedt L., Lunden A., Elwinger K., Thebo P., & Ugglå A. 1999** : Comparison between a live, attenuated anticoccidial vaccine and an anticoccidial ionophore, on performance of broilers raised with or without a growth promoter, in an initially *Eimeria*-free environment. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 40, 11-21.
118. **Walker R.L., Hirsh D.C., Maclachlan N.J. 2004** : *Clostridium*, Veterinary microbiology 2nd edition, 535p.
119. **Walker W.A., Duffy L.C., 1998** : Diet and bacterial colonization: role of probiotics and prebiotics. *J. Nutr. Biochem.* 9, 668-675.
120. **Westley JW., 1983** : Polyether antibiotics : naturally occurring acid ionophores. In: *Chemical transformations of polyether antibiotics*, edited by Westley JW. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 51-87.
121. **Wheelhouse R.K.; Groves B.I.; Hammant C.A.; Van Dijk C., et Radu J., 1985** : Effects of coccidiostats and dietary protein on performance and water consumption in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 64 (5): 979-85.
122. **Wierup M., 2005** : « l'expérience suédoise quant à la restriction de l'utilisation d'antimicrobiens ». *Worlds of poultry science journal*, volume 61, Number 1, pp 95-104 (10).
123. **Wijewanta E.A., Senevirtna P., 1971** : Bacteriological studies of fatal *Clostridium perfringens* type-A infection in chickens. *Avian Dis* ; 15(4):654-61.
124. **Williams R.B., Marshall R.N., La Ragione R.M., Catchpole J., 2003** : A new method for the experimental production of necrotic enteritis and its use for studies on the relationships between necrotic enteritis, coccidiosis and anticoccidial vaccination of chickens. *Parasitol. Res.* 90, 19-26.
125. **Williams R.B., 2005** : Intercurrence coccidiosis and necrotic enteritis of chickens : rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity. *Avian pathology.* 34 : 159-180.
126. **Wrogemann K., Pana S.D.J., 1976** : Mitochondrial calcium overload: a general mechanism for cell necrosis in muscle diseases. *Lancet*, 1. 672-674.
127. **Yates J.C., Beamish R.E., Dhalla N.S 1981** : Ventricular dysfunction and necrosis produced by adenochole metabolite od epinephrine: relation to pathogenesis of catecholamine cardiomyopathy. *Am. Heart J.*, (102). 210-221.

Sites internet consultés:

www.ncbi.nlm.nih.gov

www.denniskunkel.com

www.oregonstate.edu

Annexes

1. Pré-culture	<ol style="list-style-type: none"> 1. Les souches de <i>Clostridium perfringens</i> sont conservées dans du BGP (bouillon glycérol peptoné) en cryotubes à -80°C au laboratoire HQPAP (deux cryotubes par souche). 2. Les deux souches sontensemencées individuellement à partir des cryotubes dans 10 ml de bouillon thioglycolate. Incubation des tubes à 37°C en anaérobiose pendant 24 heures. 3. L'anaérobiose est réalisée dans des jarres avec l'utilisation du papier anaérobiose (AnaeroGen™). 	
2. Culture	<ol style="list-style-type: none"> 4. Les tubes thioglycolate incubés sont récupérés et ensemencés individuellement dans deux flacons contenant 150 ml de thioglycolate pour chaque souche (10 ml du bouillon thioglycolate après incubation dans 150 ml de bouillon thioglycolate). 5. Incubation des deux flacons à 37°C en anaérobiose pendant 24 heures. 	

Description des souches de Clostridium perfringens

Annexe n 2

Paris, le 30/07/2010

Institut Pasteur
25, rue du Dr. ROUX
75724 Paris Cedex 15
C.N.A.R. des bactéries Anaérobies et du Botulisme
M.R. Popoff - Téléphone: 01 45 88 83 07
C. Bouvet - Téléphone: 01 40 81 35 09
C. Mazuet - Téléphone: 01 45 88 84 50
Laboratoire - Téléphone: 01 45 88 83 10
Fax: 01 40 81 31 23
Courriel: cmaruete@pasteur.fr
http://www.pasteur.fr/anaerobifor

LAURENCE GORDON
ANISES
LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN PLOUZANE
BP 53
22440 PLOUFRAGAN

CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES BACTERIES ANAEROBIES ET DU BOTULISME
FEUILLE DE RESULTAT

Informations sur l'échantillon:
ISOLATS DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

EXAMENS DEMANDES
Identification

Fabrication: EXPERTISE
N° de référence: 201006067
Votre référence: N° 0

RESULTAT

C. Mazuet

P. Bouvet

M. R. Popoff

*CPA = Ref: P3D2
ISOLÉ EN EN SEM de PHOS*

*Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme
pour les Clostridium perfringens
M. R. Popoff*

Page 1 de 3

Le Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme est rattaché au Institut Pasteur. Les résultats émis par les laboratoires qui relèvent de son autorité sont garantis. Toute demande de renseignements ou de renseignements complémentaires peut être adressée au Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, 25, rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. Tél: 01 45 88 83 10. Fax: 01 40 81 31 23. Courriel: cmaruete@pasteur.fr. http://www.pasteur.fr/anaerobifor

Paris, le 30/07/2010

Institut Pasteur
25, rue du Dr. ROUX
75724 Paris Cedex 15
C.N.A.R. des bactéries Anaérobies et du Botulisme
M.R. Popoff - Téléphone: 01 45 88 83 07
C. Bouvet - Téléphone: 01 40 81 35 09
C. Mazuet - Téléphone: 01 45 88 84 50
Laboratoire - Téléphone: 01 45 88 83 10
Fax: 01 40 81 31 23
Courriel: cmaruete@pasteur.fr
http://www.pasteur.fr/anaerobifor

LAURENCE GORDON
ANISES
LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN PLOUZANE
BP 53
22440 PLOUFRAGAN

CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES BACTERIES ANAEROBIES ET DU BOTULISME
FEUILLE DE RESULTAT

Antibiogramme standard (CA-SFM):
Amoxicilline-Ac. clavulanique
Métronidazole 15g
Clindamycine 300g
Amoxicilline
Imipenem
Vancomycine 30 µg
Colombie de Gram

Principaux caractères d'identification:
Forme de la bactérie
Mobilité
Présence de spores
Type respiratoire
Production de gaz
Vancosylase 5µg
Kanamycine 1000µg
Métronidazole 4µg
Méthylène tétracycline 10µg
Coulter 10µg

Autres caractères différentiels:
Lectinase sur boite à four

Pathogénicité et toxicité
Production de toxine stiles pour la souris

Recherche de adhésifs par PCR
Gènes adhesifs...
Toxine Alpha de C. perfringens

Laurence Gordon

Page 2 de 3

Le Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme est rattaché au Institut Pasteur. Les résultats émis par les laboratoires qui relèvent de son autorité sont garantis. Toute demande de renseignements ou de renseignements complémentaires peut être adressée au Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, 25, rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. Tél: 01 45 88 83 10. Fax: 01 40 81 31 23. Courriel: cmaruete@pasteur.fr. http://www.pasteur.fr/anaerobifor

Paris, le 30/07/2010

Institut Pasteur
25, rue du Dr. ROUX
75724 Paris Cedex 15
C.N.A.R. des bactéries Anaérobies et du Botulisme
M.R. Popoff - Téléphone: 01 45 88 83 07
C. Bouvet - Téléphone: 01 40 81 35 09
C. Mazuet - Téléphone: 01 45 88 84 50
Laboratoire - Téléphone: 01 45 88 83 10
Fax: 01 40 81 31 23
Courriel: cmaruete@pasteur.fr
http://www.pasteur.fr/anaerobifor

LAURENCE GORDON
ANISES
LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN PLOUZANE
BP 53
22440 PLOUFRAGAN

CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES BACTERIES ANAEROBIES ET DU BOTULISME
FEUILLE DE RESULTAT

Antibiogramme standard (CA-SFM):
Amoxicilline-Ac. clavulanique
Métronidazole 15g
Clindamycine 300g
Amoxicilline
Imipenem
Vancomycine 30 µg
Colombie de Gram

Principaux caractères d'identification:
Forme de la bactérie
Mobilité
Présence de spores
Type respiratoire
Production de gaz
Vancosylase 5µg
Kanamycine 1000µg
Métronidazole 4µg
Méthylène tétracycline 10µg
Coulter 10µg

Autres caractères différentiels:
Lectinase sur boite à four

Pathogénicité et toxicité
Production de toxine stiles pour la souris

Recherche de adhésifs par PCR
Gènes adhesifs...
Toxine Alpha de C. perfringens

Laurence Gordon

Page 3 de 3

Le Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme est rattaché au Institut Pasteur. Les résultats émis par les laboratoires qui relèvent de son autorité sont garantis. Toute demande de renseignements ou de renseignements complémentaires peut être adressée au Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, 25, rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. Tél: 01 45 88 83 10. Fax: 01 40 81 31 23. Courriel: cmaruete@pasteur.fr. http://www.pasteur.fr/anaerobifor

Paris, le 30/07/2010

Institut Pasteur
25, rue du Dr. ROUX
75724 Paris Cedex 15
C.N.A.R. des bactéries Anaérobies et du Botulisme
M.R. Popoff - Téléphone: 01 45 88 83 07
C. Bouvet - Téléphone: 01 40 81 35 09
C. Mazuet - Téléphone: 01 45 88 84 50
Laboratoire - Téléphone: 01 45 88 83 10
Fax: 01 40 81 31 23
Courriel: cmaruete@pasteur.fr
http://www.pasteur.fr/anaerobifor

LAURENCE GORDON
ANISES
LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN PLOUZANE
BP 53
22440 PLOUFRAGAN

CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES BACTERIES ANAEROBIES ET DU BOTULISME
FEUILLE DE RESULTAT

Informations sur l'échantillon:
ISOLATS DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

EXAMENS DEMANDES
Identification

Fabrication: EXPERTISE
N° de référence: 201006068
Votre référence: N° A

RESULTAT

C. Mazuet

P. Bouvet

M. R. Popoff

*CPA = Ref: 103000000
ISOLÉ EN SEM sur point de M.J. d'âge
sèche fournie par LAZZ*

*Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme
pour les Clostridium perfringens
M. R. Popoff*

Page 1 de 3

Le Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme est rattaché au Institut Pasteur. Les résultats émis par les laboratoires qui relèvent de son autorité sont garantis. Toute demande de renseignements ou de renseignements complémentaires peut être adressée au Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, 25, rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. Tél: 01 45 88 83 10. Fax: 01 40 81 31 23. Courriel: cmaruete@pasteur.fr. http://www.pasteur.fr/anaerobifor

Paris, le 30/07/2010

Institut Pasteur
25, rue du Dr. ROUX
75724 Paris Cedex 15
C.N.A.R. des bactéries Anaérobies et du Botulisme
M.R. Popoff - Téléphone: 01 45 88 83 07
C. Bouvet - Téléphone: 01 40 81 35 09
C. Mazuet - Téléphone: 01 45 88 84 50
Laboratoire - Téléphone: 01 45 88 83 10
Fax: 01 40 81 31 23
Courriel: cmaruete@pasteur.fr
http://www.pasteur.fr/anaerobifor

LAURENCE GORDON
ANISES
LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN PLOUZANE
BP 53
22440 PLOUFRAGAN

CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES BACTERIES ANAEROBIES ET DU BOTULISME
FEUILLE DE RESULTAT

Antibiogramme standard (CA-SFM):
Amoxicilline-Ac. clavulanique
Métronidazole 15g
Clindamycine 300g
Amoxicilline
Imipenem
Vancomycine 30 µg
Colombie de Gram

Principaux caractères d'identification:
Forme de la bactérie
Mobilité
Présence de spores
Type respiratoire
Production de gaz
Vancosylase 5µg
Kanamycine 1000µg
Métronidazole 4µg
Méthylène tétracycline 10µg
Coulter 10µg

Autres caractères différentiels:
Lectinase sur boite à four

Pathogénicité et toxicité
Production de toxine stiles pour la souris

Recherche de adhésifs par PCR
Gènes adhesifs...
Toxine Alpha de C. perfringens

Laurence Gordon

Page 2 de 3

Le Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme est rattaché au Institut Pasteur. Les résultats émis par les laboratoires qui relèvent de son autorité sont garantis. Toute demande de renseignements ou de renseignements complémentaires peut être adressée au Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, 25, rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. Tél: 01 45 88 83 10. Fax: 01 40 81 31 23. Courriel: cmaruete@pasteur.fr. http://www.pasteur.fr/anaerobifor

Paris, le 30/07/2010

Institut Pasteur
25, rue du Dr. ROUX
75724 Paris Cedex 15
C.N.A.R. des bactéries Anaérobies et du Botulisme
M.R. Popoff - Téléphone: 01 45 88 83 07
C. Bouvet - Téléphone: 01 40 81 35 09
C. Mazuet - Téléphone: 01 45 88 84 50
Laboratoire - Téléphone: 01 45 88 83 10
Fax: 01 40 81 31 23
Courriel: cmaruete@pasteur.fr
http://www.pasteur.fr/anaerobifor

LAURENCE GORDON
ANISES
LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN PLOUZANE
BP 53
22440 PLOUFRAGAN

CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES BACTERIES ANAEROBIES ET DU BOTULISME
FEUILLE DE RESULTAT

Antibiogramme standard (CA-SFM):
Amoxicilline-Ac. clavulanique
Métronidazole 15g
Clindamycine 300g
Amoxicilline
Imipenem
Vancomycine 30 µg
Colombie de Gram

Principaux caractères d'identification:
Forme de la bactérie
Mobilité
Présence de spores
Type respiratoire
Production de gaz
Vancosylase 5µg
Kanamycine 1000µg
Métronidazole 4µg
Méthylène tétracycline 10µg
Coulter 10µg

Autres caractères différentiels:
Lectinase sur boite à four

Pathogénicité et toxicité
Production de toxine stiles pour la souris

Recherche de adhésifs par PCR
Gènes adhesifs...
Toxine Alpha de C. perfringens

Laurence Gordon

Page 3 de 3

Le Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme est rattaché au Institut Pasteur. Les résultats émis par les laboratoires qui relèvent de son autorité sont garantis. Toute demande de renseignements ou de renseignements complémentaires peut être adressée au Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, 25, rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. Tél: 01 45 88 83 10. Fax: 01 40 81 31 23. Courriel: cmaruete@pasteur.fr. http://www.pasteur.fr/anaerobifor

1. Technique de préparation

Exemple :

Nombre d'oiseaux à inoculer = 25 (on doit toujours supposer un nombre d'oiseaux plus élevé en cas de perte lors de l'inoculation. Dans cet exemple, on considère que le nombre d'oiseaux est de 30).

Quantité d'oocystes de coccidies à inoculer par oiseau = 100 000 oocystes/oiseau

Volume à inoculer par oiseau = 1 ml

Volume à inoculer pour 30 oiseaux = nombre des oiseaux x (volume à inoculer/oiseau)

Donc, le volume à inoculer aux 30 oiseaux = 30 ml

La quantité totale à inoculer pour les 30 oiseaux = $3 \cdot 10^6$ oocystes

Dans la solution mère, il y a une concentration de 500 000 oocystes/ml = concentration mère (Cm).

Pour les 30 oiseaux, le volume à prélever de la solution mère = nombre d'oiseaux x (quantité à inoculer/oiseau)/Cm (soit $30 \times 100.000 / 500.000 = 6$ ml dans le présent exemple)

Volume à inoculer = volume à prélever de la solution mère + volume d'eau physiologique à rajouter

Dans cette exemple, le volume à inoculer = 6 ml (volume à prélever de la solution mère) + 24 ml d'eau physiologique.

2. Technique d'inoculation :

- Deux personnes sont nécessaires pour réaliser cette opération.
- Tenir le poulet de façon à ce que le cou soit tendu afin de pouvoir passer une pipette du bec jusqu'au jabot.
- Une main maintient les pattes, l'autre entrouvre le bec et étire le cou.
- Maintenir le poulet de façon assez ferme pour éviter qu'il ne se débatte et ne pas le blesser lors de l'inoculation.
- Prendre la suspension d'oocystes préparée, l'agiter doucement et prélever le volume à inoculer avec un pipetteur automatique.
- Insérer la pipette dans le bec et descendre dans l'œsophage jusqu'au niveau du jabot sans forcer.
- Si ça coince, retirer la pipette et recommencer
- Laisser couler le contenu de la pipette.

Exemple : Souche mixte et/ou terrain

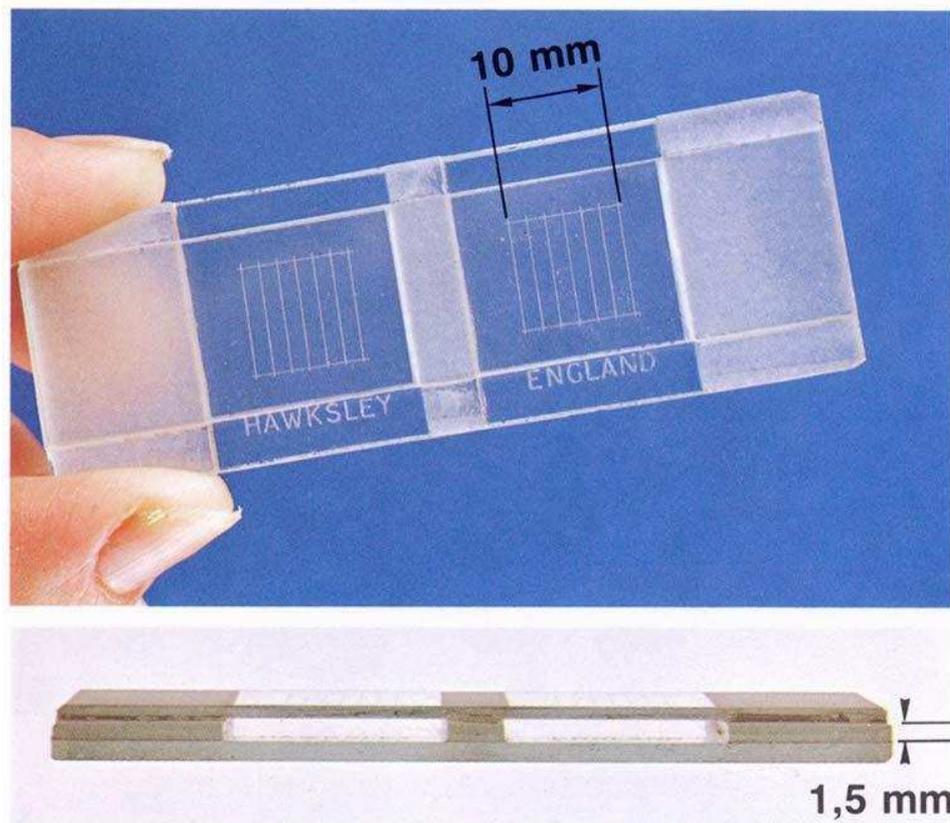
Même technique que *E. acervulina*

- 1 - **Mettre les plateaux**, à partir du jour souhaité, sous les animaux afin de récupérer les fientes.
Récupérer les matières fécales au bout d'une journée (ou 2, 3...) après le début de l'infection.
- 2 - Homogénéiser les fèces avec de l'eau du robinet puis **filtrer** la pâte obtenue sur tamis de 0,146 mm d'ouverture en les arrosant de temps à autre avec un jet d'eau et en mélangeant les matières avec un pinceau ou une spatule.
- 3 - Sacrifier les animaux pour :
 - éventuellement récupérer les caeca (ou toute autre partie de l'intestin) et en faire une culture pour enrichir l'inoculum...
 - noter les lésions correspondantes aux différentes doses d'inoculation : pouvoir pathogène de la souche.
- 4 - Laisser le filtrat obtenu **sédimer** (2 heures) puis jeter le surnageant.
- 5 - Le sédiment est **centrifugé** (7 mn à 3000 t/mn).
- 6 - Le culot obtenu est **homogénéisé** dans l'eau salée à saturation (1 volume de fèces pour 2 volumes d'eau salée) à l'aide d'un batteur électrique.
- 7 - On obtient une suspension homogène que l'on répartit dans les pots à **centrifuger** (7 mn à 2800 t/mn). Les oocystes montent en surface. **Ne pas utiliser le frein de la centrifugeuse.**
- 8 - **Recueillir** à l'aide d'une petite cuillère la **pellicule** déposée sur l'eau salée et diluer cette pellicule dans de l'eau physiologique à 6% (1 volume de pellicule pour 10 volumes d'eau) pour laver les oocystes.
- 9 - **Centrifuger** (7 mn à 3000 t/mn) une deuxième fois dans l'eau physiologique : on obtient un culot d'oocystes.
- 10- Jeter le surnageant.
- 11- **Homogénéiser le culot** avec un peu de bichromate à 2%, puis **étaler la suspension** obtenue sur **boîtes de Pétri** contenant 30 ml gélose Agar-Agar (pH neutre 7-7,5).
- 12- Mettre la culture obtenue à l'**étuve à 28°C**.
Laisser les boîtes ouvertes.
"Bien aérer" la culture en la remuant 1 fois par jour à l'aide d'une pipette boule et veiller à ce qu'elle ne dessèche pas, si besoin ajouter du bichromate.
- 13 - Faire une culture de caeca ou autre comme déjà décrite si besoin.

But de cette technique : compter les oocystes en suspension dans une solution salée.

Description :

La cellule de comptage de Mc Master est composée de deux chambres (le volume d'une chambre est 0,15ml), chaque chambre est divisée en 6 colonnes.



Utilisation :

1. Remplir les deux chambres de la cellule de Mc Master à l'aide d'une pipette
2. Attendre dix minutes
3. Compter les oocystes situés dans les chambres (microscope x 100)
4. Calcul du nombre d'oocystes présents dans la solution pipetée :

N le nombre moyen d'oocystes par gramme de fèces, trouvés dans les deux chambres

$$N = n \times v / p \times 0,3$$

- n : Nombre moyen d'éléments parasitaires entre les 2 chambres (dans les 2 grilles).
- v : Volume total de la suspension
- p : Poids total des fientes utilisés dans la manipulation
- Le volume de chaque chambre est égal à 0,15 ml, soit un volume de 0,3 ml pour les deux chambres de la lame.

Fiche technique du produit de désinfection Délégol®

Composition :

Délegol® est un concentré émulsionnable constitué de 3 principes actifs :

- le chloro-4 méthyl-3 phénol (dérivé phénolique) = 50 g/l
- le chlorure d'alkyl diméthyl benzyl ammonium (un ammonium quaternaire) = 100 g/l
- le glutaraldéhyde (un aldéhyde) = 130 g/l

Délegol® est homologué pour les traitements bactéricides, fongicides et virucides suivants :

- logement d'animaux domestiques,
- matériel de transport des animaux domestiques,
- matériel d'élevage des animaux domestiques.

Homologation du Ministère de l'Agriculture n° 2020108 du 06/06/02 Agrément D.S.V. prophylaxie des maladies contagieuses n° 02331

Dose d'emploi :

Selon l'utilisation souhaitée, Délegol® s'utilise à la dose de :

- 0,4 litre pour 100 litres d'eau pour les traitements bactéricides,
- 0,8 litre pour 100 litres d'eau pour les traitements fongicides,
- 2 litres pour 100 litres d'eau pour les traitements virucides.

Mode d'emploi :

Délegol® peut s'utiliser en trempage, pulvérisation ou thermonébulisation.

Trempage :

Pédiluve : renouveler tous les 2-3 jours.

Matériel : immerger le matériel dans une solution prête à l'emploi durant 30 minutes. Brosser et rincer.

Pulvérisation :

Pulvériser 200 litres de solution prête à l'emploi pour 1 000 m² de surface à traiter. Laisser agir 30 minutes au moins.

Thermonébulisation :

Délegol® s'utilise en thermonébulisation pour les traitements bactéricides à la dose de 1,6 ml de produit pur par m² à traiter soit 4,8 litres pour un bâtiment de 3 000 m². Le local doit être clos, aucune présence animale ou humaine, les trappes de ventilation fermées, l'étanchéité maximale est requise. Traiter soit à partir de la porte du local ou de l'intérieur (dans ce dernier cas, l'usage d'un masque respiratoire est obligatoire). Laisser agir pendant 4 heures au moins, local clos, entrée interdite. A l'issue du traitement, ventiler le bâtiment pendant 2 heures avant toute entrée humaine ou animale.

Conseils d'utilisation pour des résultats optimum :

La désinfection d'un bâtiment d'élevage avec Délegol® doit être précédée :

- Du retrait de toute litière usée ou déjection,
- D'une aspiration de la poussière,
- D'un lavage des surfaces.

Précautions d'emploi :

Respecter strictement le mode et les précautions d'emploi présentés sur l'étiquette.

Porter un vêtement de protection imperméable et des gants en caoutchouc non jetables, maintenus en bon état et lavés après chaque utilisation.

Peut entraîner une sensibilisation par inhalation et contact avec la peau. Provoque des brûlures. Nocif par inhalation et en cas d'ingestion.

En cas de ventilation insuffisante, porter un appareil respiratoire approprié. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux et du visage. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. Conserver hors de la portée des enfants. Conserver à l'écart des aliments et boissons. Conserver uniquement dans le récipient d'origine. Ne pas manger, boire, ou fumer pendant l'utilisation. Ne pas respirer les aérosols. Eviter le contact avec la peau et les yeux.



C - corrosif

Agents pathogènes testés et détruits par Délegol® :

	Agents pathogènes	Concentration
Activité bactéricide (selon la norme AFNOR NFT 72-300)	Pseudomonas aeruginosa	0,4 %
	Escherichia coli	0,4 %
	Staphylococcus aureus	0,4 %
	Enterococcus hirae	0,4 %
Activité virucide (selon la norme AFNOR NFT 72-180)	Virus aphteux de type O	2 %
	Virus de la maladie de Talfan (famille des Picornaviridae)	2%
	Virus de l'hépatite contagieuse canine (famille des Adenoviridae)	2 %
Activité fongicide (selon la norme AFNOR NFT 72-300)	Cladosporium cladosporioides	0,8 %
	Aspergillus versicolor	0,8 %
	Absidia corymbifera	0,8 %

Espace Jules Vernes BP 40011
56891 St Avé cedex
France
Tél. 02 97 60 65 65



Bayer HealthCare

**Répartition des poulets par lot avec les poids
et les gains de poids pour chaque poulet (Premier essai)**

Annexe n° 6

Poids Départ	No Cage	No Bague	No Lot	Poids J6	Poids final	mortalité	Lésion acerv	Lésion maxi	Lésion EN	GP J6	GP fin	GP inter
149	1	772	1	439	837	0				290	688	398
151	1	597	1	429		0	0	0	0	278		
154	1	549	1	489		0	0	0	0	335		
156	1	574	1	444	765	0				288	609	321
149	2	433	2	416	767	0				267	618	351
151	2	657	2	403	750	0				252	599	347
154	2	700	2	396		0	1	0	0	242		
156	2	760	2	419		0	2	0	0	263		
149	3	409	3	449	859	0				300	710	410
151	3	671	3	356		0	0	1	0	205		
154	3	766	3	434		0	0	0	0	280		
156	3	780	3	375	627	0				219	471	252
149	4	600	4	445	877	0				296	728	432
151	4	464	4	427		0	0	0	0	276		
154	4	405	4	434	858	0				280	704	424
156	4	434	4	461		0	1	0	0	305		
149	5	699	5	388		0	1	2	1	239		
151	5	623	5	347		0	3	0	4	196		
154	5	541	5	378	702	0				224	548	324
156	5	641	5	438		0	2	0	0	282		
149	6	777	6	452	858	0				303	709	406
151	6	730	6	474		0	0	0	0	323		
154	6	457	6	493	957	0				339	803	464
156	6	544	6	478		0	0	0	0	322		
149	7	410	7	428	838	0				279	689	410
151	7	774	7	425		0	0	0	0	274		
154	7	454	7	486		0	0	0	0	332		
156	7	531	7	433	822	0				277	666	389
149	8	476	8	475		0	0	0	0	326		
151	8	703	8	471	863	0				320	712	392
154	8	564	8	430	802	0				276	648	372
156	8	741	8	396		0	0	0	0	240		
160	9	432	1	555	1069	0				395	909	514
161	9	674	1	441		0	0	0	0	280		
163	9	581	1	472		0	0	0	0	309		
166	9	539	1	479	928	0				313	762	449
160	10	495	2	484	941	0				324	781	457
161	10	733	2	438		0	0	0	0	277		
163	10	594	2	424		0	1	0	0	261		
166	10	478	2	388	680	0				222	514	292
160	11	470	3	466		0	1	0	0	306		
161	11	429	3	416		0	1	1	0	255		

**Répartition des poulets par lot avec les poids
et les gains de poids pour chaque poulet (Premier essai)**

Annexe n° 6

163	11	625	3	468	916	0				305	753	448
166	11	608	3	450	918	0				284	752	468
160	12	653	4	470		0	0	0	0	310		
161	12	458	4	466	908	0				305	747	442
163	12	676	4	452		0	0	0	0	289		
166	12	740	4	421	862	0				255	696	441
160	13	645	5	424	779	0				264	619	355
161	13	651	5	332		0	1	0	0	171		
163	13	710	5	375		0	2	1	1	212		
166	13	592	5	387	780	0				221	614	393
160	14	421	6	427		0	1	0	0	267		
161	14	644	6	503	957	0				342	796	454
163	14	771	6	490	948	0				327	785	458
166	14	681	6	473		0	0	0	0	307		
160	15	461	7	465		0	2	0	2	305		
161	15	720	7	449		0	0	0	1	288		
163	15	744	7	518	965	0				355	802	447
166	15	714	7	412	786	0				246	620	374
160	16	504	8	472		0	0	0	0	312		
161	16	560	8	495	909	0				334	748	414
163	16	417	8	447	921	0				284	758	474
166	16	690	8	444		0	0	0	0	278		
169	17	721	1	510		0	0	0	0	341		
172	17	547	1	470		0	0	0	0	298		
174	17	522	1	485		0				311		
177	17	430	1	552	1074	0				375	897	522
169	18	693	2	436		0	1	0	0	267		
172	18	524	2	489	906	0				317	734	417
174	18	542	2	400		0	2	0	1	226		
177	18	511	2	429	754	0				252	577	325
169	19	407	3	472	910	0				303	741	438
172	19	496	3	447	782	0				275	610	335
174	19	655	3	506		0	1	0	0	332		
177	19	630	3	505		0	1	0	3	328		
169	20	636	4	461		0	1	0	0	292		
172	20	526	4	513	958	0				341	786	445
174	20	519	4	489		0	0	0	0	315		
177	20	612	4	547	1040	0				370	863	493
169	21	680	5	368		1	2	0	4	199		
172	21	502	5	494	938	0				322	766	444
174	21	573	5	500	944	0				326	770	444
177	21	535	5	449		0	2	0	0	272		
169	22	707	6	507	935	0				338	766	428

**Répartition des poulets par lot avec les poids
et les gains de poids pour chaque poulet (Premier essai)**

Annexe n° 6

172	22	534	6	405		0	0	0	0	233		
174	22	638	6	472	874	0				298	700	402
177	22	669	6	538		0	0	0	0	361		
169	23	460	7	465		0	2	0	1	296		
172	23	629	7	465		0	1	0	0	293		
174	23	728	7	504	924	0				330	750	420
177	23	747	7	432	816	0				255	639	384
169	24	514	8	391		0	0	0	0	222		
172	24	673	8	508		0	1	0	0	336		
174	24	752	8	467	897	0				293	723	430
177	24	778	8	500	934	0				323	757	434
178	25	474	1	510	1013	0				332	835	503
180	25	412	1	560		0	0	0	0	380		
182	25	449	1	470		0	0	0	0	288		
183	25	425	1	540	1005	0				357	822	465
178	26	443	2	498		0	0	2	1	320		
180	26	455	2	524		0	1	1	0	344		
182	26	471	2	537	958	0				355	776	421
183	26	468	2	440	706	0				257	523	266
178	27	463	3	562		0	1	0	0	384		
180	27	447	3	497	903	0				317	723	406
182	27	738	3	519		0	2	1	0	337		
183	27	423	3	514	885	0				331	702	371
178	28	472	4	525		0	0	0	0	347		
180	28	537	4	507	943	0				327	763	436
182	28	431	4	481	881	0				299	699	400
183	28	595	4	511		0	0	0	0	328		
178	29	609	5	422		0	2	2	0	244		
180	29	538	5	457	639	0				277	459	182
182	29	635	5	499		0	0	0	0	317		
183	29	692	5	425		0				242		
178	30	590	6	498		0	0	2	1	320		
180	30	532	6	460	813	0				280	633	353
182	30	709	6	459	708	0				277	526	249
183	30	484	6	458		0	0	0	0	275		
178	31	664	7	474	918	0				296	740	444
180	31	587	7	523	998	0				343	818	475
182	31	734	7	452		0	1	0	0	270		
183	31	723	7	547		0	0	0	0	364		
178	32	546	8	477	849	0				299	671	372
180	32	748	8	477		0	0	0	0	297		
182	32	756	8	500		0	1	0	1	318		
183	32	724	8	516	969	0				333	786	453

**Répartition des poulets par lot avec les poids
et les gains de poids pour chaque poulet (Premier essai)**

Annexe n° 6

186	33	510	1	507		0	0	0	0	321		
188	33	505	1	505	985	0				317	797	480
190	33	435	1	550	999	0				360	809	449
194	33	543	1	533		0	0	0	0	339		
186	34	578	2	376	774	0				190	588	398
188	34	550	2	484		0	2	2	1	296		
190	34	513	2	451	819	0				261	629	368
194	34	713	2	464		0	2	0	1	270		
186	35	599	3	462		0	1	0	0	276		
188	35	668	3	554	1029	0				366	841	475
190	35	626	3	520	953	0				330	763	433
194	35	533	3	516		0	1	0	0	322		
186	36	520	4	462	936	0				276	750	474
188	36	527	4	480	889	0				292	701	409
190	36	726	4	446		0	1	0	0	256		
194	36	516	4	445		0	1	0	0	251		
186	37	561	5	471	590	0				285	404	119
188	37	579	5	419		0	2	0	4	231		
190	37	602	5	444	664	0				254	474	220
194	37	627	5	423		0	0	0	1	229		
186	38	633	6	517		0	1	0	0	331		
188	38	665	6	549	1055	0				361	867	506
190	38	677	6	490		0	0	0	0	300		
194	38	686	6	547	1004	0				353	810	457
186	39	419	7	508	939	0				322	753	431
188	39	647	7	524	1057	0				336	869	533
190	39	416	7	548		0	0	0	0	358		
194	39	446	7	553		0	0	0	0	359		
186	40	488	8	620	1170	0				434	984	550
188	40	758	8	537	1023	0				349	835	486
190	40	663	8	543		0	0	0	0	353		
194	40	567	8	550		0	0	0	0	356		
196	41	483	1	535	945	0				339	749	410
198	41	576	1	568	1056	0				370	858	488
200	41	422	1	521		0	0	0	0	321		
203	41	500	1	567		0	0	0	0	364		
196	42	624	2	538	934	0				342	738	396
198	42	598	2	477	896	0				279	698	419
200	42	473	2	495		0	2	3	1	295		
203	42	515	2	506		0	1	3	0	303		
196	43	705	3	511		0	1	0	0	315		
198	43	603	3	566	885	0				368	687	319
200	43	509	3	455	845	0				255	645	390

**Répartition des poulets par lot avec les poids
et les gains de poids pour chaque poulet (Premier essai)**

Annexe n° 6

203	43	711	3	511		0	0	0	2	308		
196	44	695	4	575		0	0	0	0	379		
198	44	678	4	598	1107	0				400	909	509
200	44	614	4	544	1023	0				344	823	479
203	44	402	4	533		0	0	0	1	330		
196	45	770	5	456		0	0	0	0	260		
198	45	570	5	467		0				269		
200	45	762	5	428		0	2	0	0	228		
203	45	554	5	499	759	0				296	556	260
196	46	750	6	520		0	1	0	0	324		
198	46	649	6	455	905	0				257	707	450
200	46	411	6	554	1034	0				354	834	480
203	46	577	6	601		0	1	0	0	398		
196	47	722	7	441		0	0	0	0	245		
198	47	761	7	408	918	0				210	720	510
200	47	661	7	540	1023	0				340	823	483
203	47	616	7	510		0	0	0	0	307		
196	48	702	8	444	894	0				248	698	450
198	48	697	8	561	1038	0				363	840	477
200	48	462	8	544		0	0	0	0	344		
203	48	736	8	551		0	0	0	0	348		

**Répartition des poulets par lot avec les poids
Et les gains de poids pour chaque poulet (dernier essai)**

Annexe n°7

Poids départ	N° Cage	N° Bague	N° Lot	Poids final à J6	Mortalité	Lésion acerv	Lésion max	Lésion EN	Gain de Poids
197	1	858	1	562	0	0	0	0	365
200	1	717	1	568	0	0	0	0	368
201	1	722	1	550	0	0	0	0	349
203	1	797	1	490	0	0	0	0	287
197	2	869	2	583	0	3	0	0	386
200	2	894	2	516	0	3	0	0	316
201	2	741	2	566	0	3	0	0	365
203	2	947	2	584	0	3	0	0	381
197	3	730	3	550	0	2	0	0	353
200	3	760	3	530	0	3	0	0	330
201	3	842	3	568	0	2	0	0	367
203	3	704	3	533	0	3	1	3	330
197	4	749	4	452	0	0	0	0	255
200	4	841	4	460	0	0	0	0	260
201	4	874	4	597	0	0	0	1	396
203	4	979	4	586	0	0	0	0	383
197	5	811	5	541	0	2	0	0	344
200	5	888	5	572	0	3	0	0	372
201	5	376	5	609	0	3	0	3	408
203	5	872	5	515	0	3	0	0	312
197	6	880	6	407	0	3	0	0	210
200	6	895	6	554	0	3	0	0	354
201	6	713	6	531	0	3	1	0	330
203	6	863	6	561	0	3	0	0	358
197	7	388	7	577	0	3	0	0	380
200	7	951	7	522	0	3	0	0	322
201	7	383	7	493	0	3	0	0	292
203	7	743	7	561	0	3	0	0	358
197	8	944	8	593	0	3	0	0	396
200	8	983	8	593	0	2	0	0	393
201	8	980	8	546	0	3	0	0	345
203	8	715	8	568	0	2	0	0	365
206	9	813	1	595	0	0	0	0	389
209	9	792	1	595	0	0	0	0	386
211	9	835	1	505	0	0	0	0	294
213	9	812	1	542	0	0	0	0	329
206	10	900	2	452	0	3	0	0	246
209	10	826	2	463	0	3	0	0	254
211	10	871	2	586	0	2	1	0	375
213	10	834	2	548	0	2	1	0	335

**Répartition des poulets par lot avec les poids
Et les gains de poids pour chaque poulet (dernier essai)**

Annexe n°7

206	11	889	3	497	0	3	0	3	291
209	11	844	3	498	0	3	0	3	289
211	11	996	3	524	0	3	0	0	313
213	11	925	3	573	0	3	0	2	360
206	12	374	4	523	0	0	0	0	317
209	12	825	4	571	0	0	0	0	362
211	12	821	4	552	0	0	0	0	341
213	12	976	4	396	0	0	0	0	183
206	13	387	5	599	0	3	0	0	393
209	13	789	5	572	0	3	0	0	363
211	13	804	5	561	0	3	0	3	350
213	13	919	5	491	0	3	0	0	278
206	14	709	6	546	0	3	0	0	340
209	14	724	6	559	0	3	0	0	350
211	14	725	6	596	0	2	0	0	385
213	14	879	6	521	0	2	0	0	308
206	15	820	7	459	0	2	0	0	253
209	15	796	7	455	0	3	0	0	246
211	15	974	7	564	0	3	0	0	353
213	15	809	7	603	0	2	0	0	390
206	16	982	8	518	0	3	0	0	312
209	16	905	8	611	0	3	0	0	402
211	16	859	8	578	0	3	0	0	367
213	16	887	8	617	0	3	0	0	404
215	17	746	1	638	0	0	0	0	423
218	17	701	1	601	0	0	0	0	383
220	17	798	1	535	0	0	0	0	315
221	17	828	1	598	0	0	0	0	377
215	18	902	2	648	0	2	0	0	433
218	18	727	2	637	0	3	0	0	419
220	18	843	2	617	0	3	0	0	397
221	18	897	2	632	0	3	0	0	411
215	19	784	3	543	0	3	0	4	328
218	19	761	3	578	0	3	0	3	360
220	19	848	3	619	0	2	0	0	399
221	19	943	3	572	0	2	0	0	351
215	20	824	4	563	0	0	0	0	348
218	20	801	4	512	0	0	0	0	294
220	20	899	4	609	0	0	0	0	389
221	20	998	4	575	0	0	0	0	354
215	21	773	5	567	0	2	1	0	352
218	21	958	5	599	0	3	0	0	381
220	21	882	5	609	0	3	0	0	389

**Répartition des poulets par lot avec les poids
Et les gains de poids pour chaque poulet (dernier essai)**

Annexe n°7

221	21	937	5	626	0	3	0	0	405
215	22	850	6	555	0	3	0	0	340
218	22	377	6	684	0	3	1	0	466
220	22	909	6	694	0	2	1	0	474
221	22	973	6	587	0	2	1	0	366
215	23	866	7	624	0	2	0	0	409
218	23	782	7	533	0	2	0	0	315
220	23	351	7	577	0	2	0	0	357
221	23	350	7	653	0	3	0	0	432
215	24	941	8	595	0	2	0	3	380
218	24	868	8	581	0	3	0	0	363
220	24	799	8	583	0	3	0	0	363
221	24	361	8	618	0	3	2	0	397
223	25	719	1	541	0	0	0	0	318
225	25	752	1	649	0	0	0	0	424
226	25	733	1	631	0	0	0	0	405
227	25	714	1	646	0	0	0	0	419
223	26	708	2	515	0	2	0	0	292
225	26	805	2	589	0	2	0	0	364
226	26	753	2	620	0	2	0	0	394
227	26	757	2	568	0	3	2	0	341
223	27	769	3	593	0	2	0	0	370
225	27	847	3	606	0	3	0	0	381
226	27	780	3	623	0	2	0	0	397
227	27	788	3	481	0	3	0	3	254
223	28	896	4	539	0	0	0	0	316
225	28	857	4	620	0	0	0	0	395
226	28	807	4	596	0	0	0	0	370
227	28	893	4	602	0	0	0	0	375
223	29	936	5	592	0	3	0	0	369
225	29	837	5	681	0	3	0	0	456
226	29	840	5	618	0	3	0	0	392
227	29	987	5	567	0	3	0	0	340
223	30	986	6	463	0	2	0	0	240
225	30	910	6	577	0	2	0	0	352
226	30	876	6	586	0	2	0	0	360
227	30	355	6	563	0	2	0	0	336
223	31	758	7	570	0	3	0	0	347
225	31	965	7	617	0	3	0	0	392
226	31	916	7	577	0	3	0	0	351
227	31	964	7	578	0	3	0	0	351
223	32	822	8	609	0	3	0	3	386
225	32	984	8	640	0	2	0	0	415

**Répartition des poulets par lot avec les poids
Et les gains de poids pour chaque poulet (dernier essai)**

Annexe n°7

226	32	918	8	597	0	3	0	0	371
227	32	953	8	473	0	3	0	0	246
228	33	853	1	597	0	0	0	0	369
229	33	817	1	619	0	0	0	0	390
232	33	732	1	675	0	0	0	0	443
233	33	735	1	648	0	0	0	0	415
228	34	960	2	576	0	3	0	0	348
229	34	827	2	657	0	3	0	0	428
232	34	800	2						
233	34	829	2	659	0	3	0	0	426
228	35	972	3	465	0	3	0	0	237
229	35	892	3	545	0	3	0	0	316
232	35	833	3	521	0	3	0	0	289
233	35	830	3	555	0	3	0	3	322
228	36	989	4	602	0	0	0	0	374
229	36	927	4	585	0	0	0	0	356
232	36	915	4	570	0	0	0	0	338
233	36	860	4	693	0	0	0	1	460
228	37	353	5	684	0	3	0	0	456
229	37	932	5	623	0	2	1	0	394
232	37	917	5	597	0	3	0	0	365
233	37	911	5	592	0	2	0	0	359
228	38	385	6	663	0	2	0	0	435
229	38	360	6	556	0	3	0	0	327
232	38	946	6	632	0	3	1	0	400
233	38	963	6	630	0	2	0	0	397
228	39	381	7	701	0	2	0	0	473
229	39	366	7	643	0	3	0	0	414
232	39	362	7	643	0	3	0	0	411
233	39	968	7	631	0	3	0	0	398
228	40	934	8	605	0	2	0	0	377
229	40	993	8	557	0	3	0	0	328
232	40	849	8	625	0	2	0	0	393
233	40	382	8	650	0	3	0	3	417
234	41	705	1	641	0	0	0	0	407
236	41	742	1	680	0	0	0	0	444
237	41	729	1	667	0	0	0	0	430
238	41	736	1	575	0	0	0	0	337
234	42	755	2	634	0	3	0	0	400
236	42	766	2	550	0	2	0	0	314
237	42	776	2	632	0	3	0	0	395
238	42	787	2	632	0	3	0	0	394
234	43	794	3	576	0	3	0	3	342

**Répartition des poulets par lot avec les poids
Et les gains de poids pour chaque poulet (dernier essai)**

Annexe n°7

236	43	772	3	628	0	3	0	0	392
237	43	777	3	558	0	3	0	3	321
238	43	810	3	628	0	3	0	0	390
234	44	873	4	585	0	0	0	0	351
236	44	819	4	502	0	0	0	0	266
237	44	854	4	556	0	0	0	0	319
238	44	990	4	540	0	0	0	0	302
234	45	901	5	629	0	3	0	0	395
236	45	846	5	626	0	3	0	0	390
237	45	903	5	535	0	3	0	0	298
238	45	836	5	626	0	3	0	0	388
234	46	929	6	624	0	3	0	0	390
236	46	886	6	650	0	3	1	0	414
237	46	923	6	608	0	3	0	0	371
238	46	906	6	617	0	3	0	0	379
234	47	370	7	509	0	2	0	0	275
236	47	969	7	616	0	2	0	0	380
237	47	371	7	670	0	3	0	0	433
238	47	933	7	590	0	2	0	0	352
234	48	372	8	567	0	3	0	0	333
236	48	352	8	568	0	3	0	0	332
237	48	803	8	530	0	3	0	0	293
238	48	935	8	626	0	3	0	0	388

Analyse des lots 1/2/3/4: Poids J6**Variable : POIDS J6****TABLEAU DE SYNTHÈSE DES ANALYSES STATISTIQUES** (Tests de Kruskal-Wallis et tests de Mann-Whitney)

Les lots ont été classés selon la valeur de leur somme des rangs afin de visualiser au mieux les résultats des tests non-paramétriques. (Les valeurs en italiques sont la somme des rangs pour chaque comparaison)

N°lot	1	2	4	3	X ²	ddl	P	S/ns
Noms	NINS	IcoxNS	IclosNS	INS				
Moyenne	597,83	585,39	557,75	556,83				
Médiane	597,50	586,00	570,50	556,50				
Comparaisons	1413.0	1253.5	984.5	909.0	9,790	3	0,020	S
	607.5	520.5			0,450	1	0,503	ns
	691.0		458.0		4,512	1	0,034	S
		1009.0	799.5	747.0	5,079	2	0,079	ns

NINS^a**IcoxNS^{ab}****INS^b****IclosNS^b****Analyse globale : Test de Kruskal-Wallis**

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (4 levels) 1, 2, 3, 4

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 95 cases

Dependent variable is **PDS_FIN**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	1413.000
2	23	1253.500
3	24	909.000
4	24	984.500

Kruskal-Wallis Test Statistic = **9.790**Probability is **0.020** assuming Chi-square distribution with 3 df

→ il y a une différence significative entre les 4 lots

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (3 levels) 2, 3, 4

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 71 cases

Dependent variable is **PDS_FIN**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
2	23	1009.000
3	24	747.500
4	24	799.500

Kruskal-Wallis Test Statistic = **5.079**Probability is **0.079** assuming Chi-square distribution with 2 df

→ il n'y a pas de différence significative entre les 3 lots

Tests de comparaisons individuelles : Test de Mann-Whitney**Tests apparaissant dans le tableau de synthèse****NOLOT (2 levels)** 1, 2

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 47 cases

Dependent variable is PDS_FIN

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	607.500
2	23	520.500

Mann-Whitney U test statistic = 307.500

Probability is 0.503

Chi-square approximation = 0.450 with 1 df

Tests n'apparaissant pas dans le tableau de synthèse**NOLOT (2 levels)** 1, 4

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is PDS_FIN

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	691.000
4	24	485.000

Mann-Whitney U test statistic = 391.000

Probability is 0.034

Chi-square approximation = 4.512 with 1 df

NOLOT (2 levels) 1, 3

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is PDS_FIN

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	714.500
3	24	461.500

Mann-Whitney U test statistic = 414.500

Probability is 0.009

Chi-square approximation = 6.806 with 1 df

Analyse des lots 1/2/6/7: Poids J6Variable : POIDS J6TABLEAU DE SYNTHÈSE DES ANALYSES STATISTIQUES (Tests de Kruskal-Wallis et tests de Mann Whitney)

Les lots ont été classés selon la valeur de leur somme des rangs afin de visualiser au mieux les résultats des tests non-paramétriques. (Les valeurs en italiques sont la somme des rangs pour chaque comparaison)

N°lot	1	2	7	6	X ²	ddl	P	S/ns
Noms	NINS	lcoxNS	lcoxM	lcoxN				
Moyenne	597,83	585,39	581,92	581,83				
Médiane	597,50	586,00	577,50	581,50				
Comparaisons	<i>1263.0</i>	<i>1107.0</i>	<i>1104.0</i>	<i>1086.0</i>	1,041	3	0,791	ns

NINS^a**lcoxNS^a****lcoxN^a****lcoxM^a**Analyse globale : Test de Kruskal-Wallis

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (4 levels) 1, 2, 6, 7

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 95 cases

Dependent variable is **PDS_FIN**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	1263.000
2	23	1107.000
6	24	1086.000
7	24	1104.000

Kruskal-Wallis Test Statistic = **1.041**Probability is **0.791** assuming Chi-square distribution with 3 df

→ il n'y a pas de différence significative entre les 4 lots

Analyse des lots 1/2/3/5/8: Poids J6**Variable : POIDS J6****TABLEAU DE SYNTHÈSE DES ANALYSES STATISTIQUES** (Tests de Kruskal-Wallis et tests de Mann Whitney)

Les lots ont été classés selon la valeur de leur somme des rangs afin de visualiser au mieux les résultats des tests non-paramétriques. (Les valeurs en italiques sont la somme des rangs pour chaque comparaison)

N°lot	1	5	2	8	3	X ²	ddl	P	S/ns
Noms	NINS	ISN	IcoxNS	ISM	INS				
Moyenne	597,83	592,96	585,39	585,33	556,83				
Médiane	597,50	598,00	586,00	593,00	556,50				
Comparaisons	1667.0	1556.0	1467.5	1456.0	993.5	9,547	4	0,049	S
				693.0	483.0	4,690	1	0,030	S
	1252.5	1153.5	1091.0	1063.0		0,998	3	0,802	ns

NINS^a**IcoxNS^a****INS^b****ISN^a****ISM^a****Analyse globale : Test de Kruskal-Wallis**

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (5 levels) 1, 2, 3, 5, 8

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 119 cases

Dependent variable is **PDS_FIN**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	1667.000
2	23	1467.500
3	24	993.500
5	24	1556.000
8	24	1456.000

Kruskal-Wallis Test Statistic = **9.547**

Probability is **0.049** assuming Chi-square distribution with 4 df

→ il y a une différence significative entre les 5 lots

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (4 levels) 1, 2, 5, 8

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 95 cases

Dependent variable is **PDS_FIN**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	1252.500
2	23	1091.000
5	24	1153.500
8	24	1063.000

Kruskal-Wallis Test Statistic = **0.998**

Probability is **0.802** assuming Chi-square distribution with 3 df

→ il n'y a pas de différence significative entre les 4 lots

Analyse des lots 1/2/3/5/8: Poids J6**Variable : POIDS J6****Tests de comparaisons individuelles : Test de Mann-Whitney****Tests apparaissant dans le tableau de synthèse****NOLOT (2 levels) 3, 8**

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is PDS_FIN

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
3	24	483.000
8	24	693.000

Mann-Whitney U test statistic = 183.000

Probability is 0.030

Chi-square approximation = 4.690 with 1 df

Tests n'apparaissant pas dans le tableau de synthèse**NOLOT (2 levels) 2, 3**

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 47 cases

Dependent variable is PDS_FIN

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
2	23	652.500
3	24	475.500

Mann-Whitney U test statistic = 376.500

Probability is 0.032

Chi-square approximation = 4.577 with 1 df

NOLOT (2 levels) 1, 3

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is PDS_FIN

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	714.500
3	24	461.500

Mann-Whitney U test statistic = 414.500

Probability is 0.009

Chi-square approximation = 6.806 with 1 df

NOLOT (2 levels) 3, 5

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is PDS_FIN

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
3	24	473.500
5	24	702.500

Mann-Whitney U test statistic = 173.500

Probability is 0.018

Chi-square approximation = 5.578 with 1 df

Analyse des lots 1/2/3/4: GP J6Variable : GP J6TABLEAU DE SYNTHÈSE DES ANALYSES STATISTIQUES (Tests de Kruskal-Wallis et tests de Mann-Whitney)

Les lots ont été classés selon la valeur de leur somme des rangs afin de visualiser au mieux les résultats des tests non-paramétriques. (Les valeurs en italiques sont la somme des rangs pour chaque comparaison)

N°lot	1	2	4	3	X ²	ddl	P	S/ns
Noms	NINS	IcoxNS	IclosNS	INS				
Moyenne	377,75	365,83	337,67	336,75				
Médiane	384,50	381,00	349,50	336,00				
Comparaisons	1437.5	1267.0	955.5	900.0	11,589	3	0,009	S
	606.5	521.5			0,421	1	0,516	ns
	707.5		468.5		6,073	1	0,014	S
		1021.5	787.0	747.5	5,730	2	0,057	ns

NINS^a**IcoxNS^{ab}****INS^b****IclosNS^b**Analyse globale : Test de Kruskal-Wallis

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (4 levels) 1, 2, 3, 4

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 95 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	1437.500
2	23	1267.000
3	24	900.000
4	24	955.500

Kruskal-Wallis Test Statistic = **11.589**Probability is **0.009** assuming Chi-square distribution with **3** df

→ il y a une différence significative entre les 4 lots

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (3 levels) 2, 3, 4

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 71 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
2	23	1021.500
3	24	747.500
4	24	787.000

Kruskal-Wallis Test Statistic = **5.730**Probability is **0.057** assuming Chi-square distribution with **2** df

→ il n'y a pas de différence significative entre les 3 lots

Tests de comparaisons individuelles : Test de Mann-WhitneyTests apparaissant dans le tableau de synthèse**NOLOT (2 levels)** 1, 2

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 47 cases

Dependent variable is GP

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	606.500
2	23	521.500

Mann-Whitney U test statistic = 306.500

Probability is 0.516

Chi-square approximation = 0.421 with 1 df

NOLOT (2 levels) 1, 4

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is GP

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	707.500
4	24	468.500

Mann-Whitney U test statistic = 407.500

Probability is 0.014

Chi-square approximation = 6.073 with 1 df

Tests n'apparaissant pas dans le tableau de synthèse**NOLOT (2 levels)** 1, 3

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is GP

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	723.500
3	24	452.500

Mann-Whitney U test statistic = 423.500

Probability is 0.005

Chi-square approximation = 7.808 with 1 df

Analyse des lots 1/2/6/7: GP J6Variable : GP J6TABLEAU DE SYNTHÈSE DES ANALYSES STATISTIQUES (Tests de Kruskal-Wallis et tests de Mann Whitney)

Les lots ont été classés selon la valeur de leur somme des rangs afin de visualiser au mieux les résultats des tests non-paramétriques. (Les valeurs en italiques sont la somme des rangs pour chaque comparaison)

N°lot	1	2	7	6	X ²	ddl	P	S/ns
Noms	NINS	lcoxNS	lcoxM	lcoxN				
Moyenne	377,75	365,83	361,83	361,75				
Médiane	384,50	381,00	357,50	359,00				
Comparaisons	1282.0	1118.5	1093.0	1066.5	1,530	3	0,675	ns

NINS^a**lcoxNS^a****lcoxN^a****lcoxM^a**Analyse globale : Test de Kruskal-Wallis

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (4 levels) 1, 2, 6, 7

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 95 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
-------	-------	----------

1	24	1282.000
2	23	1118.500
6	24	1066.500
7	24	1093.000

Kruskal-Wallis Test Statistic = **1.530**
Probability is **0.675** assuming Chi-square distribution with **3** df

→ il n'y a pas de différence significative entre les 4 lots

Analyse des lots 1/2/3/5/8: GP J6**Variable : GP J6****TABLEAU DE SYNTHÈSE DES ANALYSES STATISTIQUES** (Tests de Kruskal-Wallis et tests de Mann-Whitney)

Les lots ont été classés selon la valeur de leur somme des rangs afin de visualiser au mieux les résultats des tests non-paramétriques. (Les valeurs en italiques sont la somme des rangs pour chaque comparaison)

N°lot	1	5	2	8	3	X ²	ddl	P	S/ns
Noms	NINS	ISN	IcoxNS	ISM	INS				
Moyenne	377,75	372,87	365,83	365,25	336,75				
Médiane	384,50	376,50	381,00	374,00	336,00				
Comparaisons	1683.5	1549.0	1483.0	1471.0	953.5	11,203	4	0,024	S
				707.5	468.5	6,074	1	0,014	S
	1260.0	1135.5	1101.0	1063.5		1,085	3	0,781	ns

NINS^a**IcoxNS^a****INS^b****ISN^a****ISM^a****Analyse globale : Test de Kruskal-Wallis**

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (5 levels) 1, 2, 3, 5, 8

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 119 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	1683.500
2	23	1483.000
3	24	953.500
5	24	1549.000
8	24	1471.000

Kruskal-Wallis Test Statistic = **11.203**
 Probability is **0.024** assuming Chi-square distribution with **4** df

→ il y a une différence significative entre les 5 lots

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (4 levels) 1, 2, 5, 8

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 95 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	1260.000
2	23	1101.000
5	24	1135.500
8	24	1063.500

Kruskal-Wallis Test Statistic = **1.085**
 Probability is **0.781** assuming Chi-square distribution with **3** df

→ il n'y a pas de différence significative entre les 4 lots**Tests de comparaisons individuelles : Test de Mann-Whitney****Tests apparaissant dans le tableau de synthèse****NOLOT (2 levels)** 3, 8

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
3	24	468.500
8	24	707.500

Mann-Whitney U test statistic = 168.500

Probability is 0.014

Chi-square approximation = 6.074 with 1 df

Tests n'apparaissant pas dans le tableau de synthèse

NOLOT (2 levels) 2, 3

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 47 cases

Dependent variable is GP

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
2	23	658.000
3	24	470.000

Mann-Whitney U test statistic = 382.000

Probability is 0.024

Chi-square approximation = 5.091 with 1 df

NOLOT (2 levels) 3, 5

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is GP

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
3	24	462.500
5	24	713.500

Mann-Whitney U test statistic = 162.500

Probability is 0.010

Chi-square approximation = 6.699 with 1 df **NOLOT (2 levels) 1, 3**

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 48 cases

Dependent variable is GP

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	723.500
3	24	452.500

Mann-Whitney U test statistic = 423.500

Probability is 0.005

Chi-squa

Analyse des lots 1/2/3/5/8: GP J6Variable : GP J6TABLEAU DE SYNTHÈSE DES ANALYSES STATISTIQUES (Tests de Kruskal-Wallis et tests de Mann Whitney)

Les lots ont été classés selon la valeur de leur somme des rangs afin de visualiser au mieux les résultats des tests non-paramétriques. (Les valeurs en italiques sont la somme des rangs pour chaque comparaison)

N°lot	1	5	2	8	3	X ²	ddl	P	S/ns
Noms	NINS	ISN	IcoxNS	ISM	INS				
Moyenne	377,75	372,87	365,83	365,25	336,75				
Médiane	384,50	376,50	381,00	374,00	336,00				
Comparaisons	1683.5	1549.0	1483.0	1471.0	953.5	11,203	4	0,024	S
				707.5	468.5	6,074	1	0,014	S
	1260.0	1135.5	1101.0	1063.5		1,085	3	0,781	ns

NINS^a **IcoxNS^a** **INS^b** **ISN^a** **ISM^a**

Analyse globale : Test de Kruskal-Wallis

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (5 levels) 1, 2, 3, 5, 8

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 119 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
-------	-------	----------

1	24	1683.500
2	23	1483.000
3	24	953.500
5	24	1549.000
8	24	1471.000

Kruskal-Wallis Test Statistic = **11.203**
Probability is **0.024** assuming Chi-square distribution with 4 df

→ il y a une différence significative entre les 5 lots

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (4 levels) 1, 2, 5, 8

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 95 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
-------	-------	----------

1	24	1260.000
2	23	1101.000
5	24	1135.500
8	24	1063.500

Kruskal-Wallis Test Statistic = **1.085**
Probability is **0.781** assuming Chi-square distribution with 3 df

→ il n'y a pas de différence significative entre les 4 lots

Analyse des lots 1/2/6/7: GP J6Variable : GP J6**TABLEAU DE SYNTHÈSE DES ANALYSES STATISTIQUES** (Tests de Kruskal-Wallis et tests de Mann Whitney)

Les lots ont été classés selon la valeur de leur somme des rangs afin de visualiser au mieux les résultats des tests non-paramétriques. (Les valeurs en italiques sont la somme des rangs pour chaque comparaison)

N°lot	1	2	7	6	X ²	ddl	P	S/ns
Noms	NINS	IcoxNS	IcoxM	IcoxN				
Moyenne	377,75	365,83	361,83	361,75				
Médiane	384,50	381,00	357,50	359,00				
Comparaisons	<i>1282.0</i>	<i>1118.5</i>	<i>1093.0</i>	<i>1066.5</i>	1,530	3	0,675	ns

NINS^a**IcoxNS^a****IcoxN^a****IcoxM^a**Analyse globale : Test de Kruskal-Wallis

Categorical values encountered during processing are:

NOLOT (4 levels) 1, 2, 6, 7

Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance for 95 cases

Dependent variable is **GP**

Grouping variable is NOLOT

Group	Count	Rank Sum
1	24	1282.000
2	23	1118.500
6	24	1066.500
7	24	1093.000

Kruskal-Wallis Test Statistic = **1.530**

Probability is **0.675** assuming Chi-square distribution with **3** df

➔ **il n'y a pas de différence significative entre les 4 lots**

3 24 452.500
Mann-Whitney U test statistic = 423.500
Probability is 0.005 Chi-square approximation = 7.808 with 1 df

Aliment PCD (poulet de chair démarrage)

MP retenues

Code	Matière première	%	Poids
000001002	Mas A65 PB7.8	32.30	323.00
000001111	BI* A60 PB9.5	25.00	250.00
000004031	Tourteau Soja 48 Br* sil n0	36.00	360.00
0000014020	Phosphate Bicalcique Dihydrat*	1.60	16.000
0000014200	Chlorure Sodium : Sel Fin 99%	0.32	3.200
0000015000	Huile Soja Brute	2.35	23.500
0000017000	M* thionine : DL M* thionine 99%	0.23	2.300
0000017100	Lysine : Lysine HCl 78%	0.10	1.000
AL830	AL830	0.30	3.000
NOV998	*NOV998	1.00	10.000
NVV934	*NVV934	0.80	8.000

Total 100.0 1000.0

Analyse

Code	Nutriments	Unité	Valeur
0001	E.M.Volailles Adulte	kcal/kg	2891.25
0001-2	E.M.Volailles Ponte	kcal/kg	2877.49
0002	E.M.Volailles Jeune	kcal/kg	2848.54
0020	Matières Grasses Brutes	p.cent	4.65
0029	Acide Linoléique C18:2	p.cent	2.50
0030	Acide Linoléique C18:3	p.cent	0.27
0035	Amidon	p.cent	37.28
0036	Sucres	p.cent	4.71
0037	Amidon+Sucres	p.cent	41.99
0040	Cellulose Brute	p.cent	3.51
0043	Lignine	p.cent	0.63
0044	A.D.F.	p.cent	4.40
0045	N.D.F.	p.cent	10.85
0050	Protéines Brutes	p.cent	21.53
0051	Protéines Brutes A.	p.cent	21.53
0053	Prot.Dig.Volailles	p.cent	19.32
0065	M* thionine	p.cent	0.58
0066	M* thionine+Cystine	p.cent	0.97
0067	Lysine	p.cent	1.26
0067-01	Lysine Etiquette	p.cent	1.24
0068	Thréonine	p.cent	0.80
0069	Tryptophane	p.cent	0.27
0092	M* thionine Dig. Volailles	p.cent	0.53
0093	M* thio+Cystine Dig. Volailles	p.cent	0.87
0094	Lysine Dig. Volailles	p.cent	1.10
0095	Thréonine Dig. Volailles	p.cent	0.69
0096	Tryptophane Dig. Volailles	p.cent	0.23
0097	Arginine Dig. Volailles	p.cent	1.33
0110	Matières Minérales	p.cent	6.27
0111	Calcium Ca	p.cent	1.04
0112	Phosphore Total P	p.cent	0.66
0113	P.Dispo.Monogastriques	p.cent	0.42
0115	Chlore Cl total	p.cent	0.28
0118	Sodium Na total	p.cent	0.14
0140	Xanthophylles Analysables	mg/kg	6.14
0142	Xantho. Utiles Jaunes Oeuf	mg/kg	6.14
0145	X. Utiles Totaux Jaunes Ch	mg/kg	6.14
0150	Matière Sèche	p.cent	87.54
0151	Poids	p.cent	100.00
0171	Eq. C* r* ales + SPC	p.cent	57.58

Composition

Tourteau d'extraction de Soja(+), Mas, BI*, Huile de Soja(+), Phosphate Bicalcique, Carbonate de Calcium, Chlorure de Sodium,\

Garanties

Matières Grasses Brutes	4.5	p.cent
Cellulose Brute	3.5	p.cent
Protéines Brutes	21.5	p.cent
M* thionine	0.56	p.cent
Lysine	1.24	p.cent
Cendres Brutes	6.5	p.cent
Calcium	1.0	p.cent
Phosphore	0.7	p.cent
Sodium	0.14	p.cent

Additifs

Conservateurs		
E330 Acide citrique		
Liants - Anti-Agglomérants		
E562 S` piolite	0.1	p.cent
Vitamines		
E672 Vitamine A	10 400	UI/kg
E671 Vitamine D3	4 000	UI/kg
3a700 Vitamine E Ac` tate d'a-tocoph` ryle toutrac` mique	20	UI/kg
Oligo-El` ments		
E3 Cobalt (carbonate)	0.4	mg/kg
E4 Cuivre (sulfate)	15	mg/kg
E2 Iode (iodate Ca)	1.5	mg/kg
E1 Fer (Carbonate)	65	mg/kg
E5 Mangan, se (oxyde)	90	mg/kg
E8 S` l` nium (s` l` nite)	0.2	mg/kg
E6 Zinc (oxyde)	85	mg/kg
Acides Amin` s		
DL M* thionine 3.1.1.	0.2	p.cent
Monochlorhydrate de L-Lysine 3.2.3	0.1	p.cent

Mode d'emploi

Aliment Complet pour Poulets

A distribuer volont` de 0 10 jours. Passer ensuite l'aliment Croissance. Mettre disposition des animaux une eau de qualit` , temp` r` e et volont` . -

Mentions sp` ciales

(+) Contient des OGM-

Résumé

L'entérite nécrotique chez le poulet est une maladie préoccupante sur le terrain. Elle a fait son apparition avec l'interdiction des antibiotiques facteurs de croissance dans l'aliment.

L'agent pathogène responsable de la maladie est *Clostridium perfringens* mais la pathogénie et les facteurs intervenant dans son développement demeurent méconnus. Ces lacunes rendent difficiles la reproduction expérimentale et l'évaluation de l'efficacité de molécules contre l'entérite nécrotique.

Plusieurs acteurs de la filière entrevoient un effet bénéfique des anticoccidiens ionophores vis-à-vis de l'entérite nécrotique.

Dans ce travail, nous présentons le modèle de reproduction expérimentale de l'entérite nécrotique établi par l'anses en 2009. Ce modèle utilise une co-infection de coccidies avec *Clostridium perfringens*. Les lésions de nécrose sont obtenues après inoculation de faibles doses de coccidies, se développant de façon non clinique, alors que des doses fortes susceptibles d'entraîner une coccidiose ne permettent pas l'apparition des lésions d'entérite nécrotique après administration des clostridies.

Nous avons voulu tester l'effet d'ionophores (narasin et monensin) sur le développement de l'entérite nécrotique avec notre modèle. Il n'y a pas eu de développement de lésions typiques d'entérite nécrotique. Il n'a toutefois pas été possible de conclure sur l'effet direct des ionophores sur l'entérite nécrotique, les produits pouvant avoir agi suffisamment sur les coccidies pour empêcher l'implantation des clostridies.

Afin de lever cette incertitude, nous avons collecté des coccidies sur le terrain, pour sélectionner des isolats résistants aux ionophores testés. Les coccidies sensibles du modèle original ont été remplacées par des coccidies résistantes à deux anticoccidiens ionophores, le narasin et le monensin. Cette étape était nécessaire pour évaluer un rôle direct de ces anticoccidiens sur le contrôle de *Clostridium perfringens*. Les deux anticoccidiens semblent avoir un effet inhibiteur sur l'entérite nécrotique, en réduisant fortement les lésions de nécrose du tube digestif et en préservant des performances zootechniques optimales.

Mots-clés

Entérite nécrotique, modèle expérimental, ionophores, narasin, monensin

Abstract

Necrotic enteritis is a leading intestinal health problem in broiler flocks; some consider it the most clinically dramatic bacterial enteric disease of poultry. She has appeared with the ban on antibiotic growth promoters in feed.

The pathogen causing the disease is *Clostridium perfringens*, but the pathogenesis and the factors involved in its development remain unknown. These gaps make it difficult experimental reproduction and evaluation of the effectiveness of molecules against necrotic enteritis.

In this work we present the model of experimental reproduction of necrotic enteritis developed by handles in 2009. This model uses a co-infection with *Clostridium perfringens* and coccidia. The necrotic lesions were obtained after inoculation with low doses of coccidia, developing a non-clinical disease, while high doses may cause coccidiosis do not allow the occurrence of necrotic enteritis lesions after administration of clostridia. We wanted to test the effect of ionophores (monensin and narasin) on the development of necrotic enteritis with our model. There has been no development of typical lesions of necrotic enteritis. It has not been possible to conclude on the direct effect of ionophores on necrotic enteritis, the products may have done enough to prevent coccidia on the implementation of clostridia.

To address this uncertainty, we collected coccidia in the field, to select resistant isolates tested ionophores. Sensitive coccidia of the original model were replaced with coccidia resistant to two anticoccidial ionophores narasin and monensin. This step was necessary to evaluate a direct role of these anticoccidial Control of *Clostridium perfringens*. Both seem to have anticoccidial an inhibitory effect on necrotic enteritis, greatly reducing the necrotic lesions of the gastrointestinal tract and maintaining optimal animal performance

Keys words

Necrotic enteritis, experimental model, ionophores, narasin, monensin

ملخص

التهاب الأمعاء النخري في الدجاج هو مرض للقلق في هذا المجال. ظهر مع الحظر المفروض على منشطات النمو المضادات الحيوية في العلف. العامل المسبب للمرض هو كلوستريديوم بيرفرينجنز، ولكن المرضية والعوامل التي تدخل في تطوره لا تزال غير معروفة. هذه العيوب تجعل من استنساخ التجربة الصعبة وتقييم فعالية من الجزيئات ضد التهاب الأمعاء نخرية.

عدة ممثلين المجال يرون تأثير مفيد لنوا قل الايونات على كوكسيديوز مع التهاب الأمعاء نخرية.

في هذا العمل نقدم نموذجاً للاستنساخ التجريبي لالتهاب الأمعاء نخرية التي وضعتها anses في عام 2009. هذا النموذج يستخدم أحد المشاركين في الإصابة كوكسيديا مع كلوستريديوم بيرفرينجنز. تم الحصول على أفات نخرية بعد التلقيح مع الجرعات المنخفضة كوكسيديا، والتي لا تؤثر في الحالة السريرية، في حين جرعات عالية قد يسبب كوكسيديوز المرض لا تسمح بحدوث تقرحات الأمعاء نخرية بعد إدارة كلوستريديوم بيرفرينجنز.

أردنا اختبار تأثير لنوا قل الايونات على تطوير التهاب الأمعاء النخري مع نموذجنا. لم يكن هناك أي تطور للأفات نموذجية من التهاب الأمعاء نخرية. لم يكن من الممكن التوصل إلى نتيجة بشأن التأثير المباشر لنوا قل الايونات في الأمعاء نخرية، قد المنتجات وتفضل ما يكفي لمنع أكریات عن تنفيذ المطثيات.

لمعالجة هذه الشكوك، جمعنا كوكسيديا في هذا المجال، لتحديد العزلات المقاومة اختبار لنوا قل الايونات تم استبدال كوكسيديا الحساسة من النموذج الأصلي مع كوكسيديا مقاومة لنوا قل الايونات وكانت هذه خطوة ضرورية لتقييم دور مباشر لهذه النواقل على كلوستريديوم بيرفرينجنز. على حد سواء يبدو أن لنوا قل الايونات لديها تأثير كايح بشكل خاص على الأمعاء نخرية، الحد بصورة كبيرة من أفات نخرية من الجهاز الهضمي، والحفاظ على الأداء الأمثل للحيوان.

المفتاح: التهاب الأمعاء النخري، نموذج تجريبي، يونوفور (نواقل الايونات) مونونسا، ناغاسا.