



Étude du microbiote intestinal du poulet de chair face à différentes conditions de gestion de l'exploitation

Malaurie Chanet

► To cite this version:

Malaurie Chanet. Étude du microbiote intestinal du poulet de chair face à différentes conditions de gestion de l'exploitation. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. dumas-02078842

HAL Id: dumas-02078842

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02078842>

Submitted on 25 Mar 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année universitaire : 2016 - 2018

Spécialité: Master Biologie, Agrosiences

Spécialisation : Sciences de l'animal pour
l'élevage de demain (SAED)

Mémoire de fin d'études

- ☐ d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- ☒ de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- ☐ d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Etude du microbiote intestinal du poulet de chair face à différentes conditions de gestion de l'exploitation

Par : Malaurie Chanet



Soutenu à Rennes le 22 Juin 2018

Devant le jury composé de :

Maître de stage : Jennifer Roux, Provimi-Cargill

Rapporteur : Lucile Montagne, Agrocampus-Ouest

Président : Emmanuelle Moreau, ONIRIS

Examineur : Maryline Kouba, Agrocampus-Ouest

*Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur
et non celle d'AGROCAMPUS OUEST*

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation

«Patrimoine-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France»

disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>



Fiche de confidentialité et de diffusion du mémoire

Confidentialité

☐ Non ☒ Oui si oui : ☐ 1 an ☒ 5 ans ☐ 10 ans

Pendant toute la durée de confidentialité, aucune diffusion du mémoire n'est possible ⁽¹⁾.

Date et signature du maître de stage⁽²⁾ :

A la fin de la période de confidentialité, sa diffusion est soumise aux règles ci-dessous (droits d'auteur et autorisation de diffusion par l'enseignant à renseigner).

Droits d'auteur

L'auteur⁽³⁾ **Chanet Malaurie**

autorise la diffusion de son travail (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

☒ Oui ☐ Non

Si oui, il autorise

☒ la diffusion papier du mémoire uniquement⁽⁴⁾

☒ la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

☒ la diffusion papier et électronique du mémoire (joindre dans ce cas la fiche de conformité du mémoire numérique et le contrat de diffusion)

(Facultatif) ☒ accepte de placer son mémoire sous licence Creative commons CC-BY-NC-Nd (voir Guide du mémoire Chap 1.4 page 6)

Date et signature de l'auteur :

Autorisation de diffusion par le responsable de spécialisation ou son représentant

L'enseignant juge le mémoire de qualité suffisante pour être diffusé (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

☐ Oui ☐ Non

Si non, seul le titre du mémoire apparaîtra dans les bases de données.

Si oui, il autorise

☐ la diffusion papier du mémoire uniquement⁽⁴⁾

☐ la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

☐ la diffusion papier et électronique du mémoire

Date et signature de l'enseignant :

(1) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMBUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

(2) Signature et cachet de l'organisme

(3).Auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

(4) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option)) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé

Remerciements

Je tiens en premier lieu à remercier ma maitre de stage Jennifer Roux pour sa disponibilité tout au long du stage et la confiance qu'elle m'a accordée sur le terrain.

Mes pensées vont ensuite au reste de l'équipe Volaille de Crevin : Michel Richet pour m'avoir confié la mission de ce stage mais aussi à Nathalie Rougiere, Alain Corniaux, Sarah Poirot, Pierre Le Rossignol et Fabien Richard pour avoir facilité mon intégration au sein de l'équipe et mon apprentissage.

Je tenais également à remercier l'ensemble des éleveurs qui m'ont accueilli sur leur exploitation pour ce projet. Des éleveurs passionnés et passionnants avec qui j'ai beaucoup appris.

Je me tourne désormais vers Agrocampus-Ouest : Merci à Maryline Kouba pour avoir accepté d'encadrer ce stage. Je pense que la mission est accomplie à l'heure de rendre ce mémoire de fin d'études. Merci à Lucile Montagne pour ses conseils avisés aussi bien pour mon stage que pour mon insertion professionnelle.

Le service volaille de Cargill n'a pas été le seul à participer au bon déroulement de ce stage. Je dois aussi remercier Côme Guidou et Hombert De Sesmaisons, stagiaires à Cargill, pour leur participation lors des prélèvements cloacaux et leur bonne humeur au quotidien.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont entouré durant ces six mois, sans être particulièrement impliquées dans mon stage mais en participant à la bonne ambiance générale. Je citerai Thomas, Francine, Patrick, Jean-Claude, Manon, Pauline, Ambroise, Anastasia et demande à ceux que j'oublie de m'excuser.

Pour finir et pas des moindres, je souhaiterais remercier l'ensemble de mes proches pour leur soutien tout au long de mes études et particulièrement lors de ce stage. A travers leurs visites, relecture de ce mémoire, questions diverses sur l'élevage de poulets de chair... Ils ont participé à la réussite de ce projet.

Liste des figures

Numéro	Titre	Pagination
1	La consommation de viande en France	1
2	Prix de vente des différentes viandes en France	1
3	Anatomie du tube digestif du poulet de chair	2
4	Rôles des différents compartiments du tube digestif du poulet de chair	2
5	Les différents types de transport transmembranaire	3
6	Abondance des bactéries dans l'iléon et les caeca des poulets de chair	4
7	Vue d'ensemble des bactéries du microbiote intestinal couplé à leurs rôles	5
8	Changement de microbiote intestinal selon l'âge du poulet de chair	6
9	Impact de l'aliment sur la microflore intestinale et les performances zootechniques	6
10	Volcano plot : absence de différence significative entre les mâles et les femelles	7
11	Répartition géographique des exploitations partenaires du projet	9
12	Les six piliers de l'audit d'élevage	9
13	Planning mensuel de l'essai	10
14	Explication d'un volcano-plot type	11
15	Mesure d'ambiance moyenne de 21 à 35 jours pour chaque éleveur	12
16	Mesure en continu de la température ambiante et de l'hygrométrie	12
17	Taux de mortalité et poids vif à 35 jours pour chaque éleveur	13
18	Indice de consommation standardisé pour chaque éleveur	13
19	Cercle des corrélations de l'ACP montrant l'évolution du microbiote intestinal entre 21 et 35 jours	14
20	Abondance des pathogènes pour chaque éleveur entre 21 et 35 jours	15
21	Différence microbienne entre l'EARL Fillon et l'EARL Val de l'ise pour la bactérie <i>Listéria</i> à 21 jours	15
22	Différence microbienne entre l'EARL Fillon et l'EARL Kerongard pour la bactérie <i>Campylobacter</i>	15
23	Composition du microbiote intestinal des poulets de l'EARL Montfort	16
24	Etude du microbiote intestinal du poulet face à différentes conditions d'élevage	19

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Pagination
1	Bilan des familles et des genres bactériens détectés dans le contenu digestif de poulet de chair	4
2	Bactéries présentes en quantité significativement différentes entre 21 et 35 jours	14

Liste des annexes

Numéro	Titre
1	Protocole Cargill pour l'essai sur le microbiote intestinal

Table des matières

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction	1
I. Etude bibliographique	2
I.1 Le tube digestif du poulet de chair	2
I.2 La composition du microbiote intestinal	4
I.3 Les facteurs influençant le microbiote intestinal	5
I.3.1 L'âge du poulet : un microbiote variable entre 7 et 20 jours	5
I.3.2 L'alimentation : un impact significatif sur le microbiote	6
I.3.3 Le sexe : un facteur divisant les scientifiques	7
I.3.4 Conditions d'élevage : un impact sur le microbiote intestinal	8
II. Matériels et méthodes	9
II.1 Audits d'élevages	9
II.2 Prélèvements cloacaux et mesures d'ambiance	9
II.3 Analyse des échantillons	11
II.4 Analyse des résultats	11
III. Résultats	12
III.1 Les mesures d'ambiance dans le bâtiment	12
III.2 Les performances zootechniques	13
III.3. Le microbiote intestinal du poulet de chair	14
III.3.1 Evolution de la composition bactérienne entre 21 et 35 jours	14
III.3.2 Abondance des bactéries pathogènes	15
III.3.3 Analyse de la composition du profil microbien idéal	16
IV. Discussion	17
Conclusion et perspectives	20
Bibliographie	21
Annexes	25
Résumé / Abstract	

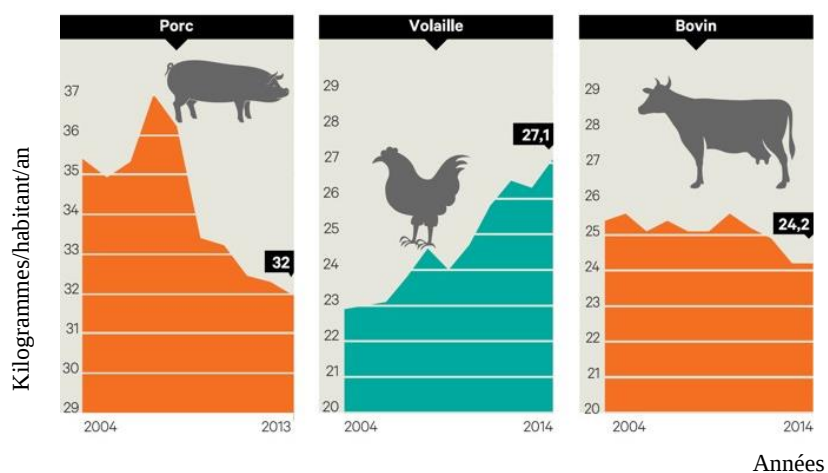


Figure 1 : La consommation de viande en France

Source : Les Echos, 2015

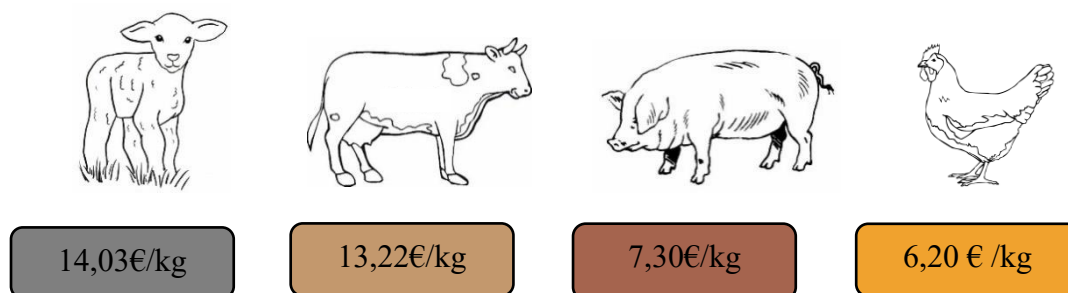


Figure 2 : Prix de vente des différentes viandes en France

Source : Les Echos, 2015

Introduction

D'après l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'organisation de coopération et de développement économique (OCDE), la volaille devrait être la première viande produite et consommée d'ici 2020 (Magdelaine, 2015). Cette augmentation significative de 3% depuis 2010 (Figure 1 ; Les Echos, 2015) s'explique principalement par son faible coût d'achat face aux autres productions (Figure 2). Face à cette demande croissante en poulets de chair, **l'objectif pour la filière avicole est d'élaborer des systèmes d'élevages productifs et durables**. Les études scientifiques en santé humaine ont permis de montrer la véritable richesse que pouvait nous apporter la connaissance du microbiote intestinal pour comprendre la maladie d'Alzheimer, l'obésité ou encore prévenir l'asthme (Marchand, 2015). Face à ces résultats en santé humaine, les chercheurs de la filière avicole ont commencé à étudier le microbiote intestinal du poulet de chair. Sa connaissance devient alors un véritable levier pour améliorer l'efficacité alimentaire des poulets permettant une croissance plus rapide et moins onéreuse grâce à la diminution de la consommation en aliment. Dans un souci de durabilité de l'élevage avicole, la connaissance du microbiote intestinal permettra également d'adapter plus précisément les antibiotiques. La connaissance de la composition du microbiote est rendue possible grâce à l'amélioration des méthodes de séquençage à haut débit. En 2010, le catalogue des gènes du microbiote intestinal de l'Homme a été découvert, suivi en 2015 par ceux de la souris et du porc en 2016 (Xiao, 2016). Quant aux poulets de chair, des études de génotypage sont en cours (INRA, 2017). Des poussins issus du même couvoir avec un aliment identique pourront avoir des performances zootechniques différentes en fin de lot : poids d'abattage, indice de consommation... La réussite en élevage avicole passe par un environnement adéquat avec une bonne gestion de la ventilation permettant de contrôler la qualité de l'air (hydrométrie, gaz, température) ainsi qu'une densité d'élevage permettant la croissance optimale des animaux. L'éleveur doit également faire preuve de prévention, d'observations et assurer le traitement des maladies par des antibiotiques si nécessaire. L'aliment et l'abreuvement restent des facteurs clefs dans la réussite. Le bien-être des oiseaux est vital durant tout le cycle et surtout avant l'abattage. Tous ces facteurs sont interdépendants, de telle sorte que la défaillance d'un seul peut affecter négativement la performance globale.

Dans ce contexte, l'enjeu est d'identifier **quel est le profil microbien idéal pour améliorer les performances zootechniques ? Comment la conduite d'élevage peut impacter la microflore intestinale du poulet de chair ?**

La première partie de ce mémoire recensera l'ensemble des connaissances actuelles sur le microbiote intestinal du poulet de chair. Par la suite, le matériel utilisé ainsi que la méthode de travail seront abordés. La dernière partie de ce mémoire présentera les résultats accompagnés d'une discussion.

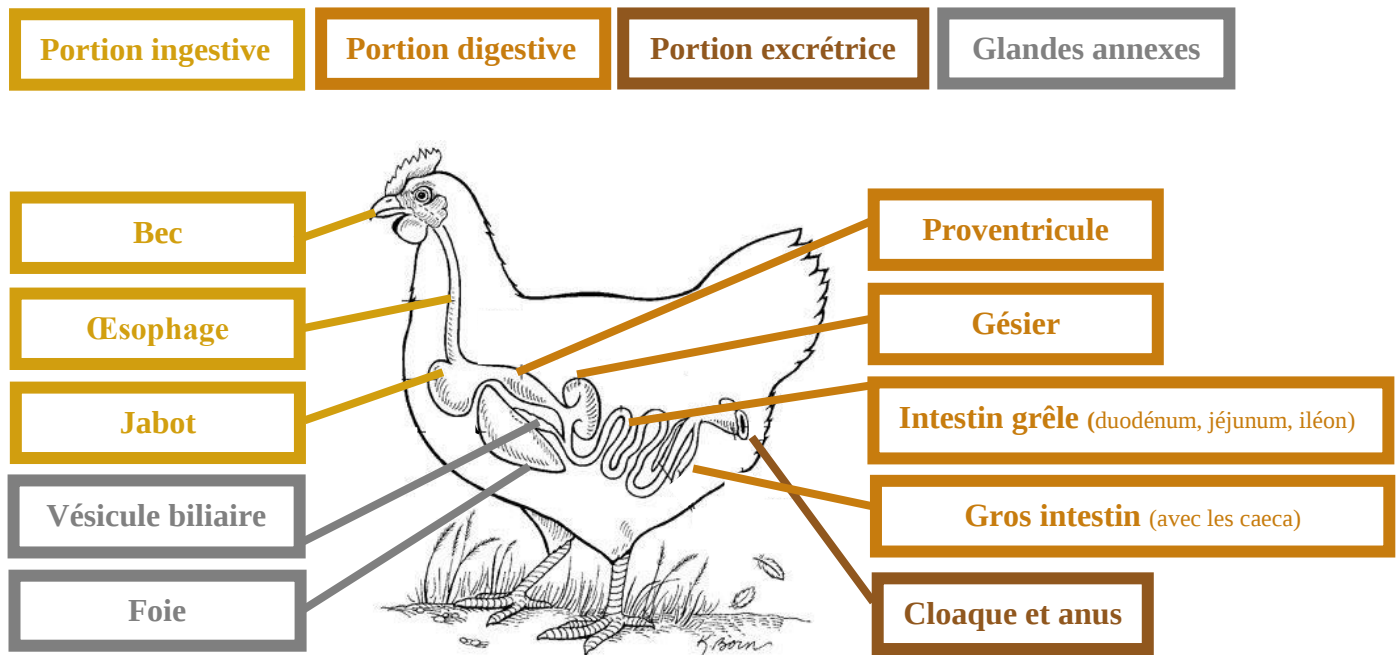


Figure 3: Anatomie du tube digestif du poulet de chair

Source : D'après Bonou, 1987

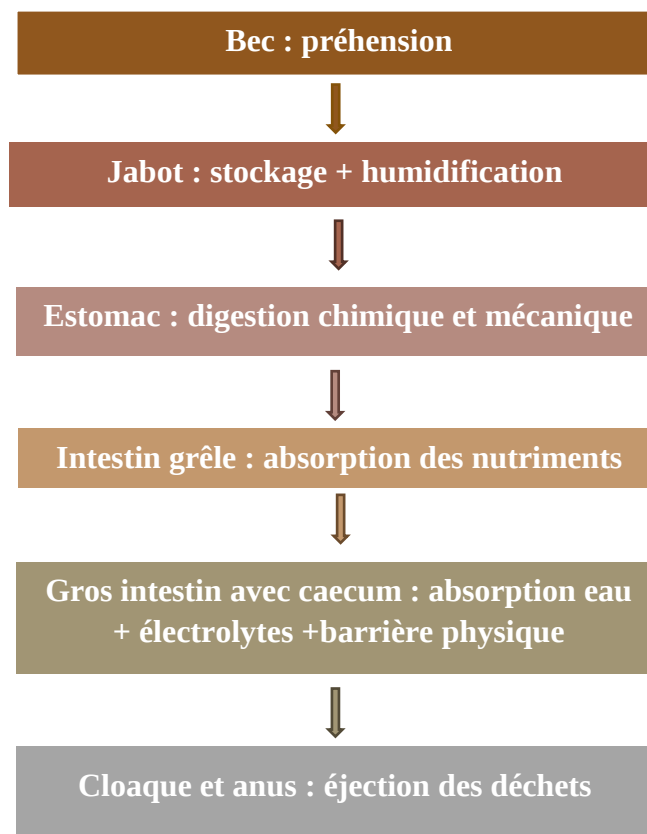


Figure 4 : Rôles des différents compartiments du tube digestif du poulet de chair

Source : D'après Svihus, 2014

I. Etude bibliographique

I.1 Le tube digestif du poulet de chair

Le tube digestif du poulet est un ensemble d'organes sensibles concourant à la digestion. Il mesure 85 cm de long chez le poussin et atteint plus de 2 m chez l'adulte. Ces organes assurent la préhension, le transport et la digestion par un ensemble de phénomènes mécaniques et chimiques au cours desquels les aliments sont transformés en éléments simples assimilables par le sang. Un essai mené par Laplace et Germain (1977) a permis d'estimer la durée de la digestion en ajoutant de l'oxyde de chrome dans l'aliment. Ce dernier a pu être retrouvé dans les fèces 2h30 après l'ingestion et sa quasi-totalité fut récupérée en 24 h. A noter également que la vitesse de transit diminue avec l'âge.

Le tube digestif comprend plusieurs parties. On distingue une portion ingestive comprenant le bec, l'œsophage et le jabot suivie d'une portion digestive avec l'estomac et l'intestin. L'éjection des déchets se fait par le cloaque et l'anus (Figure 3).

Portion ingestive : L'aliment avalé sans aucun traitement mécanique (absence de dents) peut pénétrer directement dans le jabot, organe de stockage pour les animaux avec une alimentation discontinue (Figure 4 ; Svihus, 2014). Nourri *ad libitum*, l'aliment peut passer directement au proventricule ou au gésier lorsque cette partie du tube digestif est vide (Svihus *et al.*, 2010). Au lieu de stocker les aliments dans le jabot, les poulets consomment de petits repas environ toutes les demi-heures (Svihus *et al.*, 2012). Le jabot, lieu de sécrétion du mucus, permet d'hydrater le bol alimentaire facilitant ainsi la digestion enzymatique en aval dans le tube digestif. L'humidité peut atteindre 50% en 60 minutes (Figure 4 ; Svihus *et al.*, 2010).

Portion digestive : Le proventricule et le gésier sont les deux compartiments de l'estomac (Figure 3). D'une part, dans le proventricule, les cellules pariétales des puits de l'estomac sécrètent de l'acide chlorhydrique qui transforme le pepsinogène en pepsine, enzyme active capable de décomposer les protéines en peptides. D'autre part, le gésier a une fonction importante dans le broyage des aliments. Il contient des muscles fortement myélinisés et possède une couche de koiline (couche de glycoprotéines) qui facilitera le processus de broyage grâce à sa surface semblable à du papier de verre (Svihus, 2011).

L'intestin du poulet est divisé en deux parties distinctes : l'intestin grêle et le gros intestin (Figure 3). L'intestin grêle est le site de la plupart des digestions et de pratiquement toute l'absorption des nutriments (Figure 4). L'absorption des nutriments représente le passage des nutriments du tube digestif vers le sang. Pour passer de la lumière du tube digestif au sang, les nutriments doivent traverser les cellules qui bordent l'intestin : les entérocytes (ou cellules épithéliales). La membrane cellulaire est formée d'une double couche lipidique.

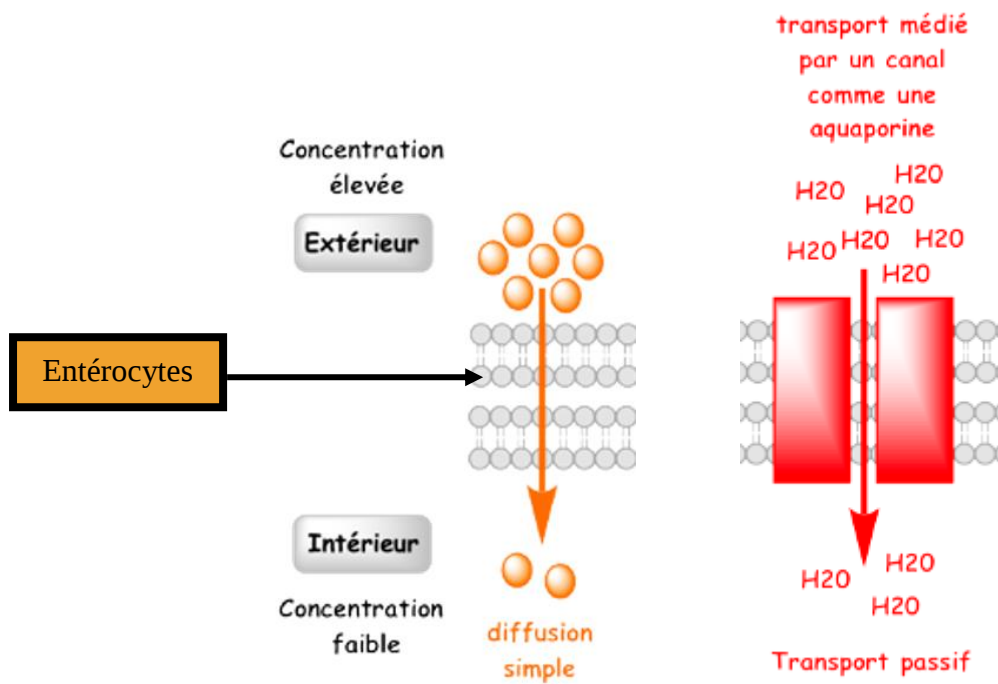


Figure 5 : Les différents types de transport transmembranaire

Source : Université Angers, 2005

Deux types de transports sont disponibles. Le premier, la diffusion simple permet une absorption des molécules type acides gras, eau, vitamines liposolubles selon le gradient de concentration. Le deuxième, le transport passif permet l'absorption grâce à un transporteur comme l'aquaporine pour l'eau (Figure 5 ; Université Angers, 2005).

L'intestin grêle comprend : le duodénum, le jéjunum et l'iléon (Figure 3)

- Au sein du duodénum, le contenu acide du gésier est mélangé aux sucs biliaires et pancréatiques. Par conséquent, le PH monte rapidement à un niveau supérieur à 6 et le processus de digestion commence (Svihus, 2014).
- Le jéjunum a un rôle clé car tous les principaux nutriments sont digérés et absorbés dans cette partie du tube digestif. Le temps de rétention dans ce segment est habituellement de 40 à 60 minutes seulement (Weurding *et al.*, 2001).
- L'iléum, dernier segment de l'intestin grêle, joue un rôle dans l'absorption de l'eau et des minéraux. Il a été démontré que l'iléon peut jouer un rôle important dans la digestion et l'absorption de l'amidon dans les poulets de chair à croissance rapide. La digestibilité de l'amidon des régimes de blés augmente de 81 à 98% de l'iléon aux excréta (Svihus, 2014). Svihus *et al.* (2004) ont observé une augmentation de la digestibilité de l'amidon de 91 à 99% du tiers antérieur au tiers postérieur de l'iléon.

Le gros intestin, très faiblement représenté en volaille (seulement quelques centimètres), est relié à deux caeca qui représentent une particularité morphologique chez le poulet. Le rôle principal du caecum est d'absorber l'eau et les électrolytes encore présents après la digestion et l'absorption, réalisées dans l'intestin grêle. On note aussi un rôle de barrière pour éviter la contamination de l'intestin grêle par les bactéries présentes dans le colon (Thomas, 1982).

Portion excrétoire : Les déchets issus de cette digestion sont expulsés par le cloaque et l'anus. Le cloaque est un organe en forme de canal, clos par le sphincter anal. La portion éjective du tube digestif est représentée essentiellement par le cloaque dans lequel débouchent le rectum, les conduits urinaires et les conduits génitaux. Le cloaque s'ouvre à l'extérieur par l'anus. Il est formé de trois segments : le coprodeum, l'urodeum et le proctodeum (Bonou, 1987). Le coprodeum est le segment supérieur du rectum. C'est là que s'accumulent les fèces et l'urine avant leur émission. L'urodeum est le segment moyen du cloaque, où débouchent les deux uretères ainsi que les deux canaux déférents chez les mâles ou l'oviducte chez les femelles. Le proctodeum est le segment inférieur ou caudal du cloaque. Il contient le pénis (chez les espèces dotées de cet organe copulateur) fixé sur sa paroi ventrale chez les jeunes oiseaux, le proctodeum est relié dorsalement à la bourse de Fabricius avec laquelle il peut communiquer par un canal.

Le cloaque s'ouvre à l'extérieur par l'orifice cloacal : anus, fente verticale fermée par deux lèvres horizontales dont la musculature, comme celle des parois du cloaque, est striée (Bonou, 1987).

La santé du tube digestif est nécessaire pour obtenir de bonnes performances de croissance et de bons indices de consommation. Elle dépend de l'équilibre de la flore intestinale et de son entretien.

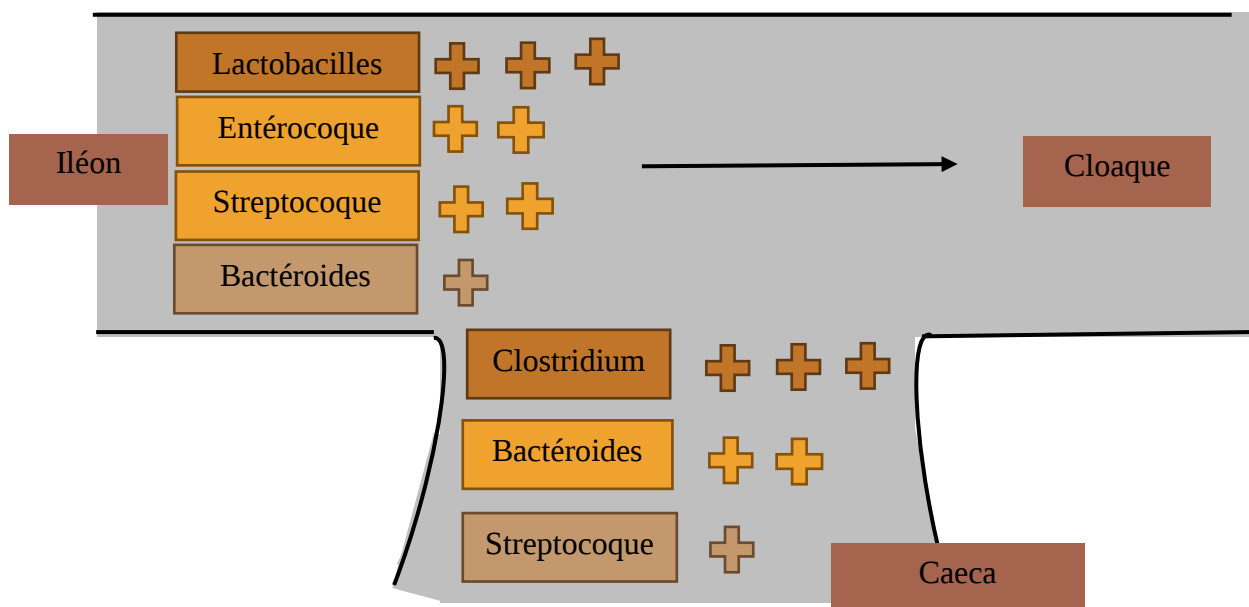


Figure 6 : Abondance des bactéries dans l'iléon et les caeca des poulets de chair

Source : D'après Bailey, 2012

Tableau 1 : Bilan des familles et des genres bactériens
détectés dans le contenu digestif de poulet de chair

		Localisation	Iléon		Caeca			
Division	Classe	Référence	Lu <i>et al.</i> , 2003	Bjerrum <i>et al.</i> , 2006	Lu <i>et al.</i> , 2003	Zhu <i>et al.</i> , 2002	Bjerrum <i>et al.</i> , 2006	Lan <i>et al.</i> , 2002
		Famille	Identification (en %)					
Ac	A	Bifidobactérium	0.2					
	B	Bactéroides	0.6		5	2.2	4.4	4.0
F	F	Flavobactérium			0.2			
Firmicutes	Bacilli	Bacillus	0.7		1.5			3.0
		Enterococcus	6.4	0.7	1.0		1.3	
		Lactobacillus	67.6	93.8	7.8	3.9	5.3	24
		staphylococcus	1	0.7				
		streptococcus	6.6	3.5	0.7		0.9	
		Weissella	1.1		0.5			
	Clostridia	Clostridium	9.7		39.3	9.5	62.4	55
		Eubactérium	0.7		9.9		15.5	
		Faecalibacterium	0.7		13.9			
		Ruminococcus	0.4		16.5			
		Sporomusa		1.4		84.4	4.9	

F Flavobacteria

Bact Bacteroidetes

Ac Actinobacteria

B Bacteroidetes

A Actinobacteria

Source : D'après Lu *et al.*, 2003, Zhu *et al.*, 2002, Bjerrum *et al.*, 2006, Lan *et al.*, 2002

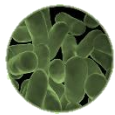
I.2 La composition du microbiote intestinal

L'intestin héberge une communauté microbienne appelée microbiote intestinal. La muqueuse intestinale, à l'interface entre l'hôte et son microbiote, assure des fonctions vitales dans l'absorption des nutriments, dans l'équilibre immunitaire et dans la dynamique adaptative au cours de la vie (Rogel-Gaillard, 2013). Les premières bactéries proviennent du couvoir, de l'environnement de l'élevage ou peuvent être transmises par les parents (Bailey, 2012). Le microbiote digestif du poulet reste en partie méconnu. La flore digestive comprendrait une trentaine de genres subdivisés en espèces et souches, pour un total d'au moins 200 types différents. Lactobacilles, entérocoques, coliformes, levures, clostridies, streptocoques en sont les principaux constituants (Le Douarin, 2003). Sa composition varie tout au long du tube digestif. Chez les animaux d'élevage, les compartiments digestifs les plus étudiés sont ceux pour lesquels la richesse bactérienne est la plus grande et l'impact de la composition de l'aliment le plus fort : iléon et caeca (Calenge *et al.*, 2014).

Intestin grêle - iléon : L'intestin grêle du poulet est composé à 92% de bactéries, 0,4% d'archées, 4,2% d'eucaryotes et 3,8 % de virus (Gabriel, 2014). Il est constitué principalement de bactéries produisant de l'acide lactique (*Lactobacillus* et *Enterococcus*) (Figure 6 ; Bailey, 2012). Lu *et al.* (2003) ont mis en évidence la présence de 67.6% de *Lactobacillus* dans l'iléon. Les résultats de Bjerrum *et al.* (2006) ont validé la prédominance de cette bactérie avec une composition de 93.8%. *Enterococcus* est présent dans l'iléon à 6.4% pour Lu *et al.* (2003) contre 0.7% pour Bjerrum *et al.* (2006). La présence de *bifidobactérium* est nulle pour Bjerrum *et al.* (2006) et noté à 0.2% pour Lu *et al.* (2003) (Tableau 1).

Gros intestin - Caeca : Les caeca regroupent 98% de bactéries, 2% d'archées, 2,1% d'eucaryotes et 0,3 % de virus. Les études montrent $7,7 \times 10^{12}$ bactéries pour un poulet Ross de 21 jours (Gabriel, 2014). Le microbiote intestinal évolue au cours de la vie de l'animal. Durant le jeune âge, on retrouve les bactéries produisant de l'acide lactique (*Lactobacillus* et bactéroïdes). Sur des poulets plus âgés, les bactéries fermentatrices (clostridia and bactéroïdes) sont dominantes (Figure 6 ; Bailey, 2012). Des études plus approfondies sur les caeca (Lu *et al.*, 2003, Zhu *et al.*, 2002, Bjerrum *et al.*, 2006, Lan *et al.*, 2002) ont validé la dominance des bactéries clostridia et bactéroïdes. La présence de streptocoques est nulle pour Zhu *et al.* (2002) et Lan *et al.* (2002). Avec une composition respective de 0.7 et 0.9%, la concentration en streptocoque reste faible dans les caeca pour Lu *et al.* (2003) et Bjerrum *et al.* (2006) (Tableau 1).

La différence bactérienne entre l'iléon et le caeca s'explique par la quantité d'oxygène présente. L'oxygène qui a presque disparue dans l'intestin grêle, est remplacé par de l'hydrogène et de l'acide carbonique. Dans les caecum, l'hydrogène carboné et l'hydrogène sulfuré s'ajoutent indiquant la présence de fermentation. De plus, la faible fréquence de renouvellement du contenu des caeca, seulement 1 à 2 fois par jour (Gabriel *et al.*, 2005) explique la présence de bactéries anaérobies strictes comme les clostridies. Quant à l'intestin grêle, il regroupe principalement des bactéries anaérobies facultatives comme *Lactobacillus*.



Bactéries positives

Lactobacille

Capable fermenter les sucres en acide lactique. Rôle: stimulation des fonctions immunes.

Bifidobacteria

Aide à la digestion et / ou à l'absorption des ingrédients alimentaires
Inhibition de la croissance de bactéries exogènes et / ou nocives
Stimulation des fonctions immunes

Eubactérie

Aide à la digestion et / ou à l'absorption des ingrédients alimentaires
Synthèse de vitamines
Stimulation des fonctions

Entérocoque

Pathogène opportunistes entraînant boiteries, hétérogénéité, nécroses.
Inhibition de la croissance de bactéries exogènes et / ou nocives

Bactéroïde

Production de cancérigène
Putréfaction intestinale
Synthèse de vitamines
Aide à la digestion et / ou à l'absorption des ingrédients alimentaires

Clostridia

Clostridium perfringens peut causer une entérite nécrotique
Clostridium spp. peut produire du butyrate

Streptocoque

Pathogène : anorexie, léthargie, diarrhée, boiterie...
Inhibition de la croissance de bactéries exogènes et / ou nocives

Escherichia coli

Diarrhées, augmentation crises cardiaques, infection voies respiratoires



Bactéries négatives

Staphylocoque

Infection opportuniste qui se manifeste surtout au niveau locomoteur.
Baisse des performances zootechniques,
Augmentation des saisies
Danger pour l'Homme.

Figure 7: Vue d'ensemble des bactéries du microbiote intestinal couplé à leurs rôles

Source : D'après Gibson et Roberfroid, 1995

Le microbiote peut jouer un rôle important dans la santé de son hôte. Le microbiote idéal est celui dans lequel les souches dites bénéfiques, prédominent sur les espèces potentiellement nuisibles (Figure 7). On attribue aux bifidobactéries et lactobacilles différentes fonctions bénéfiques pour la santé telles que la production d'acide gras à chaîne courte qui acidifient le contenu des intestins, l'immunostimulation et les effets inhibiteurs sur la croissance des bactéries nocives (Gibson et Roberfroid, 1995).

D'autres espèces de bactéries potentiellement présentes dans le microbiote intestinal peuvent avoir des actions néfastes comme *Escherichia coli* (E. coli), qui peut provoquer des colibacilloses. Dans des conditions normales, la bactérie E. coli n'est pas en elle-même nocive. Cette affection peut se déclarer à la suite d'une baisse de l'immunité pouvant être due à un passage viral ou de mauvaises conditions environnementales entraînant une perte de poids, voir une augmentation des mortalités (Stordeur et Mainil, 2001). La voie d'entrée principale de l'agent pathogène est le tractus digestif via l'inhalation de particules de poussières contaminées par des E. coli. Celles-ci peuvent provenir des excréments du tube digestif d'animaux porteurs sains par exemple. Les bactéries se multiplient dans le tractus respiratoire supérieur. Elles colonisent les voies respiratoires profondes grâce à leur facteur d'adhésion. Elles atteignent le compartiment sanguin et colonisent ainsi les organes profonds (foie, intestins...) (Avicampus, 2008). De très nombreux facteurs déclencheurs peuvent rompre cet équilibre. Citons parmi ces facteurs : les stress environnementaux (froid, chaud, ventilation, poussières...), les interventions sanitaires (vaccins) ou les erreurs d'élevage (exemple rupture d'aliment). Les colibacilloses sont sans doute les infections bactériennes les plus fréquentes et parmi les plus importantes en pathologie aviaire. En effet, elles peuvent entraîner la mortalité, les baisses de performances et les saisies à l'abattoir. Cette maladie représente l'une des plus importantes pertes économiques dans le secteur avicole et constitue l'un des motifs de saisie les plus fréquents à l'abattoir (Stordeur et Mainil, 2001).

I.3 Les facteurs influençant le microbiote intestinal

I.3.1 L'âge du poulet : un microbiote variable entre 7 et 20 jours

Le microbiote du poulet se développe en quelques jours. Le jabot est colonisé en 24 heures. Un jour après l'éclosion, l'iléon et les caeca sont tous les deux envahis par les bactéries. Après 3 jours, le niveau de colonisation est multiplié par 10. En 2 semaines, la flore du petit intestin sera établie (Bailey, 2012). Ainsi, le microbiote intestinal du poulet se développerait entre 1 et 11 jours (Van der Wielen *et al.*, 2009) du 1^{er} au 19^{ème} jour de la vie (Crhanova *et al.*, 2011). L'ensemble de la bibliographie présente sur le microbiote intestinal indique une diversité microbienne très importante entre 1 et 20 jours. Ces études avaient pour objectif de créer un modèle de la composition du microbiote intestinal en séquençant l'ensemble des espèces de bactéries présentes pour fournir une liste complète. Par ailleurs, il est important de noter que la variation individuelle de la composition microbienne diminue quand les poulets vieillissent (Crhanova *et al.*, 2011).

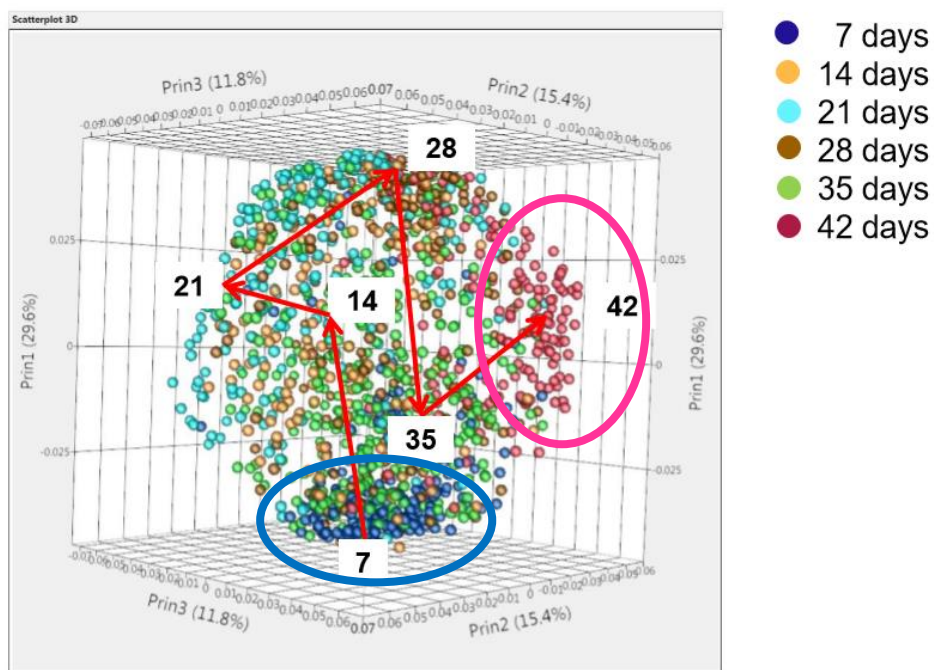


Figure 8 : Changement de microbiote intestinal selon l'âge du poulet de chair

Source : Cargill, 2017

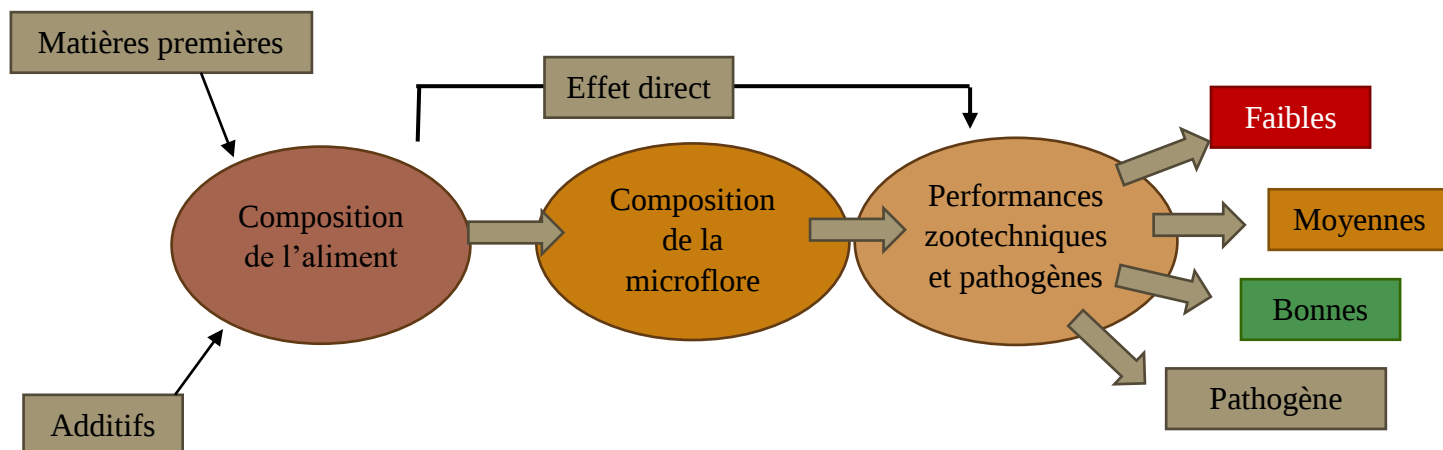


Figure 9: Impact de l'aliment sur la microflore intestinale et les performances zootechniques

Source : d'après Cargill, 2017

Des études antérieures menées par Cargill (2017) sur le microbiote intestinal ont permis de créer une liste fixe de 100 bactéries influençant les performances zootechniques. Cette liste fut obtenue à partir de différents prélèvements cloacaux (5492 échantillons, 7 pays: Etats-Unis, Pays-Bas, Pologne, France, Inde, Espagne, Brésil, 17 régions et 25 lots) et grâce à un modèle d'intelligence artificielle. La figure 8 présente l'évolution microbienne de 7 à 42 jours pour les 5492 échantillons étudiés préalablement. Un point représente un poulet à un âge précis. L'ensemble des animaux analysés à 7 jours (en bleu foncé) présente un microbiote intestinal semblable. Un résultat similaire est obtenu à 42 jours (en rose). La faible variation microbienne entre les individus à même âge donné ne permettait pas d'expliquer les différences de performances zootechniques. A contrario, à 14, 21, 28 et 35 jours la variation microbienne entre les poulets d'un même âge est importante, rendant l'analyse de la microflore intéressante pour les 100 bactéries de la liste fixe influençant les performances zootechniques.

1.3.2 L'alimentation : un impact significatif sur le microbiote

Dès la première ingestion d'aliments, on observe une forte augmentation du nombre de bactéries dans l'intestin du poulet. Chez les jeunes poussins, le retard dans l'accès à l'alimentation influe sur le développement de la surface intestinale et donc potentiellement sur la composition des microbiotes (Kers *et al.*, 2018). La flore digestive peut être modifiée par le type de céréales, en particulier la présence de polysaccharides non amylacés hydrosolubles. Une augmentation des bactéries de type lactobacillus et coliformes, bactéries anaérobies facultatives est observée avec un régime à base de blé et d'orge au lieu de maïs. Quant à la granulation de l'aliment, elle entraîne d'après Engberg *et al.* (2002) une augmentation des coliformes et des entérocoques dans l'iléon. Dans les caeca on note une baisse de *Clostridium perfringens* et des lactobacillus. L'origine des matières grasses, de l'amidon ou des protéines peuvent modifier la flore intestinale tout comme les minéraux et les vitamines. Les enzymes alimentaires comme la xylanase et la β -glucanase, augmentent les bactéries lactiques intestinales et diminuent la population de bactéries nuisibles et pathogènes comme *E. coli*. L'ajout d'huiles essentielles dérivées de plantes a également été utilisé pour protéger les poulets contre les maladies entériques. Par exemple, on a démontré que l'aldéhyde cinnamique (un dérivé de plante) était efficace pour réduire la colonisation de *Salmonella Enteritidis* chez des poulets de chair âgés de 20 jours (Kollanoor *et al.*, 2012). Les prébiotiques sont des glucides indigestes qui stimulent la fermentation des bactéries probiotiques. L'ajout de galacto-oligosaccharides favorisait la croissance des bifidobactéries dans le tractus gastro-intestinal des poulets (Jung *et al.*, 2008). Les mannanoligosaccharides sont d'autres prébiotiques utilisés dans l'industrie avicole pour entraver la colonisation de ces bactéries par certains pathogènes, en particulier les salmonelles Typhimurium (Spring *et al.*, 2000). Le régime alimentaire est le facteur ayant le plus grand impact sur le microbiote intestinal des volailles et les performances zootechniques (Figure 9).

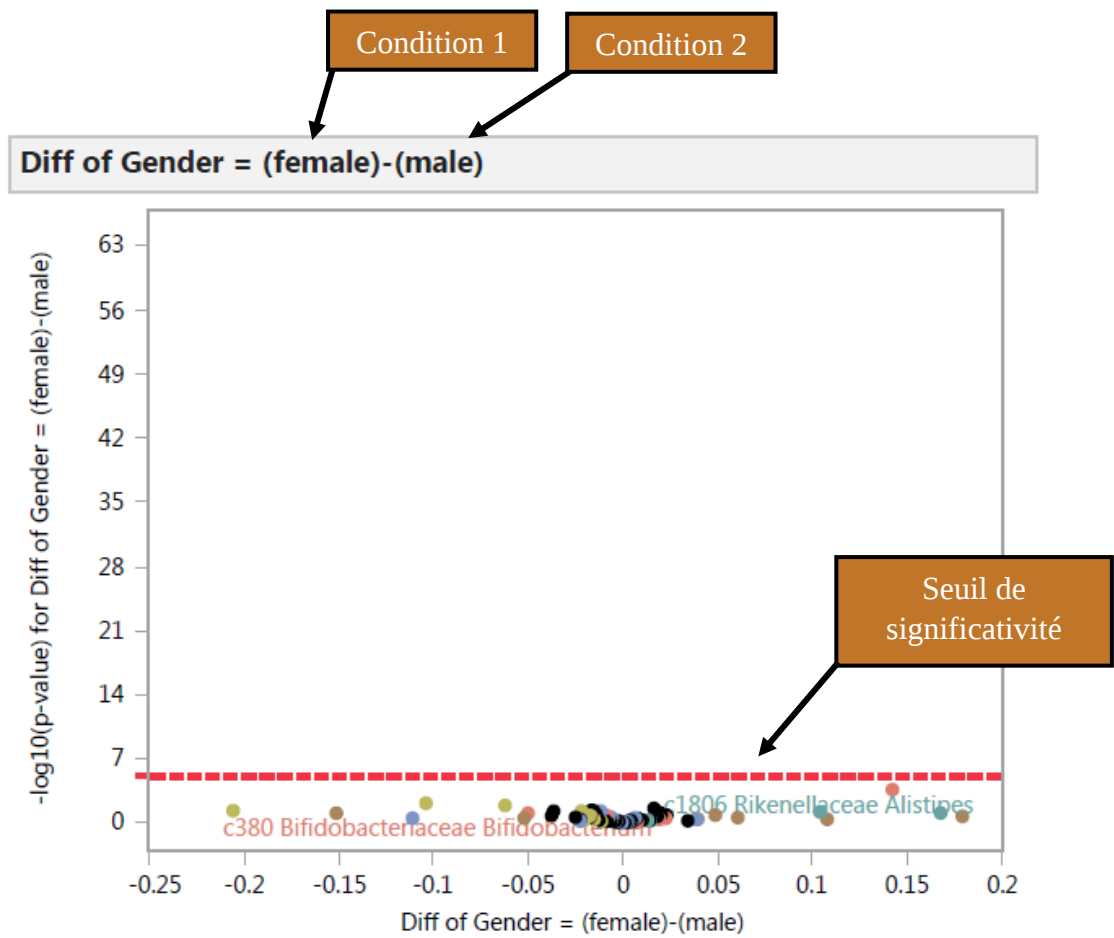


Figure 10 : Volcano plot : absence de différences significative entre les mâles et les femelles

Source : Cargill, 2017

L'ajout d'antibiotiques dans le régime alimentaire avicole peut inhiber la croissance des agents pathogènes entériques, réduire l'incidence de la maladie et favoriser la croissance des poulets. Néanmoins, il reste important de prendre en compte la préoccupation croissante sur la résistance généralisée aux antibiotiques et le souhait de créer des élevages plus durables. Par exemple, après l'interdiction d'un antibiotique, l'entérite à nécrose induite par *Clostridium perfringens* est devenue l'une des maladies émergentes les plus perceptibles chez les poulets de chair en Europe (Van Immerseel *et al.*, 2002).

I.3.3 Le sexe : un facteur divisant les scientifiques

Gabriel (2011) a mené une étude sur 200 poulets répartis également entre mâles et femelles. A 23 jours, des prélèvements des contenus digestifs et des muqueuses ont été effectués dans le caecum et l'iléon. L'observation des profils microbiens ne montre aucun effet du sexe sur la composition du microbiote intestinal du poulet de chair.

Une seconde étude analysant l'effet du sexe sur la communauté bactérienne dans le tractus gastro-intestinal, menée par Lumpkins *et al.* (2008) a obtenu des résultats différents. A 3,7,14 et 21 jours, des poulets ont été sélectionnés aléatoirement et des prélèvements au niveau de l'iléon ont été réalisés. Les analyses statistiques indiquent qu'il existe seulement 30% de similitude entre les mâles et les femelles. La raison de cette différence n'est pas approfondie dans cette étude.

Les études menées par Cargill (2017) depuis plusieurs mois ont permis de mettre en avant l'absence de différence significative entre le microbiote intestinal des poulets de chair de sexe mâle ou femelle. Dans plusieurs exploitations, des prélèvements cloacaux ont été réalisés au niveau des mâles et des femelles issus du même bâtiment. L'analyse statistique a permis de mettre en place un volcano plot (Figure 10) comparant deux conditions comme le sexe : mâle ou femelle sur un élevage. Une bactérie avec une p. value faible est significativement différente entre les mâles et les femelles et se situe au-dessus du seuil de significativité à 0.001. Une différence entre les femelles et les mâles supérieure à zéro placera la bactérie à droite du graphique et l'associera à la condition 1, ici les femelles.

I.3.4 Conditions d'élevage : un impact sur le microbiote intestinal

Des animaux issus du même couvoir et consommant le même aliment, peuvent présenter des différences au niveau du microbiote intestinal du fait d'une gestion différente des élevages (Gabriel *et al.*, 2005 ; Apajalahti *et al.*, 2001). Différents facteurs, propre à la gestion de l'exploitation, peuvent impacter la composition du microbiote intestinal. Une étude menée par Guardia (2011) a montré l'impact de la densité sur les performances et la communauté bactérienne intestinale. Deux densités d'élevages sont étudiées : 12 ou 17 poulets/m² sur des poulets Ross PM3 de sexe mâle. Le microbiote digestif est analysé tout le long du tube digestif : jabot, iléon, caecum. A 21 jours, la densité d'élevage influence fortement le profil du microbiote intestinal (principalement dans le jabot et le caecum). Dans les caeca, on observe une diminution des bactéries de 37% avec une densité plus faible : *E. coli* diminue de 76% et les bactéroïdes de 37%. Le même résultat est observé à 42 jours avec un effet moins marqué.

Dans l'élevage avicole, la litière est un mélange de matières fécales et de litière compostée, majoritairement de la paille broyée finement. La litière est un facteur environnemental important puisque les poulets picorent et fourragent dans la litière. Selon le type de litière, la qualité de la litière et son management, la composition bactérienne des poulets varie. Il a été démontré que la litière type peut affecter le microbiote. Par exemple, les oiseaux élevés sur de la sciure de bois résineux par rapport à la paille hachée montraient une différence significative dans la composition du microbiote à 28 jours (Torok *et al.*, 2009). La qualité de la litière peut impacter le microbiote. Une teneur en humidité plus élevée de la litière sous les lignes d'eau provoque une plus grande diversité de microbiotes (Dumas *et al.*, 2011).

La température ambiante est un facteur à gérer avec beaucoup de précision dans l'élevage. Le stress thermique semble augmenter la présence des bactéries néfastes pour le poulet de chair. On note la présence de parasites intestinaux comme les coccidies, entraînant la dégradation de la muqueuse intestinale (Suzuki *et al.*, 1989).

Les bonnes performances d'un lot de volailles passent par une eau de boisson de qualité. Acidifier l'eau permet de favoriser la flore lactique des volailles. Les principaux germes pathogènes (*Streptocoques*, *E. coli*, *Salmonelles*, *Clostridium perfringens*) ont besoin d'un pH relativement basique et supérieur à 6. La flore bénéfique (*Lactobacillus*) se développe dès un pH de 4 ou 5 (Gabriel, 2014).

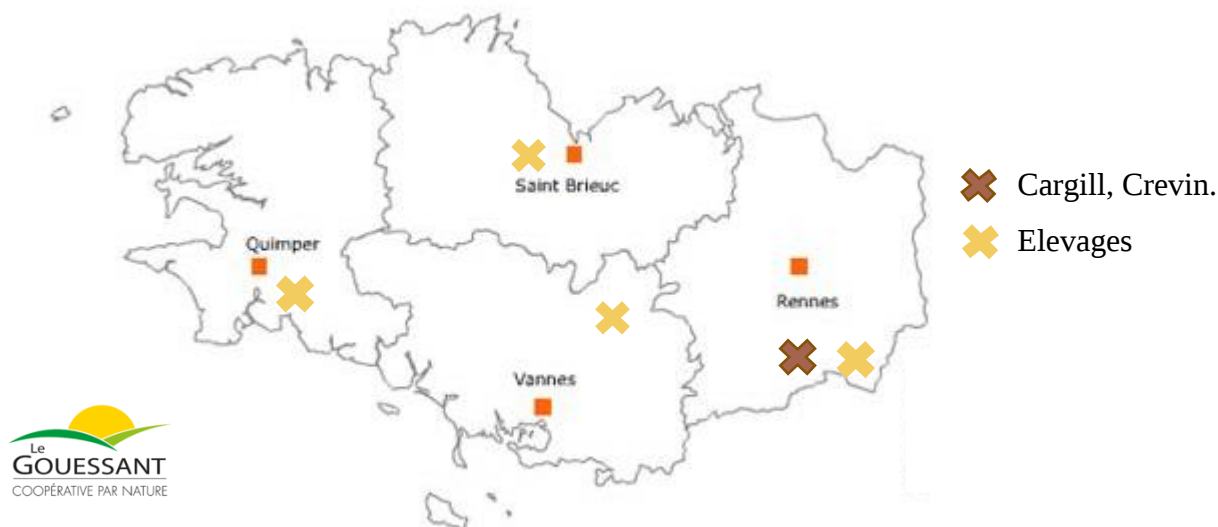


Figure 11 : Répartition géographique des exploitations partenaires du projet

Source : Chanet, 2018

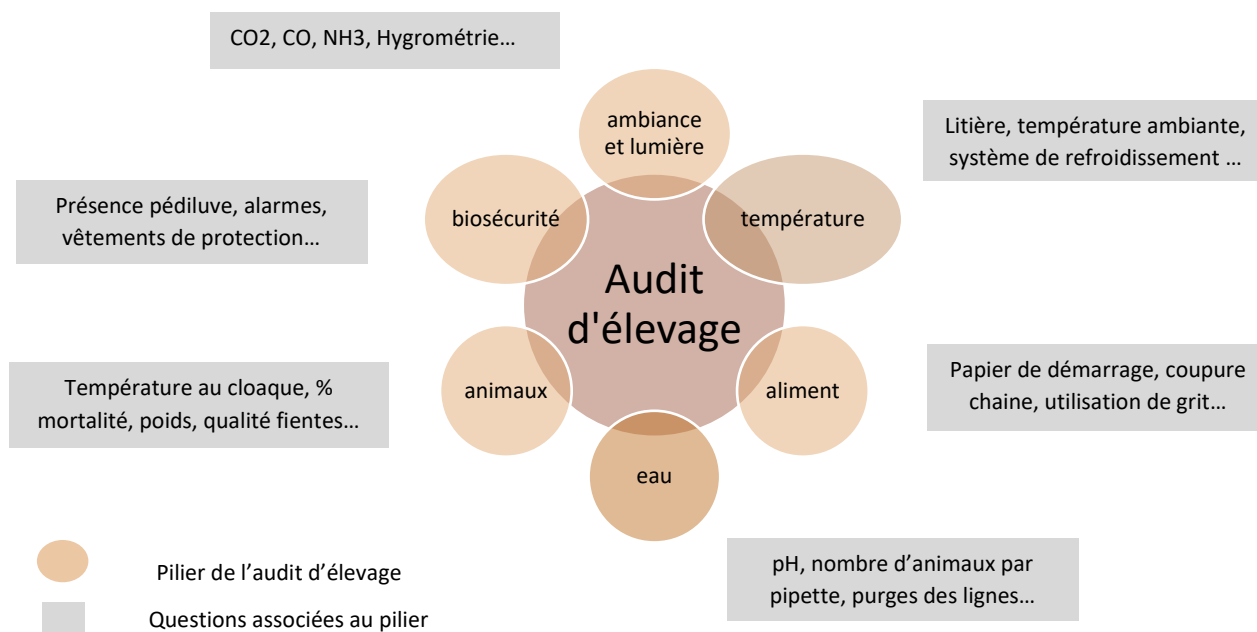


Figure 12 : Les six piliers de l'audit d'élevage

Source : Chanet, 2018

II. Matériels et méthodes

Ce projet fût mené en collaboration avec le Gouessant, une coopérative agricole bretonne. Les activités du groupe sont diverses :

- Conception et fabrication d'aliments pour animaux.
- Commercialisation des productions animales (porcs, volailles et œufs).
- Production végétales : suivi et collecte.
- Accompagnement et conseil aux agriculteurs.

Les aliments constituent la première activité du Gouessant avec une production de 830 000 tonnes, toutes espèces confondues. Il s'appuie sur 8 sites de production. Cette coopérative a proposé un panel d'éleveurs hétérogènes. L'objectif étant d'avoir des conditions de gestion des bâtiments très différentes entre les éleveurs pour obtenir des microbiotes intestinaux également très différents. Au total, quatre exploitations situées en Bretagne et produisant des poulets lourds, ont participé à l'essai (Figure 11).

II.1 Audits d'élevages

Chaque exploitation a fait l'objet d'un audit, d'une durée de 2 heures, permettant d'analyser la conduite de l'élevage. Pour uniformiser les résultats, tous les entretiens ont été réalisés avec les éleveurs ayant des lots de poulets âgés de 10 à 15 jours. La première partie de l'audit permet de collecter des données propres à l'élevage ainsi que les performances de l'organisme de production. La seconde partie permet d'obtenir différentes informations sur les conditions d'élevage comme la qualité de l'air. Les questions sont réparties suivant six piliers : la biosécurité, l'ambiance et la lumière, la température, l'eau, l'aliment et les animaux (Figure 12). Les questions en lien avec les mesures d'ambiance (température ambiante, température de la litière, qualité de l'eau) ont fait l'objet d'une vérification grâce la sonde KIMO mis à disposition par Cargill. Ce logiciel permet d'interpréter les résultats des prélèvements cloacaux avec une meilleure connaissance du fonctionnement de l'exploitation.

II.2 Prélèvements cloacaux et mesures d'ambiance

Pour éviter toute variation d'ordre génétique et alimentaire, toutes les exploitations produisent du poulet de souche Ross 308 nourri avec un régime alimentaire commun. Les échantillons intestinaux des poulets ne peuvent être obtenus qu'après autopsie. Par conséquent, une méthode d'échantillonnage moins invasive a été préférée: le prélèvement au niveau du cloaque grâce à des écouvillons.

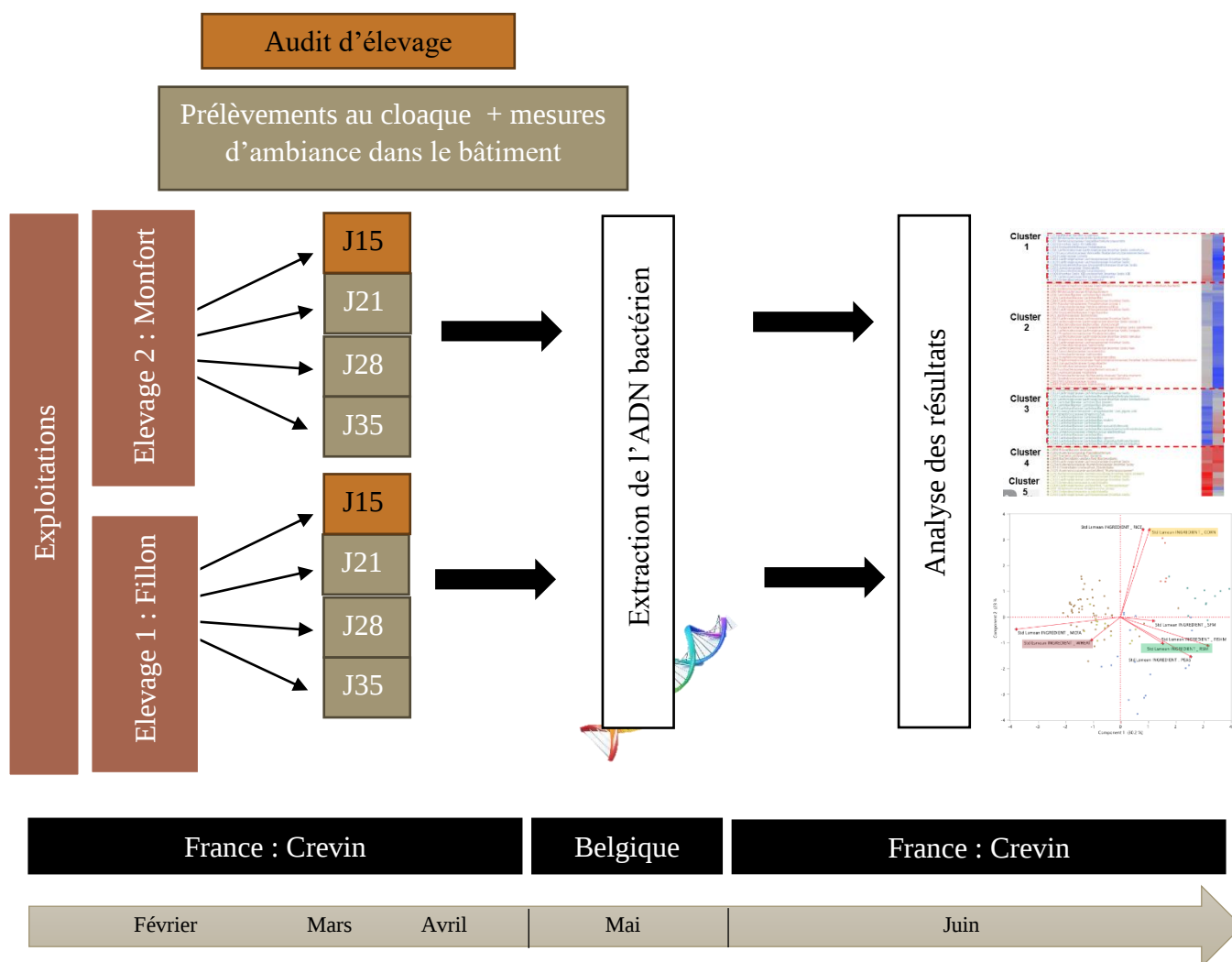


Figure 13 : Planning mensuel de l'essai

(Même schéma pour les deux autres exploitations : Kerongard et Val de l'ise)

Source : Chanet, 2018

L'essai étant réalisé dans des élevages de poulets lourds et sans effet du sexe (Gabriel, 2011 ; Cargill, 2017), seuls les mâles ont été prélevés. Le protocole (Annexe 1) stipule des prélèvements cloacaux à 21, 28 et 35 jours (Figure 13). Après une discussion avec l'ensemble de l'équipe, la proposition de réaliser des prélèvements à 14 jours n'a pas été retenue au regard des essais antérieurs réalisés par Cargill sur le microbiote intestinal.

Pour chaque exploitation et chaque âge, vingt poulets ont été prélevés, nombre minimum permettant d'avoir une différence statistique significative. On réalisera un total de 240 prélèvements. Les animaux ont été choisis aléatoirement mais les individus malades (boiteries, poids hétérogènes...) ont été retirés de l'expérience car leur microbiote intestinal est considéré comme différent. Les animaux sous traitement antibiotique ont été acceptés mais l'ensemble des informations sanitaires a été relevé.

Lors de pesées manuelles, le poids individuel de chaque animal a été relevé grâce à un peson. Les prélèvements ont été déposés dans un tube stérile avec un bouchon à vis rempli d'éthanol de laboratoire ; l'objectif étant d'inhiber toute réaction (destruction des bactéries pour éviter toute duplication). Les animaux ne sont pas bagués, la variabilité entre les individus étant considérée comme statistiquement négligeable à ces âges (Crhanova *et al.*, 2011).

Pour analyser l'influence des conditions d'élevage (Apajalahti *et al.*, 2001), plusieurs mesures d'ambiance du bâtiment ont été relevées à 21, 28 et 35 jours: dioxyde de carbone (CO₂), monoxyde de carbone (CO), ammoniac (NH₃), potentiel hydrogène (pH), température de l'eau, température ambiante, température de la litière, pourcentage d'hydrométrie.

En parallèle, un appareil (portant le nom de dataloger) a mesuré en continu la température ambiante et le pourcentage d'hygrométrie dans le bâtiment. L'appareil placé au niveau des animaux permet d'avoir accès au relevé de température ambiante et d'hygrométrie sur la durée complète de l'essai soit de 21 à 35 jours.

Le stockage des prélèvements cloacaux sur le site de Crevin a eu lieu dans un congélateur afin de rendre inactives toutes les enzymes pouvant dégrader l'ADN bactérien. Les échantillons ont été envoyés sous glace carbonique en Belgique au laboratoire de Cargill pour être analysés.

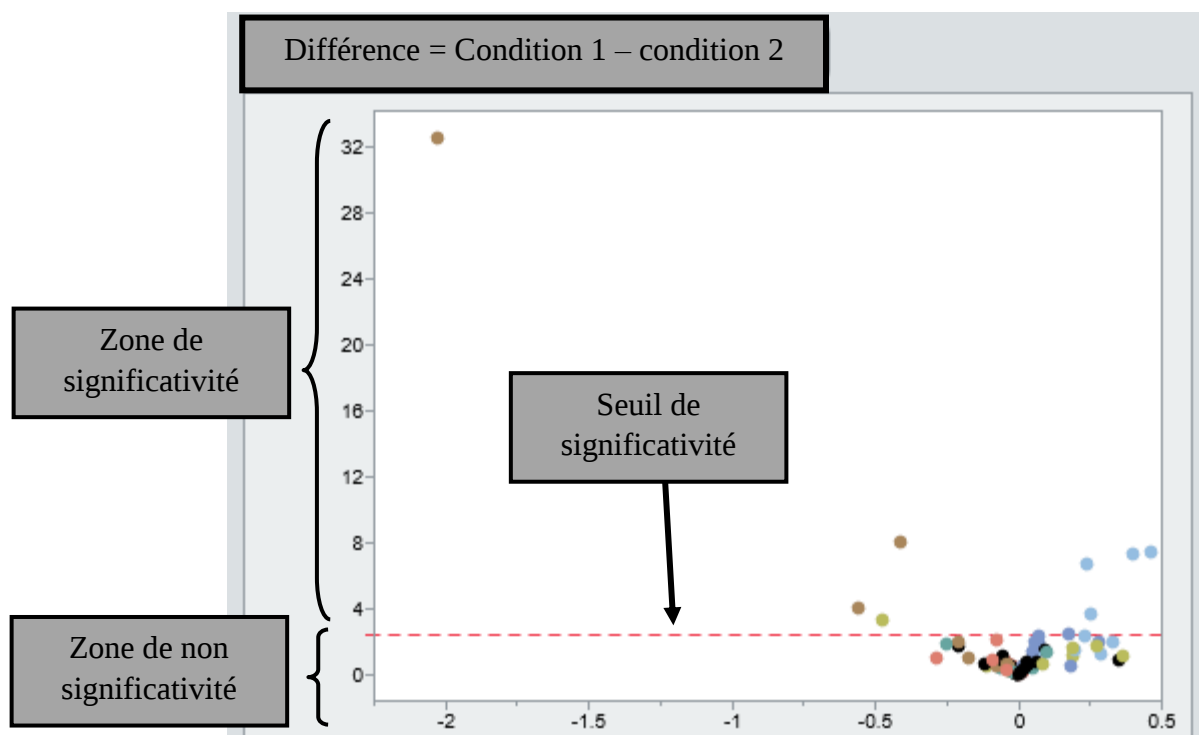


Figure 14 : Explication d'un volcano-plot type

Source : Cargill, 2017

II.3 Analyse des échantillons

Les prélèvements cloacaux ont été analysés en Belgique par Cargill. L'ADN total a été extrait selon un protocole élaboré par Cargill Biotechnology R & D. L'ADN ribosomal 16S de la bactérie a ensuite été enrichi par amplification en chaîne par polymérase (PCR) comprenant une amorce marquée par fluorescence. Chaque ADN marqué a ensuite été hybridé sur une puce à ADN contenant des sondes pour 100 bactéries intestinales sélectionnées précédemment par les modèles de Cargill comme étant liées à la croissance des poulets de chair et à la présence de pathogènes.

La fluorescence de chaque sonde a été lue et convertie en une valeur d'intensité utilisée pour déterminer semi-quantitativement la présence de chacune de ces bactéries et comparer les échantillons selon les conditions d'élevage. Les données brutes d'intensité pour chaque sonde sur chaque puce de microarray ont été compilées et soumises au contrôle de qualité des données en utilisant JMP Genomics.

II.4 Analyse des résultats

Les données ont été analysées à partir du logiciel statistique : JMP. Les données standardisées ont ensuite été soumises à l'analyse de la variance (ANOVA). Les résultats ont été présentés sous différentes formes : volcano plot et Analyse en Composantes Principales (ACP).

Le volcano plot permet de comparer deux conditions, par exemple la différence microbienne entre deux élevages (Figure 14). On émet l'hypothèse nulle (H_0) suivante : absence de différence significative entre les deux conditions et l'hypothèse alternative (H_1) suivante : présence d'une différence significative entre les deux conditions. Si la p. Value pour une bactérie est inférieure au seuil alors on rejette l'hypothèse nulle. Une bactérie avec une p. value faible est significativement différente entre les deux conditions et se situe au-dessus du seuil de significativité à 1% (Figure 14).

L'ACP permet l'analyse des données pour l'étude d'une base de données brutes avec un grand nombre de données. En ACP, une variable est d'autant mieux représentée sur un axe qu'elle est proche du bord du cercle des corrélations et de l'axe et inversement. La proximité dans l'espace entre deux individus bien représentés traduit la ressemblance réelle de ces deux individus du point de vue des valeurs prises par les variables. Deux variables proches sont corrélées positivement et inversement. L'inertie représente la quantité d'informations initialement présente sur le nuage des individus.

Légende:

A revoir

Validé

Critère	Température de la litière	Température de l'eau	pH eau
Recommandations	>28°C	15-21°C	5,5 -6,5
EARL Fillon	26,5	21.4	5.9*
EARL Montfort	32	27	8
EARL Kerongard	29,8	20.2	6.5
EARL Val de l'ise	27	20.5	6

* Présence de variations très importantes

Figure 15 : Mesures d'ambiance moyenne de 21 à 35 jours pour chaque éleveur

Source : Chanet, 2018

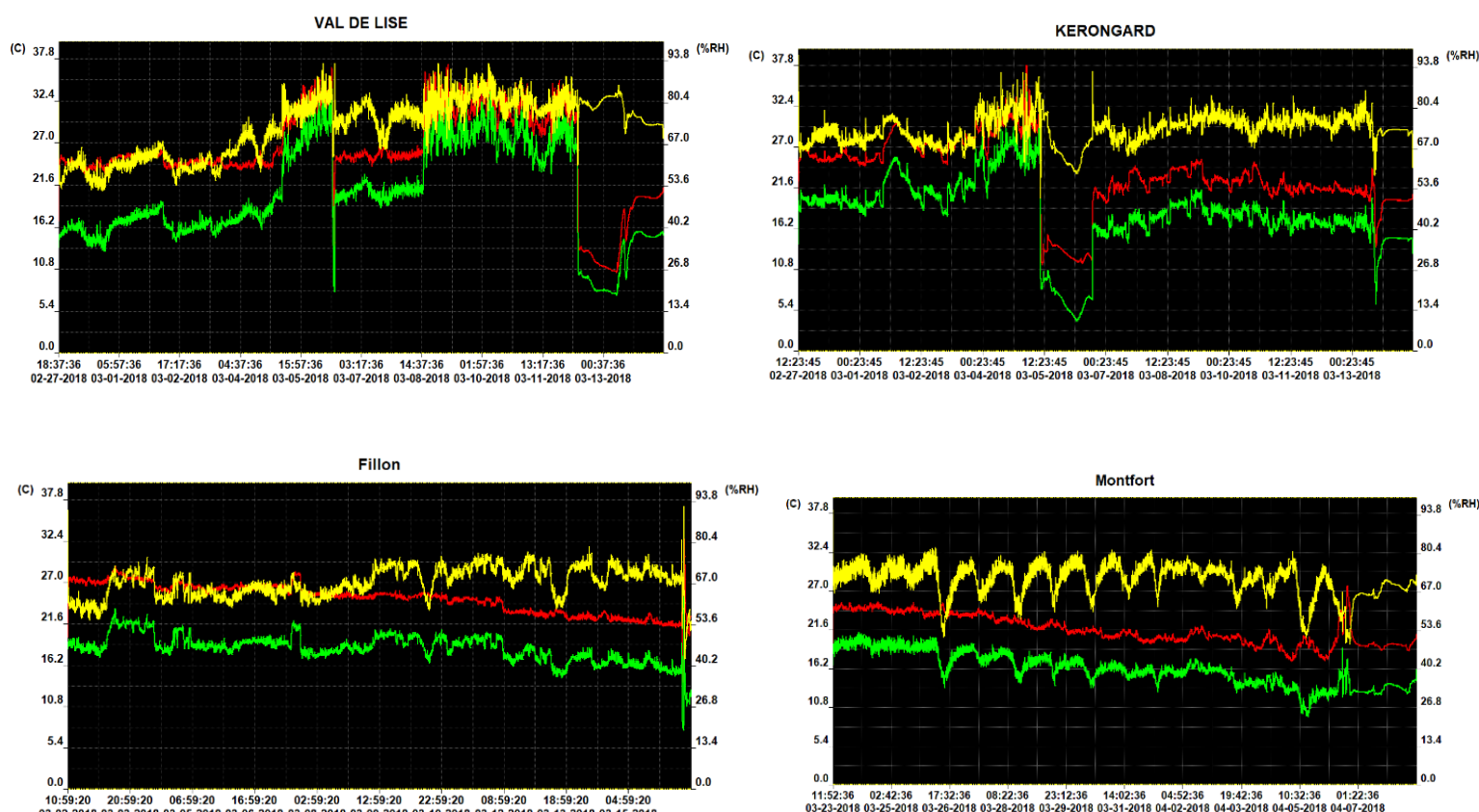


Figure 16 : Mesure en continu de la température ambiante et de l'hygrométrie

Source : Chanet, 2018

Légende :

Température

Hygrométrie

Température de rosée

III. Résultats

III.1 Les mesures d'ambiance dans le bâtiment

L'étude bibliographique a permis de mettre en avant l'importance de la composition et de la qualité de la litière face à la composition du microbiote intestinal (Dumas *et al.*, 2011 ; Torok *et al.*, 2009). Pour cette raison, les éleveurs avaient un système de litière identique, de la paille finement broyée. La phase de démarrage étant cruciale pour le développement du poulet, Cargill recommande une température de litière minimum de 28°C sur l'ensemble du bâtiment durant cette phase. Après la phase de démarrage, la température de la litière doit suivre l'évolution de la température ambiante. La gestion de la température de la litière s'est avérée mauvaise pour l'EARL Fillon et l'EARL Val de l'ise avec respectivement une température de litière de 26.5 et 27°C. Dans l'EARL Montfort et l'EARL Kerongard, la gestion de la température de la litière a été correcte avec 32 et 29.7 °C en moyenne (Figure 15).

Vérifier la qualité de l'eau est obligatoire dans la réalisation d'essai sur le microbiote intestinal (Gabriel, 2014). La gestion de l'eau n'est pas correcte pour l'EARL Fillon et l'EARL Montfort, avec une température respective de 21.4 et 27°C (Figure 15). Les recommandations Cargill sont comprises entre 15 et 21°C. De plus, de très grandes variations de pH ont été observées chez l'EARL Fillon avec un pH variant de 3 à 8 selon l'âge des poulets. Pour l'EARL Montfort, le pH à 8 est toujours supérieur à la recommandation qui est de 5.5 à 6.5 (Figure 15). Cargill recommande un potentiel de réduction de l'oxydation supérieur à 600mV contre 190mV pour l'EARL Fillon et 250mV pour l'EARL Montfort. A contrario, l'EARL Val de l'ise et Kerongard, ont une bonne gestion de l'eau avec une température respective de 20.2 et 20.5°C. Le pH à 6.5 pour l'EARL Kerongard et 6 pour Val de l'ise est optimal (Figure 15).

Le stress thermique peut impacter le microbiote intestinal des poulets de chair (Suzuki *et al.*, 1989). Le dataloger installé dès le 21^{ème} jour, a permis de vérifier l'évolution de la température tout le long de l'essai (Figure 16). L'EARL Montfort a parfaitement géré la température avec une diminution constante de 24°C à 21 jours jusqu'à 20°C à 35 jours. Pour l'EARL Fillon, la gestion de la température est à revoir avec une température toujours supérieure à la recommandation : diminution constante de la température de 27°C à 21 jours (recommandation 23°C) à 21,6°C à 35 jours (recommandation 20°C). Cette gestion s'est avérée plus compliquée pour l'EARL Kerongard où un écart de température de + 8°C a été observé le 23ème jour. En effet, une température réelle de 30,1°C a été relevée contre une recommandation de 22°C. Dans l'EARL Val de l'ise, l'esprit curieux des poulets a entraîné la chute du dataloger dans la litière, rendant la lecture des données plus difficile. Néanmoins, une légère augmentation de la température de 24.3 à 25.6°C a été observée au cours du lot (Figure 16).

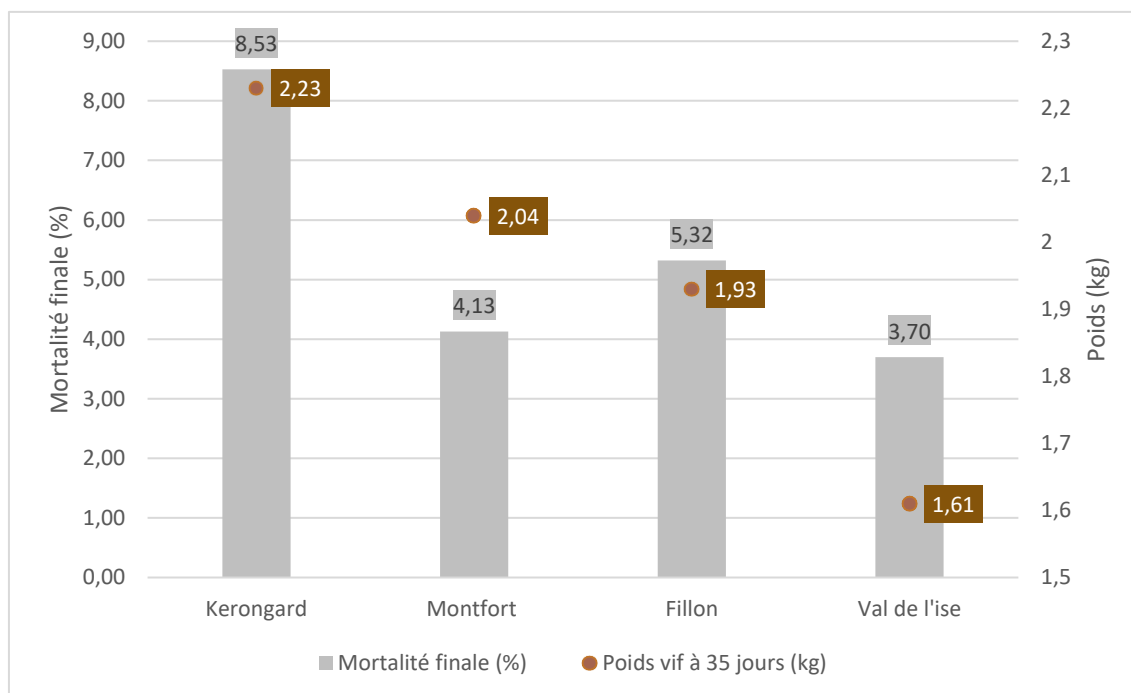


Figure 17 : Taux de mortalité et poids vif à 35 jours pour chaque éleveur

Source : Chanet, 2018

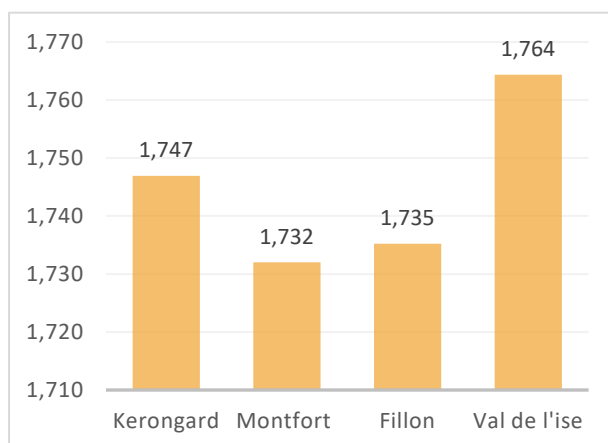


Figure 18 : Indice de consommation standardisé pour chaque éleveur

Source : Chanet, 2018

Les recommandations Cargill en terme d'hygrométrie sont comprises entre 50 et 60 % d'humidité dans l'air. Seul l'EARL Fillon respecte approximativement ce seuil avec une hygrométrie variant de 55 à 69% (Figure 16). Pour l'EARL Montfort, l'hygrométrie reste stable sur l'ensemble du lot avec une valeur moyenne de 70% mais on relève la présence de nombreux pics de variations. Chez Kerongard, le taux d'humidité varie de 67% à 21 jours contre 76% en fin de lot. Pour finir, dans l'exploitation Val de l'ise, des taux d'hygrométrie constamment élevés ont été relevés avec un pic à 79% à 29 jours (Figure 16).

A retenir : La gestion de l'ensemble des conditions d'élevage fût difficile pour l'EARL Fillon au cours de ce lot. La qualité de l'eau est à revoir pour l'EARL Montfort. La gestion des paramètres d'élevage s'est avérée correcte pour l'EARL Kerongard et Val de l'ise.

III.2 Les performances zootechniques

Dans l'objectif de comparer le microbiote intestinal aux performances zootechniques, ces dernières ont été récupérées après l'abattage des lots. Les poulets les plus lourds sont retrouvés chez l'EARL Kerongard avec une moyenne de 2.23 kg/poulet suivi par les poulets de l'EARL Montfort, avec 2.04 kg. L'EARL Fillon sort des poulets avec une moyenne de 1.93 kg/poulet. L'EARL Val de l'ise finit son lot avec des poulets plus légers : 1.61kg/poulet (Figure 17).

L'indice de consommation standardisé représente la quantité (en kg) d'aliment distribué par kg de poids vifs produit ramené à un poids vif standardisé. Les quatre éleveurs Montfort, Fillon, Kerongard et Val de l'ise ont respectivement les indices de consommation suivant : 1.732, 1.735, 1.747, 1.764 respectivement (Figure 18).

Le taux de mortalité final représente le pourcentage de pertes d'animaux entre l'entrée des poussins et l'abattage. L'EARL Kerongard a un taux de mortalité quasiment deux fois supérieur aux autres éleveurs avec 8,53% de perte contre 5,32% pour l'EARL Fillon et 4,13% pour l'EARL Montfort. L'EARL Val de l'ise a le taux de mortalité le plus faible avec 3.70% de mortalité entre l'arrivée des poussins et l'abattage (Figure 17).

A retenir : Les poids des poulets sont nettement supérieurs pour l'EARL Kerongard suivi par l'EARL Monfort. Des résultats décevants en terme de poids ont été observés pour l'EARL Fillon et Val de l'ise ainsi qu'un taux de mortalité conséquent pour l'EARL Kerongard.

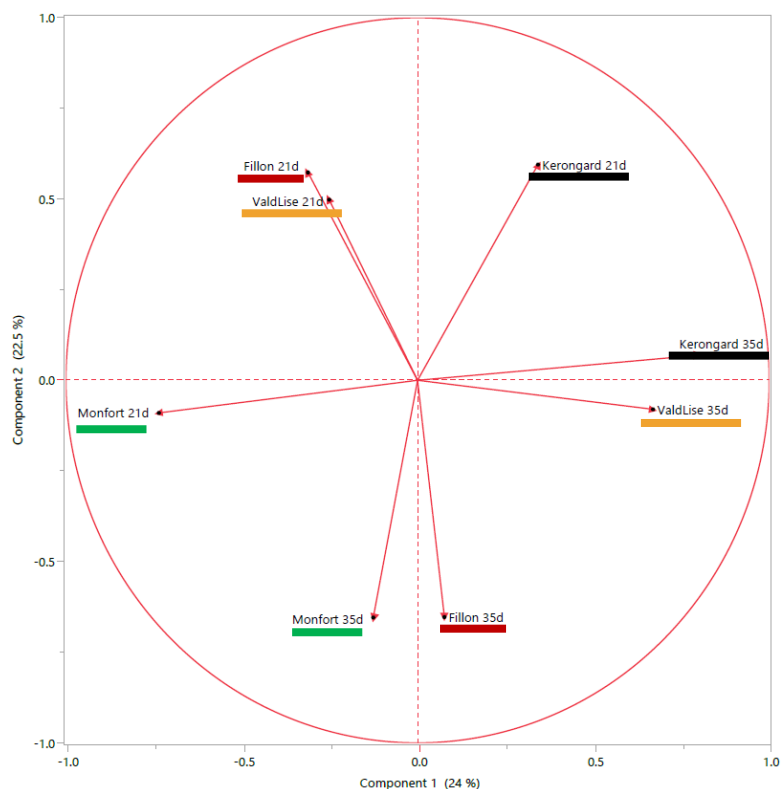


Figure 19 : Cercle des corrélations de l'analyse en composante principale (ACP) montrant l'évolution du microbiote intestinal entre 21 et 35 jours

Source : Chanet, 2018

Tableau 2 : Bactéries présentes en quantité significativement différente entre 21 et 35 jours

Elevage	Bactéries significativement différentes entre 21 et 35 jours
EARL Fillon	E. coli 1 Lactobacillus Panis Lactobacillus 2 Yersinia Enterocolitica
EARL Kerongard	Clostridium Bartlettii Enterococcus Hirae
EARL Val de l'ise	Porphyromonadaceae, Laschnospiraceaecontrotum, Laschnospiraceaecontrotum 3, Enterococcus hirae, Escherichia coli 1, Parabactéroides, Bifidobactérium gallinarum
EARL Montfort	Lactobacillus gasseri 1 Lactobacillus 1 Lactobacillus 4 Bactéroide 1

Source : Chanet, 2018

Légende :



Bactérie bénéfique



Bactérie pathogène

III.3. Le microbiote intestinal du poulet de chair

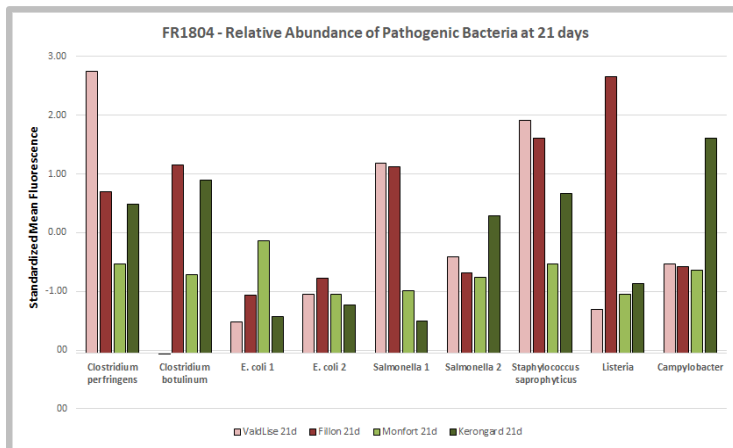
III.3.1 Evolution de la composition bactérienne entre 21 et 35 jours

Les prélèvements au niveau du cloaque ont pu être analysés. La quantité de matière fécale récoltée était suffisante. La conservation et le transport des échantillons ont été effectués avec succès. Au cours de cet essai, le microbiote intestinal à 28 jours n'apportant pas d'informations supplémentaires, a été retiré de ce mémoire.

L'ACP (Figure 19) permet d'analyser l'évolution du microbiote digestif entre 21 et 35 jours pour chaque élevage. Le premier axe conserve 24% de l'inertie et 22,5 % pour le second. Au total, ces deux axes permettent d'expliquer 46,5% de la variabilité entre les huit variables. Pour chaque axe retenu, aucune variable ou individu ne participe à la formation de l'axe. Dans ce cas, les axes ne représentent pas de critères précis. Ils servent juste à représenter graphiquement les variables. Toutes les variables présentes sur le cercle des corrélations sont bien représentées. Pour l'EARL Kerongard entre 21 et 35 jours, les variables sont proches et donc corrélées positivement. Le même résultat est observé pour l'EARL Montfort. Deux variables s'opposant sont corrélées négativement, observations faites dans cet essai pour l'EARL Fillon et pour l'EARL Val de l'ise entre 21 et 35 jours. En conclusion, le microbiote intestinal des poulets pour l'EARL Kerongard et Montfort varie peu entre 21 et 35 jours (Figure 19). A contrario, pour l'EARL Fillon et pour l'EARL Val de l'ise, le microbiote varie considérablement entre 21 et 35 jours.

L'étape suivante fût l'étude de la composition du microbiote intestinal afin de savoir quelles bactéries ont été significativement différentes entre 21 et 35 jours pour chaque éleveur. Pour l'EARL Kerongard, l'analyse statistique a permis de mettre en avant deux bactéries présentes en quantité statiquement différentes entre 21 et 35 jours : *Clostridium Bartlletti* et *Enterococcus hirae* (Tableau 2). L'EARL Montfort a quatre bactéries présentes en quantité significativement différente entre 21 et 35 jours : *Lactobacillus gasseri* 1, *lactobacillus* 1, *lactobacillus* 4 et *Bactéroide* 1. Ces quatre bactéries sont potentiellement bénéfiques pour les performances zootechniques. L'EARL Montfort est le seul élevage à ne pas contenir de pathogène en quantité différente entre 21 et 35 jours (Tableau 2). Pour l'EARL Fillon, quatre bactéries varient en terme de quantité entre 21 et 35 jours : *E. coli*, *lactobacillus Panis*, *lactobacillus* 2, *Yersinia hirae* (Tableau 2). Pour l'EARL Val de l'ise, le microbiote intestinal est davantage instable avec 7 bactéries (*Porphyromonadaceae*, *Laschnospiraceaecontrotum*, *Laschnospiraceaecontrotum* 3, *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli* 1, *Parabactéroides* et *Bifidobactérium gallinarum*) qui varient entre 21 et 35 jours (Tableau 2).

A



B

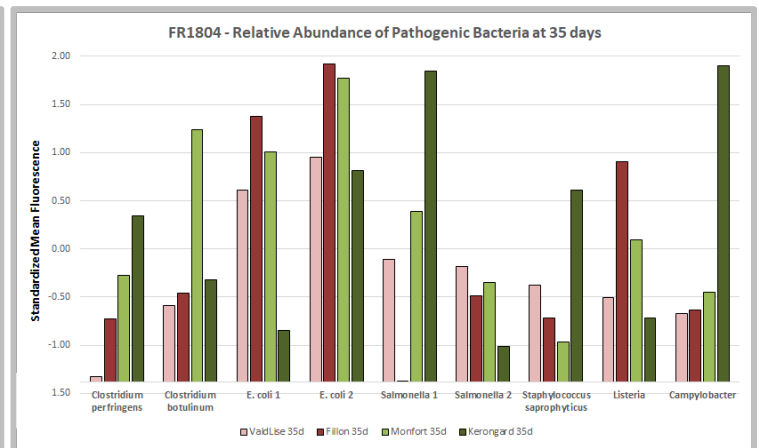


Figure 20: Abondance des pathogènes pour chaque éleveur entre 21 (A) et 35 jours (B)

Source : Chanet, 2018

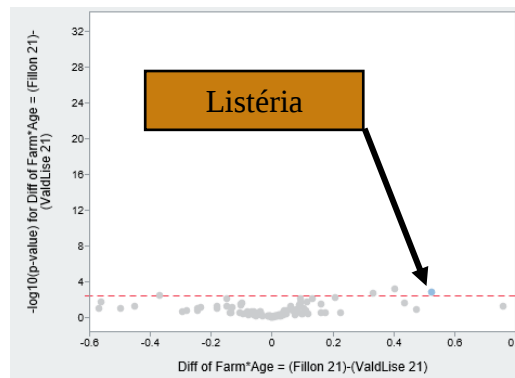


Figure 21 : Différence microbienne entre l'EARL Fillon et l'EARL Val de l'Isère
pour la bactérie Listéria à 21 jours

Source : Chanet, 2018

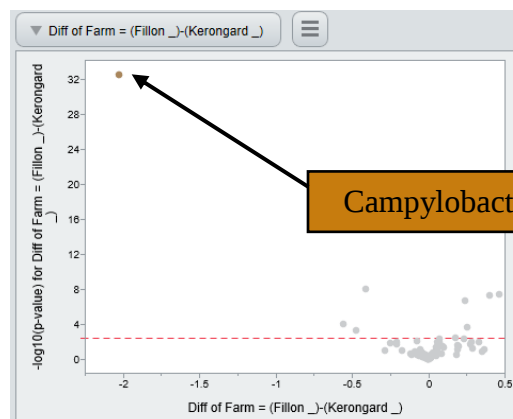


Figure 22 : Différence microbienne entre l'EARL Fillon et l'EARL Kerongard
pour la bactérie Campylobacter

Source : Chanet, 2018

En conclusion, entre 21 et 35 jours, les poulets de l'EARL Kerongard et l'EARL Monfort ont un microbiote stable. Le premier possède uniquement deux bactéries différentes. Le second possède quatre bactéries présentes en quantité différente mais toutes potentiellement bénéfique. Entre 21 et 35 jours, L'EARL Val de l'ise et Fillon ont des variables corrélés négativement. L'absence d'un microbiote stable est confirmée par la présence de 7 bactéries présentes en quantité différente pour Val de l'ise contre seulement 4 pour l'EARL Fillon dont deux bactéries pathogènes.

A retenir : Entre 21 et 35 jours, les poulets de l'EARL Kerongard et l'EARL Monfort ont un microbiote intestinal stable contrairement aux poulets issus des élevages de l'EARL Fillon et de l'EARL Val de l'ise.

III.3.2 Abondance des bactéries pathogènes

Les pathogènes présents dans le tube digestif des poulets ont été étudiés à travers plusieurs histogrammes représentant l'abondance relative des pathogènes à 21, 28 et 35 jours (Figure 20). Afin de déterminer si la présence d'une bactérie était significativement différente face aux autres éleveurs, des volcano plot ont été réalisés avec un seuil de significativité à 1%. Trois bactéries pathogènes ont été mise en avant :

- **Listéria** : Le microbiote intestinal des poulets de l'EARL Fillon est composé de beaucoup de pathogènes à 21 jours (Figure 20 A). Le volcano plot (Figure 21) a permis de mettre en avant la présence significative de la bactérie *Listéria* à 21 jours pour cet éleveur face aux autres éleveurs. A 35 jours, la présence de listéria n'est plus significativement différente entre les éleveurs.
- ***Escherichia. Coli 1*** : A 35 jours, la présence d'*Escherichia coli 1* est notée pour l'EARL Fillon (Figure 20 B) en quantité significativement supérieure face à l'EARL Kerongard avec une p. value de 0,0007. De plus, la quantité d'*E. coli 1* est significativement supérieure entre 21 et 35 jours pour l'EARL Fillon avec une p. value de 0,0002.
- **Campylobacter** : A 35 jours, la présence très significative de Campylobacter a été observé dans le digestif des poulets de l'EARL Kerongard face aux autres éleveurs avec des p. values très faibles de l'ordre de 10^{-15} (Figure 22). Des résultats similaires ont été obtenus à 21 jours.

A retenir : Les bactéries pathogènes *E. coli* et *Listéria* sont omniprésentes dans tous les élevages mais significativement supérieure pour l'EARL Fillon. La présence très significative de Campylobacter, pathogène dangereux pour la santé humaine, apporte d'autres problématiques pour l'EARL Kerongard.

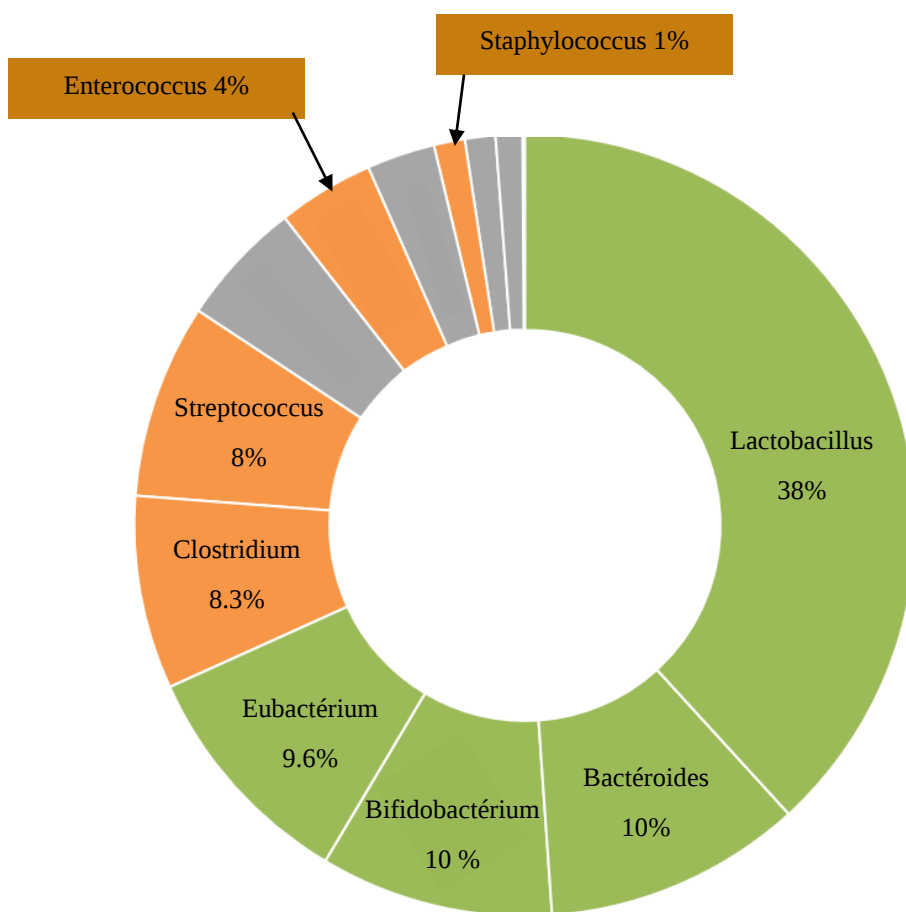


Figure 23 : Composition du microbiote intestinal des poulets de l'EARL Montfort

Source : Chanet, 2018

III.3.3 Analyse de la composition du profil microbien idéal

L'objectif de la filière avicole et de ce projet est de créer des systèmes d'élevages plus performants pour répondre à la demande croissante en poulets de chair. Pour répondre à cette problématique, les poulets les plus performant en terme de poids proviennent de l'EARL Kerongard et Montfort.

La durabilité des systèmes d'élevage est à prendre en compte notamment via l'amélioration de l'indice de consommation. Cet indice représente le ratio mesurant la conversion de la quantité d'aliment consommé en poids vif corporel. Un poulet consommant moins d'aliment pour produire plus de poids vif va permettre d'économiser les ressources alimentaires. L'indice de consommation le plus performant est obtenu avec les poulets de l'EARL Montfort.

L'analyse des bactéries pathogènes dans le tube digestif des poulets a permis de mettre en avant la présence très significative de *Campylobacter* pour l'EARL Kerongard. Aucun pathogène dangereux pour la santé alimentaire Humaine n'est présent dans le tube digestif des poulets de l'EARL Montfort.

Pour l'ensemble de ces raisons, les poulets de l'EARL Montfort représentent le profil microbien idéal (Figure 23). Ce profil est composé à 67.6% de bactéries bénéfiques dont 38% de *Lactobacillus*, 10% de *bifidobactérium*, 10% de *bactéroides* et 9.6 % d'*Eubactérium*. Les bactéries pathogènes représentent 21.3% du microbiote intestinal soit une minorité. L'analyse a mis en avant la présence de 4% d'*Enterococcus*, 8% de *streptococcus*, 8,3% de *clostridium* et 1 % de *staphylococcus* (Figure 23). Les bactéries restantes (11.1%) représentent des bactéries encore peu étudiées en volaille dont les rôles précis restent à déterminer.

IV. Discussion

Face à la demande croissante en poulets de chair, la place grandissante du bien-être animal en élevage et l'importance de l'impact environnemental, la filière avicole souhaite obtenir des systèmes d'élevages productifs et durables. Aujourd'hui, un des principaux leviers est le microbiote intestinal que l'on compare dans certaines études au « deuxième cerveau » de l'animal.

La composition microbienne du tube digestif de chaque élevage a été analysée en commençant par la présence des principales bactéries bénéfiques. Le microbiote intestinal des poulets participants à l'essai est composé en moyenne de 15% de *Lactobacillus*. Ce résultat est en accord avec les études menées par Lu *et al.* (2003) Zhu *et al.* (2002), Bjerrum *et al.* (2006) et Lan *et al.* (2002) qui indique en moyenne 10% de *Lactobacillus* dans les caeca.

L'espèce *Bifidobacterium* représente 4% du microbiote intestinal des poulets participant à l'essai. Les études antérieures par Lu *et al.* (2003), Zhu *et al.* (2002), Bjerrum *et al.* (2006) et Lan *et al.* (2002) n'avaient pas décelé la présence de *Bifidobacterium* dans le tube digestif des poulets. Les nouvelles techniques d'analyses ont rendu possible le séquençage de nouvelles bactéries uniquement à partir de 2005.

D'après Lu *et al.* (2003), Zhu *et al.* (2002), Bjerrum *et al.* (2006) et Lan *et al.* (2002), les bactéroïdes composent 4% du microbiote intestinal dans les caeca. Cette proportion a été confirmée au cours de notre essai.

Enfin 6% du microbiote intestinal des poulets de chair participant à l'essai est composé d'*Eubacterium* contre une présence notée à 12% dans d'autres études sur les caeca (Lu *et al.*, 2003 ; Zhu *et al.*, 2002 ; Bjerrum *et al.*, 2006 ; Lan *et al.*, 2002)

Concernant les bactéries pathogènes, d'après Lu *et al.* (2003), Zhu *et al.* (2002), Bjerrum *et al.* (2006) et Lan *et al.* (2002), *Enterococcus* représente 1,15 % du microbiote des caeca. Dans le même ordre de grandeur, *Enterococcus* représente 2% du microbiote intestinal des poulets participant à l'essai. Pour l'EARL Fillon, *Enterococcus* représente 3,4% du microbiote suite à la présence significative de l'espèce *Escherichia. Coli*, appartenant à la famille *Enterococcus*, qui peut s'expliquer par une transition alimentaire difficile à 25 jours. Une baisse de la consommation d'aliment a été relevée suite à la livraison d'un aliment ayant une présentation inadaptée pour les animaux. Dans les conditions d'élevages normales, la bactérie *E. coli* est présente sans être nocive mais un stress alimentaire de ce type peut expliquer le développement des colibacillooses (Avicampus, 2008) et l'impact sur les performances technico-économiques: retard de croissance, diminution de l'efficacité alimentaire, saisies à l'abattoir (Stordeur *et al.*, 2002). Par ailleurs, on note la présence très significative de *Campylobacter* dans le tube digestif des poulets de l'EARL Kerongard. Après abattage, cette bactérie présente dans le tube digestif peut se retrouver sur la peau de la volaille.

Au cours de la préparation des repas, cette bactérie bien que détruite par la cuisson, peut infecter d'autres ingrédients/outils de cuisine et contaminer l'Homme. Les infections à *Campylobacter* sont généralement bénignes mais peuvent s'avérer mortelles pour des sujets plus fragiles comme les enfants, les personnes âgées.. (Organisation mondiale de la santé, 2018). Cette bactérie est naturellement présente dans l'environnement. Les volailles contaminées restent des "porteurs sains", il faut donc agir aux différentes étapes de production en améliorant l'hygiène au niveau de l'élevage pour éviter qu'elle ne se déclare. Un des piliers de l'audit d'élevage mettait en avant le niveau de biosécurité dans l'élevage. A ce niveau, plusieurs points sont à améliorer dans l'EARL Kerongard : le liquide du pédiluve n'est pas changé chaque jour, il n'y avait pas de séparation physique entre la zone sale et propre et pas de désinfection autour du bâtiment. De plus, des outils sont échangés entre les deux bâtiments d'élevages. Le manque d'attention de l'éleveur pour ces différents points peut expliquer la présence significative de *Campylobacter* face aux autres élevages.

Au cours de l'essai, les poids des poulets les plus lourds, observés pour l'EARL Kerongard et l'EARL Montfort, sont associés à un microbiote stable entre 21 et 35 jours. En opposition, la flore intestinale des poulets de l'EARL Val de l'ise et l'EARL Fillon est variable entre 21 et 35 jours entraînant des poids inférieurs. Un accès tardif à l'aliment pour les poussins influe sur le développement de la surface intestinale et impacte la maturation du microbiote (Kers *et al.*, 2018). Pour favoriser l'accès rapide à l'aliment, il est recommandé de placer des bandes de papier de démarrage au sol avec 30g d'aliment par poussin. L'audit d'élevage a révélé une hétérogénéité dans la gestion de l'aliment durant la phase de démarrage entre ces quatre éleveurs. L'EARL Kerongard et Montfort ont respecté la recommandation de 30g d'aliments/poussin. Pour les autres éleveurs, la quantité d'aliment présente sur les bandes de papier est inférieure à la recommandation avec moins de 15g/poussin pour l'EARL Val de l'ise. Un accès fastidieux à l'aliment a pu avoir des répercussions notables sur la maturation du microbiote intestinal et les performances zootechniques. La maturation rapide de la flore intestinale semble donc primordiale pour améliorer les performances zootechniques en fin de lot.

En parallèle, les mesures d'ambiance réalisées tout au long de l'essai ont permis d'améliorer l'interprétation des microbiotes intestinaux et les poids obtenus. La mise en place rapide d'une flore mature pour l'EARL Kerongard peut s'expliquer par la bonne gestion de l'eau (pH et température) et de l'hydrométrie en dépit des conditions hivernales difficiles. A contrario, ces points n'ont pas été respectés chez l'EARL Fillon qui obtient un microbiote instable en fin de lot et des poids moindres. La température ambiante est un facteur à gérer avec beaucoup de précision dans l'élevage. Le stress thermique semble augmenter la présence des bactéries néfastes pour le poulet de chair (Suzuki *et al.*, 1989). Pour éviter tout stress thermique et respecter le bien-être animal, la température doit suivre une baisse progressive de 23°C à 21 jours jusqu'à 20°C à 35 jours, soit 0.2°C/jour. L'analyse en continue de la température ambiante grâce au dataloger a permis de vérifier ce facteur pour chaque éleveur. Pour l'EARL Montfort et l'EARL Kerongard, la température diminue respectivement de 0.32 et 0.37°C par jour.

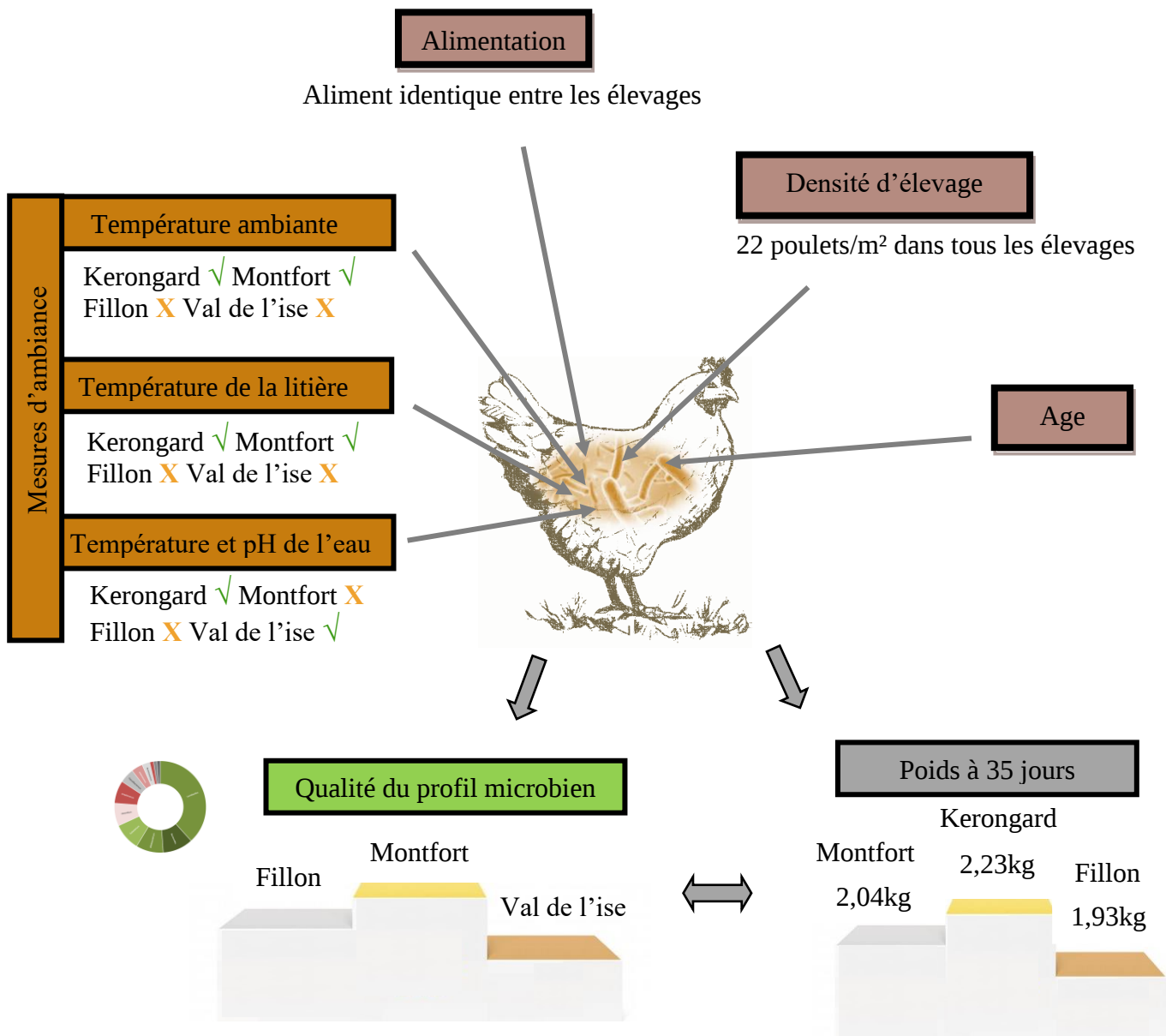


Figure 24 : Etude du microbiote intestinal du poulet face à différentes conditions d'élevage

Source : Chanet, 2018

Les résultats sont tout autre pour l'EARL Fillon avec une diminution de 0.43°C par jour et pour l'EARL Val de l'ise où l'on observe une augmentation de la température de 0.1°C/jour entre 21 et 35 jours. La bonne gestion de la température tout au long de l'essai a permis aux éleveurs de diminuer le risque de pathogènes.

L'analyse des résultats d'abattage a permis de mettre en avant un taux de mortalité de 8% en fin de lot pour l'EARL Kerongard. Ce taux de mortalité deux fois supérieur aux autres élevages peut s'expliquer par un taux de mortalité élevé au 4 et 6^{ème} jour. De plus, les éleveurs perçoivent 2% de poussins supplémentaires afin de compenser le tri qui aurait été mal effectué au couvoir (poids insuffisants, malformations). En accord avec l'organisme de production le Gouessant, on émet l'hypothèse que ce taux de 2% n'a pas été respecté lors de la livraison des poussins à l'EARL Kerongard entraînant un taux de mortalité nettement supérieur en fin de lot. Cette densité d'élevage plus faible permet un gain moyen quotidien (GMQ) plus important. Enfin, des essais menés précédemment par rencontre ont permis de prouver que l'âge des poules reproductrices a aussi un effet sur le poids des poulets à l'abattage. Seul l'EARL Fillon a des poussins de jeunes reproductrices âgés de 29 semaines ce qui peut apporter une explication supplémentaire aux poids inférieurs pour cet éleveur face à l'EARL Montfort et Kerongard.

En résumé, le microbiote intestinal est influencé par plusieurs facteurs comme l'alimentation, le sexe, la densité d'élevage et les mesures d'ambiance dans le bâtiment. L'analyse des performances zootechniques ne suffit pas pour déterminer le microbiote intestinal idéal. Le profil microbien idéal ne peut pas contenir des bactéries dangereuses pour la santé humaine. Pour cette raison, au cours de cet essai, le meilleur profil microbien est celui de l'EARL Montfort alliant belles performances zootechniques et absence de risque pour la santé humaine (Figure 24).

Le protocole mis en place par Cargill permet d'analyser le microbiote intestinal des poulets de chair sans euthanasie des animaux avec un budget moindre mais conséquent au niveau de l'analyse en laboratoire. Cet essai a été réalisé en collaboration avec quatre éleveurs du Gouessant sur un seul lot par éleveur. La mise en place de répétitions sur plusieurs lots pourrait permettre de consolider les résultats obtenus. Par ailleurs, l'analyse statistique a été effectuée sur 100 bactéries bénéfiques et pathogènes préalablement sélectionnées par Cargill pour leur implication sur les performances zootechniques. Cette liste non exhaustive ne permet pas de comparer pleinement les résultats obtenus avec les études réalisées par d'autres chercheurs. La phase de démarrage est un moment cruciale. Durant les premiers jours, tout doit être mis en œuvre pour stimuler la consommation et maîtriser l'environnement du poussin de chair. Cela nécessite des pratiques adaptées et une surveillance accrue. Il aurait semblé intéressant d'être présent le jour de la mise en place des poussins pour effectuer une pesée afin de s'assurer que les poids de mise en place étaient similaires notamment pour l'EARL Fillon qui a des poussins issus de jeunes reproductrices. Cette visite aurait également permis de vérifier la température, l'hygrométrie, la qualité de l'eau au démarrage ainsi que le nombre de poussins reçus au vu des problèmes rencontrés avec l'EARL Kerongard.

Conclusion et perspectives

La durabilité des systèmes d'élevages est une priorité qui requiert l'amélioration de la robustesse des animaux et de leur capacité d'adaptation à des environnements changeants. Le maintien des performances acquises, une amélioration du bien-être, de l'efficacité alimentaire et des défenses immunitaires reste un enjeu pour la filière avicole. Les différentes fonctions remplies par le microbiote digestif suggèrent un impact important sur les principaux caractères des animaux à étudier pour progresser vers ces nouveaux objectifs. Le microbiote assure la maturation du tissu intestinal et du système immunitaire, permet la digestion de certains aliments, produisant ainsi des nutriments.

L'essai mené dans le cadre de ce mémoire en partenariat avec quatre éleveurs du Gouessant a permis de mettre en évidence l'importance d'obtenir un microbiote intestinal stable dès 21 jours. La maturation rapide du microbiote intestinal permet d'obtenir des poids supérieurs à l'abattage. Ajouté à la stabilité, le profil microbien idéal pour améliorer les performances zootechniques en poulets de chair doit contenir une concentration faible en bactéries pathogènes comme *Escherichia Coli*. La prédominance des bactéries bénéfiques de type *Lactobacillus* est recommandée. Au cours de l'essai, une autre problématique a vu le jour : la présence dans le tube digestif des poulets de bactéries dangereuses pour la santé humaine. Tout profil microbien comprenant des bactéries nocives pour l'alimentation humaine comme *Campylobacter* ne peut pas être considéré comme un profil microbien idéal, peu importe les performances zootechniques. Les mesures d'ambiance réalisées tout au long de l'essai permettent d'interpréter les résultats avec une meilleure connaissance du fonctionnement de l'exploitation. La présence d'un profil microbien idéal est consolidée par la bonne gestion de l'eau, de la température, de l'aliment, et de l'hygrométrie dans l'élevage. Il existe une relation étroite entre la composition du microbiote intestinal, les conditions d'élevage et les performances du troupeau.

Connaître les bactéries associées à une bonne performance est très intéressant. Cependant, si un profil bactérien médiocre ne peut pas être transformé en un bon profil cette connaissance n'a aucune valeur pratique. Il existe de nombreux moyens potentiels d'y parvenir. Une façon pourrait être de développer des cultures de départ qui fournissent directement les espèces bactériennes les plus importantes pour le microbiote intestinal du poulet. De tels produits sont disponibles sur le marché (par exemple *Megasphaera elsdenii* en bovin) mais pour les applications avicoles, des travaux de développement importants sont nécessaires. Cargill continue ses recherches afin de proposer des ingrédients alimentaires favorisant la croissance des bactéries souhaitables. Pour aller plus loin, des études en santé humaine ont réalisé une transplantation fécale entre un individu sain et un individu malade porteur de la bactérie *Clostridium difficile*. La filière avicole pourrait peut-être s'inspirer de ces travaux pour transmettre via l'aliment, la flore bactérienne positive de poulets de chair à d'autres individus.

Articles scientifiques

- Apajalahti JH, Kettunen A, Bedford MR and Holben WE** 2001. Percent G+C profiling accurately reveals diet-related differences in the gastrointestinal microbial community of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 67. 5656–5667.
- Bjerrum L, Engberg RM, Leser TD, Jensen BB, Finster K and Pedersen K** 2006. Microbial community composition of the ileum and cecum of broiler chickens as revealed by molecular and culture-based techniques. *Poultry Science* 85. 1151-1164.
- Calenge F, Martin C, Le floch N, Phocas F, Morgavi D, Rogel-Gaillard C and Quéré P** 2014. Intégrer la caractérisation du microbiote digestif dans le phénotypage de l'animal de rente : vers un nouvel outil de maîtrise de la santé en élevage ?. *INRA productions animales* 27. 209-222.
- Crhanova M, Hradecka H, Faldynova M, Matulova M, Havlickova H, Sisak F and Rychlik I** 2011. Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to salmonella enterica serovar enteritidis infection. *Infection and immunity* 79. 2755-2763.
- Dumas M, Polson S, Ritter D, Ravel J, Gelb J, Morgan R and Wommack E** 2011. Impacts of poultry house environment on poultry litter bacterial community composition. *Plos One* 6. 1-35.
- Engberg RM, Hedemann MS and Jensen BB** 2002. The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *Poultry Science* 44. 569–579.
- Gabriel I, Mallet S and Sibille P** 2005. La microflore digestive des volailles : facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *INRA productions animales* 18. 309-322.
- Gibson GR and Roberfroid MB** 1995. Dietary modulation of the human colonic Microbiota: introducing the concept of prebiotics. *American Institute of Nutrition* 22. 1401-1410.
- Guardia S, Konsak B, Combes S, Florence L, Cauquil L, Guillot JF, Moreau-Vauzelle C, Lessire M, Juin H and Gabriel I** 2011. Effects of stocking density on the growth performance and digestive microbiota of broiler chickens. *Poultry Science* 90. 1878-1889.
- Jung S, Houde R, Baurhoo B, Zhao X and Lee B** 2008. Effects of galacto-oligosaccharides and a bifidobacteria lactis-based probiotic strain on the growth performance and fecal microflora of broiler chickens. *Poultry Science* 87. 1694-1699.
- Kers J, Velkers F, Fischer E, Hermes G, Stegeman JA and Smidt H** 2018. Host and environmental factors affecting the intestinal microbiota in chickens. *Frontiers in microbiology* 9. 1-10.
- Kollanoor A, Mattson T, Baskaran SA, Amalaradjou MA, Babapoor S, March B, Schreiber D, Satyender V, Darre M, Hoagland T, Schreiber D, Mazhar I, Donoghue A, Donoghue D and Venkitanarayanan K** 2012. Reduction of salmonella enterica serovar enteritidis colonization in 20-Day-Old Broiler Chickens by the plant-derived compounds trans-cinnamaldehyde and eugenol. *Environmental microbiology* 78. 2981-2987.

Lan P, Hayashi H, Sakamoto M and Benno Y 2002. Phylogenetic analysis of cecal microbiota in chicken by the use of 16S rDNA clone libraries. *Microbiology and Immunology* 46. 371-382.

Laplace JP and Germain C 1977. Transit digestif chez le poulet de 5 semaines : Recherche d'une variation entre familles de pères. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences* 26. 113-118.

Lu J, Idris U, Harmon B, Hofacre C, Maurer JJ and Lee MD 2003. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Environmental Microbiology* 69. 6816-6824.

Lumpkins BS, Batal AB and Lee M 2008. The effect of gender on the bacterial community in the gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science* 87. 964-967.

Rogel-gaillard C 2013. The microbiota of the gastro-intestinal tract : a biological compartment to explore in livestock species. *Bulletin de l'académie vétérinaire de France* 167. 131-135.

Spring P, Wenk C, Dawson K and Newman K 2000. The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of Salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science* 79. 205-211.

Stordeur P and Mainil J 2001. La colibacillose aviaire. *Annales de médecine vétérinaire* 146.11-18.

Suzuki K, Mitsuoka T and Kodama Y 1989. Stress and intestinal flora. *J-stage* 8. 23-38.

Svihus B, Juvik E, Hetland H and Krogdahl A 2004. Causes for improvement in nutritive value of broiler chicken diets with whole wheat instead of ground wheat. *British Poultry Science* 45. 55-60.

Svihus B, Sacranie A, Denstadli V and Choct M 2010. Nutrient utilization and functionality of the anterior digestive tract caused by intermittent feeding and inclusion of whole wheat in diets for broiler chickens. *Poultry Science* 89. 2617-2625.

Svihus B 2011. The gizzard: function, influence of diet structure and effects on nutrient availability. *Poultry Science* 67. 207-218.

Svihus B, Lund VB, Borjgen B, Bedford MR and Bakken M 2012. Effect of intermittent feeding, structural components and phytase on performance and behaviour of broiler chickens. *Poultry Science* 54. 222-230.

Svihus B 2014. Function of the digestive system. *Poultry Science* 23. 306-312.

Thomas D 1982. Salt and water excretion by birds : the lower intestine as an integrator of renal and intestinal excretion. *Comparative Biochemistry and Physiology* 71. 527-535.

Torok V, Hughes R, Ophel-Keller K, Ali M and MacAlpine R 2009. Influence of different litter materials on cecal microbiota colonization in broiler chickens. *Poultry Science* 88. 2474-2481.

Van der Wielen P, Keuzenkamp DA, Lipman LA, Van Knapen F and Biesterveld S 2009. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. *Microbial Ecology* 44. 1-286.

Van Immerseel F, De Buck J, De Smet I, Mast J, Haesebrouck F and Ducatelle R 2002. Dynamics of immune cell infiltration in the caecal lamina propria of chickens after neonatal infection with a Salmonella Enteritidis strain. Developmental and comparative immunology 26. 355-364.

Weurding R, Veldman A, Veen W, Van der Aar P and Verstegen M 2001. Starch digestion rate in the small intestine of broiler chickens differs among feedstuffs. Nutritional Science 131. 2329-2335.

Xiao L, Estellé J, Kiilerich P, Ramayo-Caldas Y, Xia Z, Feng Q, Liang S, Pedersen A, Kjeldsen N, Liu C, Maguin M, Doré J, Pons N, Le Chatelier E, Prifti E, Li J, Jia H, Liu X, Xun X, Ehrlich S, Madsen L, Kristiansen K, Rogel-Gaillard C and Wang J 2016. A reference gene catalogue of the pig gut microbiome. Nature microbiology 16161. 1-6.

Zhu XY, Zhong TY, Pandya Y and Joerger RD 2002. 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. Environmental Microbiology 68. 124-137.

Thèse

Bonou CH 1987. L'appareil digestif de la poule : histologie normale et histologie pathologique dans la maladie de Newcastle. Thèse de doctorat, Faculté de médecine et de pharmacie de Dakar, Dakar, Sénégal.

Power point

Bailey R 2012. La santé du tube digestif du poulet. Aviagen. 28p.

Gabriel I 2014. Microbiote et santé digestive des volailles : Etat des lieux. Rencontres MSD Santé Animale, Santé intestinale et immunité chez la volaille. 60p.

Stordeur P, Van Bost S and Mainil J 2002. La colibacillose aviaire. Département des Maladies Infectieuses et Parasitaires. 38p.

Sites Web

Le douarin P 2003. La flore digestive des volailles est mal connue. Retrieved on 20 February 2018, from <https://www.reussir.fr/actualites/aviculture-la-flore-digestive-des-volailles-est-mal-con nue:5939.html>

Les Echos 2015. Avec la crise et les scandales alimentaires, les Français achètent de moins en moins de viande. Retrieved on 2 March 2018, from https://www.lesechos.fr/22/07/2015/LesEchos/21984-057-ECH_avec-la-crise-et-les-scandales-alimentaires--les-francais-achetent-de-moins-en-moins-de-viande.htm.

Marchand R 2015. Les microbes sont nos meilleurs amis. Retrieved on 15 May 2018, from <https://ici.radio-canada.ca/premiere/premiereplus/sante/p/41107/le-microbiote-ces-bacteries-qui-nous-regulent>.

Organisation mondiale de la santé 2018. Campylobacter. Retrieved on 20 May 2018, from <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>.

Université d'Angers 2005. Les mécanismes de transports membranaires : passifs, actifs / pores, pompes, canaux. Retrieved on 03 May 2018, from <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/3CoursdeBiochSTRUCT/7Transports/1Transports.htm#Hautpage>.

Avicampus 2008. Les colibacilloses ou infections à *Escherichia coli*. Retrieved on 13 February 2018, from <https://www.avicampus.fr/PDF/PDFpathologie/colibacilloses.pdf>.

Conférences

Gabriel I, Guardia S, Konsak B, Leconte M, Rideaud P, Moreau-Vauzelle C, Dupont C and Mignon-Grasteau S 2011. Comparaison du microbiote bactérien digestif de poulets sélectionnés sur leur énergie métabolisable. INRA neuvièmes journées de la recherche avicole, 29 et 30 mars 2011, Tours, France, pp 1-5.

INRA 2017. Microbiote, la révolution intestinale. Salon international de l'agriculture, 25 Février au 5 Mars 2017, Paris, France, pp 1-25.

Magdelaine P 2015. Analyse de la compétitivité des filières avicoles européennes, perspectives et enjeux. 15ème journée productions porcines et avicoles, 21 Novembre 2015, Paris, France, pp 1-9.

Autres

Cargill 2017 : Communication personnelle

Annexes

Annexe I : Protocole Cargill pour l'essai sur le microbiote intestinal

SPECIES: Ross 308 Broilers

PROPOSAL: Collection of gut microflora samples from broilers originating from farms with 'good' and 'poor' management conditions with the objective to link the microbiota composition with broiler performance. This trial will include evaluation of microflora composition within GIT of broilers at three ages together with weekly zootechnical performance results and final results at slaughter age.

LOCATION : France with 4 farms x 3 ages x 30 birds = 360 swab samples

AGES: 21, 28 and 35 days (alternatively 42d instead of 35d)

FARMS: 2 good and 2 low performing. 30 swabs will be collected to ensure sufficient number of swabs available to perform DNA analysis. Standard performance parameters will be collected on these four farms: 7 day weights, weight at thinning, feed intake (based on the total feed used at the end of the flock), water intake, FCR, mortality, foot pad score and EPEF. In addition to general performance parameters, the individual bird weights will be recorded at the point of collecting the cloacal swab samples. Information related to factors that might affect birds' stress conditions, such as vaccination programs, and the age of thinning, will be shared with Cargill team.

OBJECTIVE: To evaluate the differences in the composition of gut microbiota of broilers on farms with different management conditions.

JUSTIFICATION: Data collection from different regions to expand existing microflora sample database, for more accurate identification of factors within microflora (specific bacteria, or groups and their balance, age of stabilizing of the microflora) that are linked with zootechnical performance.

LABORATORY: Bacterial analysis (DNA extraction and hybridization). Cargill R&D Centre Europe. ANOVA with means compared by False Discovery rate (FDR) set to 0.05%.

MATERIALS: Ideally 2 people. Person handling animals must be experienced. Person collecting samples must have been trained by Galleon team. Small table (optional). Trash can (30 L). Bucket. Trash bag (30L or bigger). Sterile synthetic swabs and loops (1 per sample and some extra, provided by Cargill). 70% Ethanol spray bottle. Gloves (Small, Medium and Large). Paper towels. Set of 240 collection tubes. 2 ml plastic microcentrifuge tubes with screw cap for each bird in a crio box. Tubes are pre-filled with 0.5 ml of reagent (lab grade ethanol) and pre-labeled with cryo-resistant labels. Minimum information in the label is farm, date, and bird number. These tubes will be provided by Cargill with 10 extra. Coveralls, hair nets and safety glasses (for people handling birds or sampling). Styrofoam box with 1 kg of dry ice for each collection. Permanent marker (black). Paper sheet to record individual bird weight, sex, and comments (template provided by Cargill). Pen and pencil. Scale to weight birds. Extension cord to connect scale. Scotch tape (wide) to seal boxes

SAMPLE COLLECTION:

Selection of sample birds. Person 1 will enter the poultry house and randomly select birds for sampling. The birds must be taken from different parts of the house. They can be lined up in buckets (one bird per bucket) or grouped in a box. The number of birds waiting needs to match speed of sampling so birds are not waiting for a long time (stress can change results and birds can empty their rectum). Birds with obvious physical defects (leg problems, broken bones, injured) and culls (too small or sick appearance) must be avoided.

Sample collection. Person 2 will weigh bird and write the body weight in the provided datasheet. Collect swabs from birds in the same order so the body weight matches the sample tube number. Person 2 will hold the bird by both their legs with one hand (with the head up, facing back and against your body; never by their wings). Open the access to the cloaca with one hand (Figure 1) and with the other hand insert the entire head of the sterile swab into the cloaca (~ 2 cm). Using gentle pressure and a circular motion, swab the inside of the cloaca two to three times. You want to make sure there is some fecal material visually present on the head of the swab.

Person 1 will open the respective collection tube by removing the screw cap and immediately insert the swab given by person 2 into the solvent. Twist/swirl and move the swab side to side in the solvent until the fecal material is dispersed in the solvent. Discard the swab and close the tube.

Place the tube down into the dry ice in the dry ice box, ensuring contact with the ice. Person 2 will release the bird from which the sample was taken in a different box and move on to the next bird/sample.

Repeat the procedure. Minimal number of samples required is 20 per house (or treatment) and age combination.

Once last bird has been sampled, release all sampled birds back in the house, clean all materials used, seal the box and ship it to Cargill to be stored in -80°C freezer as soon as possible.

	Diplôme : Master Spécialité : Biologie, Agros sciences Spécialisation : Sciences de l'animal pour l'élevage de demain (SAED) Enseignant référent : Lucile Montagne	
Auteur : Malaurie Chanet Date de naissance : 09 Juin 1994	Organisme d'accueil : Cargill - Provimi Adresse : Parc d'Activités de Ferchaud,	
Nb pages : 19 Annexe: 1	35320 Crevin, France	
Année de soutenance : 2018	Maître de stage : Jennifer Roux	
Titre français : Etude du microbiote intestinal du poulets de chair face à différentes conditions de gestion de l'exploitation. Titre anglais : Study of the intestinal microbiota of broilers facing different management conditions of the farm.		
Résumé Ce mémoire propose une étude sur les différents microorganismes propres au système digestif du poulet de chair Ross 308 en Bretagne. Les résultats ont permis de mettre en avant l'importance d'un microbiote stable dès le plus jeune âge qui sera associé à de meilleures performances zootechniques notamment au niveau des poids à l'abattage. Néanmoins ce critère, ne permet pas de définir la viabilité d'un élevage. D'autres paramètres sont à prendre en compte comme l'indice de consommation, la marge financière ou le taux de mortalité. L'analyse de la présence de bactéries pathogènes est essentielle pour déterminer le meilleur profil microbien. On doit noter l'absence totale de bactéries dangereuses pour l'alimentation humaine ou ayant un impact sur le poids d'abatage. La présence de <i>Lactobacillus</i> impliquée dans la stimulation des fonctions immunes est un réel atout. La mise sur le marché d'additifs capables d'orienter de manière bénéfique la composition du microbiote permettra de favoriser l'état de santé des poulets. L'objectif étant de prévenir l'apparition de maladies, de réduire l'utilisation d'antibiotiques en élevages et d'assurer la qualité microbiologique de la viande.		
Abstract This thesis proposes a study on the different microorganisms specific to the digestive system of Ross 308 broiler chicken in Brittany. The results highlighted the importance of a stable microbiota from an early age, which will be associated with better zootechnical performances, especially in terms of slaughter weights. However, This parameter is not the only one to define the sustainability of farm. Other parameters need to be involve to classify farm like : consumption index, financial margin or the mortality rate. Analysis of the presence of pathogenic bacteria is essential to determine the best microbial profile. It should be noted that there are no bacteria that are dangerous for human consumption or that have an impact on the slaughter weight. The presence of <i>Lactobacillus</i> involved in the stimulation of immune functions is a real asset. The placing on the market of additives capable of guiding the composition of the microbiota in a beneficial manner will make it possible to input the state of health of the broiler. The aim is to prevent the occurrence of diseases, reduce the use of antibiotics on farms and ensure the microbiological quality of the meat.		
Mots-clés : Poulets – Microbiote intestinal – Poids – Conditions d'élevage Key Words: Broiler - Intestinal microflora - Weights - Breeding conditions		

