

IMPACT DES ENTERITES NON SPECIFIQUES SUR LE TUBE DIGESTIF DU POULET

Mallet Serge¹, Puterflam Julie² et Leconte Maryse¹

¹INRA, UR83 Unité de Recherches Avicoles, 37380 NOUZILLY

²ITAVI, 22440 PLOUFRAGAN

RÉSUMÉ

Dans le cadre du programme européen Poultryflorgut, une étude a été menée sur l'impact des entérites non spécifiques sur la physiologie du tube digestif chez le poulet de chair. L'étude a concerné 24 élevages de type standard situés en France dans le Grand Ouest. Dans chaque élevage, 4 animaux étaient sacrifiés et autopsiés à 28 jours afin d'évaluer l'étendue des lésions intestinales. Un échantillon d'iléon a été prélevé pour des études histologiques par la méthode de microdissection. Les hauteurs et surfaces des villosités et des cryptes de Lieberkühn ont été mesurées. Les contenus intestinaux (jéjunum) ont été prélevés pour réaliser des numérations bactériennes: lactobacilles et coliformes. Les élevages ont pu être classés en 3 catégories suivant l'étendue des lésions intestinales observées. Dans les élevages où les animaux ne présentaient aucune lésion (0) ou des lésions sur une seule région de l'intestin, duodénum ou jéjunum (1), aucune différence significative n'a été observée entre les deux catégories pour les paramètres histologiques mesurés. Quand les lésions étaient plus étendues sur les deux régions intestinales (2), une surface des villosités significativement plus importante ($p < 0,05$) était observée. Des populations plus importantes de lactobacilles et de coliformes ont été comptées au niveau du duodénum et du jéjunum chez les animaux présentant des lésions (1 et 2) comparé aux animaux sans lésions (0). Des corrélations significatives ont été mises en évidence entre la quantité de lactobacilles et des paramètres histologiques comme la hauteur et surface des villosités et la profondeur et la surface des cryptes. Le rôle joué par les populations bactériennes dans les modifications histologiques de l'intestin liées aux entérites non spécifiques est discuté.

ABSTRACT

As a part of the European program Poultryflorgut, a study was conducted on the impact of unspecific enteritis on the physiology of broiler gut. The study included 24 batches of 4 birds taken at 28 days of age in poultry houses situated in the west of France. At autopsy, the extent of intestinal lesions was evaluated and a sample of ileum was cut out for histological studies using a microdissection method. The height and surface of the villi and of Lieberkühn crypts were measured. The intestinal content (jejunum) was collected for bacterial numerations of lactobacilli and coliforms. Three classes of poultry houses were defined according to the extent of the intestinal lesions observed. When no lesion was observed (class 0) or if the lesions were limited to only one part of the intestine, duodenum or jejunum (class 1), no significant difference was observed between the two classes for the histological parameters measured. When the lesions were more extended on the two parts of the intestine (class 2), it was observed a surface of the villi significantly increased ($p < 0.05$). Higher populations of lactobacilli and coliforms were counted in the animals with intestinal lesions (class 1 and 2) compared to those with no lesion (class 0). Significant correlations were observed between lactobacilli counts and histological parameters such as the height and surface of the villi and of Lieberkühn crypts. The role played by bacterial populations in the histological modifications observed with unspecific enteritis is discussed.

INTRODUCTION

Ces dernières années, de nouvelles contraintes ont été imposées en alimentation animale telles que l'interdiction des farines animales et des antibiotiques facteurs de croissance ou la réduction du nombre d'anticoccidiens. Dans le même temps, une augmentation des perturbations digestives a été observée dans les élevages de volailles. Ces perturbations digestives peuvent se manifester par des diarrhées pouvant entraîner une dégradation des litières, une baisse de la consommation alimentaire, des pertes de poids, et la prostration des animaux. Différents agents peuvent être responsables de pathologies digestives, comme des virus (entérite hémorragique), des bactéries (colibacillose, salmonellose), des parasites (coccidiose, histomonose), ou des champignons (candidose). Cependant, les troubles digestifs sont diagnostiqués comme non spécifiques en l'absence d'agent pathogène particulier (inconnu et/ou à caractère multifactoriel). Pour mieux connaître l'importance de ces troubles digestifs non spécifiques, il est donc important de mieux les caractériser. Dans une étude récente menée chez la dinde et portant sur un échantillon de 50 élevages français (Gabriel et al., 2007) les entérites nécrotiques non spécifiques représentaient une part importante des maladies digestives diagnostiquées (66%). Aucun lien n'est apparu entre les caractéristiques lésionnelles utilisées à l'autopsie pour le diagnostic des entérites non spécifique et la fréquence de jours à diarrhée observés dans les élevages. Une analyse de la structure de l'intestin a pu montrer au niveau de la muqueuse du jéjunum une diminution de la taille des villosités avec dans certains cas une augmentation de la profondeur des cryptes de Lieberkühn.

Comme des troubles similaires avaient également été signalés chez le poulet de chair, une étude similaire a été entreprise dans le cadre du programme Européen Poultryflorgut (2005-2008) pour mieux caractériser les entérites non spécifiques chez cette espèce (Puterflam et al. 2007). Ce travail a permis dans un premier temps d'identifier comme indicateurs d'apparition des troubles digestifs (diarrhées et litières humides), l'évolution quantitative de la microflore intestinale ou la présence de lésions macroscopiques de la paroi intestinale observées à l'autopsie. Des paramètres liés à la conduite de l'élevage semblaient également importants en présentant des facteurs de risques. Les interactions complexes entre les différents indicateurs confirment le caractère multifactoriel des Entérites Nécrotiques Non spécifiques (ENS).

Nous présenterons ici les résultats concernant les modifications de la structure de la muqueuse intestinale observées au niveau de l'iléon et leurs

relations avec les lésions macroscopiques observées et la microflore intestinale.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

Les poulets de chair utilisés pour l'étude de la morphologie intestinale proviennent de 24 élevages situés en France dans la région du Grand Ouest, de type standard et certifié, choisis aléatoirement parmi les 50 faisant partie de l'étude globale (Puterflam et al. 2007). Dans ces élevages, 4 poulets représentatifs du lot en terme de poids, ont été abattus par saignée en accord avec la réglementation des cabinets vétérinaires et prélevés à 28 jours âge reconnu comme très favorable aux ENS et troubles digestifs. L'autopsie complète réalisée sur ces animaux a permis d'obtenir un diagnostic, pour différencier les animaux sains, de ceux atteints de troubles digestifs spécifiques caractérisés par différentes lésions (Puterflam et al., 2007). Nous avons pour cette étude classé les lots en 3 catégories suivant que les animaux ne présentaient aucune lésion (0), ou que un au moins des animaux du lot présentait des lésions situées : uniquement au niveau du duodénum ou du jéjunum (1) ou des lésions étendues sur les deux segments, duodénum et jéjunum (2).

1.2. Mesures effectuées

Les numérations bactériennes, lactobacilles et coliformes ont été effectuées au niveau des contenus intestinaux (duodénum et jéjunum), respectivement sur milieu gélosé Man, Rogosa, Sharpe (MRS), 48h à 37°C en atmosphère à 5% de CO₂ et gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL), 24h à 37°C en atmosphère normale. Les résultats (moyenne des 4 animaux de chaque élevage) sont exprimés en Log des Unités Formant Colonie (UFC) par gramme de contenu digestif.

La méthode de morphométrie utilisée est une technique de microdissection (Goodlad et al., 1991). Un morceau de segment digestif (0,5 cm) est prélevé au milieu de l'iléon. L'échantillon est ouvert longitudinalement et rincé avec du sérum physiologique (NaCl 9g/l) maintenu à température ambiante. Le prélèvement est fixé à l'aide d'une solution de formol pendant 4h à 20h puis rincé et stocké dans l'éthanol 70% à 4°C jusqu'à son analyse. L'échantillon est alors réhydraté puis coloré (coloration de Feulgen). Les villosités avec leurs cryptes sont délicatement individualisées sous une loupe binoculaire. Pour chaque prélèvement, 10 villosités et 20 cryptes de Lieberkühn sont photographiées et analysées en utilisant un microscope, une caméra et un logiciel d'acquisition

et d'analyse d'image (Visilog version 6.3, Noesis). Pour chaque villosité et crypte, la hauteur et la largeur sont mesurées puis la surface et le rapport hauteur villosités / profondeur cryptes sont calculés.

1.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont effectuées pour chaque paramètre étudié sur les moyennes des 4 animaux de chaque élevage. Les trois classes d'animaux (0, 1 et 2) définies suivant l'étendue des lésions intestinales sont comparées à l'aide du logiciel Statview par analyse de variance, et comparaisons des moyennes selon le test de Fischer ($p < 0,05$).

Des corrélations (régression linéaire) ont été recherchées entre les paramètres morphométriques et les numérations bactériennes réalisés pour chaque animal

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Concernant les lésions intestinales constatées lors de l'autopsie (inflammation, pétéchies, lambeaux), sur les 24 élevages faisant l'objet de cette étude, 3 ne présentaient chez les poulets aucune lésion (groupe 0), 8 présentaient des lésions limitées au duodénum (groupe 1) et 13 des lésions étendues au duodénum et au jéjunum (groupe 2). Comme la présence de lésions était apparue comme étant un bon marqueur des troubles digestifs (Puterflam et al., 2007), il nous a semblé pertinent d'utiliser ce critère pour classer les élevages afin d'étudier les modifications histologiques de la muqueuse en relation avec les lésions macroscopiques observées. La présence de populations bactériennes intestinales (lactobacilles et coliformes) plus importantes (tableau 1) chez les poulets des élevages présentant des lésions (groupes 1 et 2) comparé à ceux des poulets ne présentant pas de lésions (groupe 0) confirme l'hypothèse que la charge bactérienne est également un bon indicateur des troubles digestifs chez le poulet (Puterflam et al., 2007). Les lactobacilles et les coliformes sont impliqués dans la dégradation des nutriments et des minéraux. Les coliformes quant à eux sont également impliqués dans l'apparition de troubles digestifs (diarrhée). Des interactions entre flore et muqueuse intestinale peuvent être soupçonnées (Gabriel et al., 2003).

Comparé aux élevages ne présentant aucune lésion (0), aucune différence significative n'a été observée (tableau 1) pour les différents paramètres histologiques mesurés dans les élevages où les lésions étaient limitées au duodénum (1). En revanche, dans les élevages présentant des lésions plus étendues au niveau du duodénum et du

jejunum (2), on observe une augmentation significative de la surface des villosités iléales. Cette augmentation de surface est surtout due à une augmentation significative de la largeur des villosités. La hauteur des villosités a néanmoins tendance à être augmentée également ($0,1 > p > 0,05$). Aucune différence significative n'est observée au niveau des cryptes malgré une profondeur numériquement supérieure comparée aux animaux du groupe 0. Dans une étude comparable réalisée sur des élevages de dindes (Gabriel et al., 2007), les auteurs avaient montré, au niveau du jéjunum et en présence d'ENS ou de maldigestion un moindre développement des villosités avec des cryptes non modifiées (ENS) ou plus profondes (maldigestion). Les résultats obtenus avec le poulet peuvent paraître contradictoires avec ceux observés chez la dinde, cependant les lieux de prélèvement sont différents. Chez la dinde ils ont été réalisés au niveau du jéjunum, partie de l'intestin où des lésions peuvent être observés avec pour conséquence des villosités diminuées. Sur le poulet, les prélèvements se situaient au niveau de l'iléon, postérieurement aux zones lésées. Il pourrait donc s'agir ici d'un phénomène de compensation des dégâts occasionnés à l'intestin proximal.

Des corrélations significatives ($p < 0,05$) ont été observées entre le nombre de lactobacilles intestinaux et les paramètres mesurés au niveau de la muqueuse intestinale (longueur et surface des villosités, profondeur et surface des cryptes). Ceci peut traduire une augmentation de la prolifération cellulaire.

Une augmentation similaire de la taille des villosités au niveau du jéjunum et de l'iléon avait déjà été observé chez des poulets recevant un aliment supplémenté par différents probiotiques : avec des lactobacilles (Gunal et al., 2006), avec *Bacillus subtilis* (Samanya & Yamauchi, 2002) ou avec *Saccharomyces servisiae* (Santin et al., 2001). L'origine de cette prolifération cellulaire peut être due en partie aux acides gras à courte chaîne produits par les bactéries lactiques. Ichikawa et al. (1999) a pu en effet observer chez le rat une augmentation de 40% de la production cellulaire au niveau de l'iléon avec *Lactobacillus casei*.

CONCLUSION

Chez les animaux présentant à l'autopsie des lésions étendues au niveau du duodénum et du jéjunum, le nombre de lactobacilles et coliformes, au niveau du jéjunum, est plus élevé que chez les animaux ne présentant pas de troubles intestinaux.

De plus, une augmentation de la surface d'absorption des villosités de l'iléon a été observée chez les animaux présentant des lésions, ce qui peut

en partie compenser les pertes de fonctionnalité de la partie présentant des lésions. Cependant, les nutriments détournés vers la prolifération cellulaire intestinale le sont au détriment des performances de croissance du poulet. D'autres effets peuvent aussi être induits par cette prolifération cellulaire comme une augmentation de la production de mucus avec

des conséquences sur l'humidité des excréta et de la litière.

Remerciements

Ces travaux ont été financés par le programme Européen Poultryflorgut (2005-2008).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Coates M.E., 1980. In: Growth in animals. (Ed) T.L.J. Lawrence. Butterworths, London, 175-188.
- Furuse M. & Okumura J., 1994. *Comp. Biochem. Physiol.*, 109A, 547-556.
- Gabriel, I., Mallet, S., Lessire, M., Cinquièmes journées de la recherche avicole, Tours, 26-27 mars 2003.
- Gabriel I., Quimerç'h S., Vivien S., Mallet S., Travel A., Chevalier D. & Bouvarel I., 2007. Septièmes journées de la Recherche Avicole, Tours. 28-29 mars.
- Goodlad R., Levi S., Lee C., Mandir N., Hodgson H. & Wright N., 1991. *Gastroenterology*, 101: 1235-1241.
- Gunal M., Yayli G, Kaya O., Karahan N. & Sulak O., 2006. *Int. j. Poultry Sci.*, 5 (2), 149-155.
- Ichikawa H., Kuroiwa T., Imagaki A., Shineha R. , Nishihira T., Satomi S. & Sakata T., 1999. *Digest. Dis. Sci.*, 44: 2119-2123
- Puterflam J., Grotec E., Derel R., Pinsard J-L., Martin D. & Léorat J., 2007. Septièmes journées de la Recherche Avicole, Tours. 28-29 mars.
- Samanya M. & Yamauchi K., 2002. *Comp. Biochem. Physiol. Part A* 133: 95-104.
- Santin E., Maiorka A., Macari M., Grecco M., Sanchez J.C., Okada T.M. & Myasaka A.M., 2001. *J. Appl. Poultry Res.*, 10: 236-244.

Tableau 1 : Paramètres histologiques (Iléon) et comptages bactériens (jejunum).

	Lésions ¹			Statistiques (ANOVA) ²
	groupe 0	groupe 1	groupe 2	
Villosités				
hauteur (mm)	0,588 ± 0,094	0,644 ± 0,066	0,694 ± 0,080	T
largeur (mm)	0,430 ± 0,042 ^b	0,526 ± 0,084 ^b	0,615 ± 0,096 ^a	**
Surface (mm²)	0,255 ± 0,063 ^b	0,340 ± 0,074 ^b	0,429 ± 0,097 ^a	**
cryptes				
profondeur (mm)	0,155 ± 0,036	0,181 ± 0,036	0,196 ± 0,031	NS
largeur (mm)	0,058 ± 0,002	0,059 ± 0,007	0,060 ± 0,002	NS
Surface (mm²)	0,009 ± 0,002	0,011 ± 0,003	0,012 ± 0,003	NS
Longueur Vill. / Profondeur cryptes	3,84 ± 0,38	3,64 ± 0,61	3,59 ± 0,46	NS
Bactéries intestinales (Log CFU/g)				
Coliformes	1,15 ± 1,20 ^b	4,79 ± 1,94 ^a	4,98 ± 1,04 ^a	**
Lactobacilles	3,25 ± 0,82 ^c	7,52 ± 1,85 ^b	8,72 ± 0,52 ^a	**

¹: moyenne ± écart type de 3 élevages (0), 8 élevages (1) et 13 élevages (2)

²: NS = non significatif (p>0,05); ** = significatif (p<0,01); T = tendance (0,1>p>0,05)

a, b, c : les moyennes avec des lettres différentes sont statistiquement différentes (p<0,05)