

I. LA LITIERE, MILIEU DE VIE DES ANIMAUX

MCours.com

A. Caractéristiques de la litière

La litière peut être définie comme un « lit de paille ou d'autres matières végétales, souple, isolant et absorbant, qu'on étend dans les bâtiments d'élevage pour servir de couche aux animaux » (Larousse, 2009). Le **substrat** d'origine va évoluer considérablement pendant la phase d'élevage résultant en une combinaison de composition variable et évolutive de déjections accumulées, de plumes, de matériel absorbant (Bernhart *et al.*, 2010), de déchets d'aliments (Abelha *et al.*, 2003). Le matériel absorbant (« bedding material » en anglais) initial est souvent désigné sous le nom de « litière » tandis que le terme « **fumier** » est réservé préférentiellement au mélange contenant les **fientes** (Kelleher *et al.*, 2002).

Le matériau servant de support de litière en **volailles** de chair doit présenter les qualités suivantes : il doit être un bon isolant thermique, souple, confortable, absorber l'humidité, être peu poussiéreux et sain.

Plusieurs types de **substrat** sont disponibles sur le marché :

- les copeaux de bois : ils ne doivent pas avoir été traités par des biocides et provenir de bois blanc (cèdre, *Cedrus* spp. par exemple) ou de résineux (pin, *Pinus* par exemple). Les copeaux ont une grande capacité d'**absorption** en eau, constituent un bon isolant thermique et sont confortables pour les animaux ;
- la sciure de bois est généralement déconseillée pour les **volailles** à cause de problèmes de conservation de l'humidité absorbée, de la formation de croûtes favorisée et de la production de poussière ;
- la paille de blé entière : elle est étalée directement dans le bâtiment sans aucun traitement mécanique particulier. Elle devra être sèche, sans foin et dépoussiérée, afin d'éviter certaines affections respiratoires comme l'aspergillose. Elle est actuellement déconseillée car elle ne présente pas toutes les qualités requises et notamment un faible pouvoir absorbant ;
- la paille de blé hachée : hachée mécaniquement, elle donne un produit très souple. Les brins sont courts et la litière plane et homogène. Il est préférable de procéder au hachage à l'extérieur du bâtiment à cause des poussières générées ;
- la paille de blé broyée, défibrée, dépoussiérée : le broyage permet d'éclater les tiges rigides de la paille. De ce fait, le pouvoir de rétention en eau de la litière sera augmenté. Au démarrage du lot de poussins, il est nécessaire que la litière soit bien égalisée.

Plus anecdotiquement, en Europe et en fonction de la localisation géographique, on peut utiliser :

- les coques d'arachide ou de riz ;
- la paille de riz ;
- le chanvre ;
- les **anas de lin** ;
- les aiguilles de pin ;
- ou les lambeaux de papier (Bernhart et Fasina, 2009 ; Liechty *et al.*, 2009 ; McGahan *et al.*, 2008 ; ITAVI, 1997a ; Jacquet, 2007).

Un autre paramètre intervient dans le choix du matériel absorbant, c'est le prix. Ainsi, les **anas de lin** constituent une excellente litière et leur prix reste raisonnable (Jacquet, 2007). Les coûts de

revient peuvent ainsi être classés dans l'ordre croissant : paille entière, puis paille hachée ou paille broyée défibrée ou mélange paille-copeaux, puis copeaux (ITAVI, 1997a).

Le mot « **fumier** » (« manure » en anglais) est également parfois utilisé pour décrire les excréments seuls. Nous lui préféreront le terme « **fientes** ». Les **fientes** de **volaille** constituent une masse importante de matières organiques facilement **fermentescibles**. Leur teneur en **azote** est élevée, de l'ordre de 20 % en moyenne (ITAVI, 1997b). Elle est due à l'excrétion combinée de l'urine et des fèces chez les **volailles**. L'**azote** est excrété principalement sous forme d'acide urique, un composé azoté non protéique, et principal catabolite final du métabolisme des purines. Les **fientes** de **volaille** ont une concentration élevée en **azote** qui se décompose sous forme d'acide urique (61 %), d'**azote** organique (31 %) et d'ammoniac (8 %) (Rodhe et Karlsson, 2002).

En conclusion, dans cette thèse, on utilisera le mot « litière » pour désigner le matériel absorbant seul ou l'évolution du mélange de matériel absorbant et des **fientes** et des autres composants (plumes, déchets d'aliment). Enfin, le terme « **fumier** » désignera le produit obtenu après le départ des animaux.

B. Les différentes fonctions de la litière

1. Isolation

La litière contribue à l'obtention et au maintien d'une température ambiante adaptée en isolant le sol. Sa capacité isolante dépend de son épaisseur et de sa nature. Ainsi, une épaisseur de 10 à 15 cm de paille hachée (soit 6 kg/m²) correspond à un **coefficient d'isolation K** d'environ 0,60 W/m²K.

La litière isole thermiquement les animaux du sol, en minimisant les pertes par **conduction** principalement à partir des pattes et éventuellement du bréchet, tant que celui-ci n'est pas complètement emplumé ou lorsque ces parties anatomiques sont souillées ou lésées. Lorsque les **volailles** se déplacent ou se reposent sur une litière humide, une thermolyse importante peut s'opérer à partir des pattes et du bréchet, provoquant ainsi un refroidissement important à ce niveau. La dégradation de la litière peut donc augmenter jusqu'à 5 ou 6 °C la **température critique inférieure** des oiseaux (ITAVI, 1997a).

2. Confort des animaux

a) Confort physique

La litière contribue au confort des animaux et limite l'apparition de lésions (ampoules) au niveau du bréchet. Ces lésions peuvent survenir lorsque les animaux restent au contact d'un sol trop dur, croûté et trop froid (ITAVI, 1997a et 2009).

b) Développement comportemental

Le « bain de poussière » est observé chez de nombreuses espèces d'oiseaux. C'est une séquence comportementale complexe qui débute chez le poulet (*Gallus gallus domesticus*) par le grattage et le picorage du **substrat**. L'oiseau érige d'abord son plumage puis s'accroupit dans le **substrat**. Une fois étendu au sol, l'animal entreprend une séquence chronologique en quatre phases principales : il

bat des ailes avec le corps à la verticale, frotte la tête, picore et gratte avec une patte le **substrat**. Survient ensuite une phase pendant laquelle l'oiseau, plumes aplaties sur le corps, passe plus de temps couché ou se frottant sur le côté, entrecoupée de mouvements plus dynamiques. Environ 20 minutes après le premier battement d'ailes vertical, l'oiseau se relève et se débarrasse de la poussière en s'ébrouant, avant de retourner à d'autres activités.

Pour un animal donné disposant d'un accès illimité à la litière, ce comportement est observé en moyenne tous les 2 jours. En l'absence de litière ou d'autre matériel disponible, les **volailles** pratiquent un « bain de poussière à vide » reproduisant alors la séquence comportementale à l'identique, mais sur le sol nu (Olsson et Keeling, 2005).

Ces constatations ont conduit l'Union Européenne à modifier la législation : en 2012, toutes les poules pondeuses devront avoir accès à une litière. Cette modification réglementaire a été suivie par l'apparition de cages dites aménagées, contenant **bacs à poussière**, nids et perchoirs. Malgré cela, les poules continuent à exprimer le bain de poussière à vide, bien qu'elles aient accès à un **bac à poussière**, comme l'ont montré Olsson *et al.* (2002). L'accès précoce à un **substrat** donné influence également la préférence des animaux pour le bain de poussière à l'âge adulte : ainsi les oiseaux élevés sur herbe et sable préfèrent-ils le sable ou le sol, tandis que ceux élevés sur grillage picorent davantage la nourriture que la litière, et piquent le plumage des autres oiseaux (Olsson et Keeling, 2005).

Le nombre de bains de poussière à l'âge adulte est inférieur pour les oiseaux élevés en l'absence de la litière que pour ceux qui sont élevés sur du sable ou de la paille (Johnsen *et al.*, 1998 dans Olsson et Keeling, 2005).

En conclusion, les oiseaux, élevés avec ou sans litière, développent tous un comportement de bain de poussière dont la fréquence ne varie pas significativement en fonction de la présence ou non d'un **substrat** particulière. L'apparition de cages équipées de **bacs à poussière** ne s'est pas accompagnée d'une diminution du nombre de séquences de bain de poussière à vide observées.

Le type de **substrat** utilisé affecte également la structure du comportement de bain de poussière : des poussins élevés sur du grillage ou sur du sable ont été observés pendant 3 phases, (1) de J2 à J5, (2) de J8 à J15 et (3) de J20 à J23. Pendant les phases 1 et 3, les bains de poussière duraient moins longtemps chez les animaux élevés sur grillage, chez lesquels le **picage**, incluant l'allopillage remplaçait le picorage (Larsen *et al.*, 2000 dans Olsson et Keeling, 2005).

Sanotra *et al.* (1995, dans Olsson et Keeling, 2005) a conditionné des poussins à réaliser des bains de poussière dans de la paille, des copeaux de bois ou des plumes. Aucune différence de comportement n'a été trouvée entre les **substrats** pendant la phase de préparation. La préférence pour un **substrat** donné était ensuite testée en proposant aux oiseaux 2 types litières simultanément, à savoir celui auquel ils avaient été habitués, et le sable. Les oiseaux choisissaient progressivement le sable, abandonnant le **substrat** initial. Ceci s'accompagnait d'une augmentation du temps de latence précédant la séquence du bain de poussière.

D'une manière générale, les **volailles** préfèrent les **substrats** à structure fine comme le sable ou la **tourbe** à ceux qui présentent une structure plus grossière comme les copeaux de bois, la paille, les plumes ou les cosses de riz. Lorsque l'on compare sable et **tourbe**, aucune différence significative quant à la préférence n'est observée (Olsson et Keeling, 2005).

Vestergaard *et al.* (1997, dans Olsson et Keeling, 2005) ont étudié le lien entre le retrait de la litière et le stress des animaux en mesurant le taux de cortisol des poules placées dans diverses conditions

potentiellement stressantes. Les oiseaux étaient répartis en deux lots élevés soit en l'absence litière soit en présence de sable. A partir de 32 à 34 mois, ceux élevés sur grillage passaient sur litière de sable et inversement. Les taux de cortisol étaient similaires entre les groupes avant le changement, et l'augmentation du taux de cortisol était plus importante pour les oiseaux élevés initialement sur litière.

En conclusion, le stimulus visuel semble important dans la motivation des poules pour la pratique du bain de poussière, ainsi que l'expérience précoce de la litière pour les animaux. Le fait de supprimer l'accès à la litière constitue un stress important pour les animaux.

Dans les élevages intensifs helvétiques de poules pondeuses en volières, le **picage** des plumes et le cannibalisme constituent un problème majeur. Il concerne non seulement les adultes mais également les poussins. Huber-Eicher et Sebö (2001) ont montré que l'accès à la litière lors des deux premières semaines de vie permettait de diminuer significativement le **picage** des plumes chez les très jeunes oiseaux. Sept volières localisées dans 6 fermes ont été utilisées pour cette étude : chaque volière était divisée en deux compartiments. Dans le premier compartiment (compartiment expérimental), les poussins avaient un accès illimité à la litière de copeaux de bois pendant les deux premières semaines de vie, tandis que dans le deuxième compartiment (compartiment témoin), ils étaient élevés sur une grille plastique jusqu'à 15 jours d'âge. Ensuite, les animaux des deux lots disposaient d'un accès illimité à la litière. Deux sessions d'observation ont été réalisées, à la 5^e et à la 14^e semaine respectivement, pour noter le nombre d'animaux présentant des plumes abîmées ou manquantes, les interactions agonistiques (**picage**), les comportements de fouille du sol (comportement enregistré la 5^e semaine seulement).

Les poussins du premier lot montraient significativement moins de **picage** des plumes et moins d'oiseaux avaient les plumes de la queue endommagées lors des deux sessions. Par ailleurs, ils passaient significativement plus de temps à fouiller le sol. En revanche, aucune différence significative n'a été observée sur la mortalité des oiseaux entre le compartiment expérimental et le témoin.

La mise à disposition précoce de la litière permet donc de diminuer significativement le **picage** des plumes chez les **volailles** placées en volière ; l'accès illimité à la litière pendant une longue durée (12 semaines) ne permet cependant pas de compenser l'absence d'accès lors des deux premières semaines de vie. En revanche, cette étude n'a pas permis de montrer une influence de la présence ou l'absence permanente de litière sur le cannibalisme.

3. Absorption de l'humidité

Par temps doux et humide, lorsque la ventilation est insuffisante et que l'air circulant ne peut plus absorber d'humidité, la litière joue un rôle « d'absorbeur d'humidité », qu'elle restitue d'ailleurs par la suite (ITAVI, 1997a).

4. État de la litière

L'état de la litière dépend de multiples facteurs que l'éleveur doit maîtriser. Par contre, l'effet saison est plus difficilement maîtrisable. Dans le cas de fortes chaleurs, une litière peu épaisse, voire humide, est susceptible faciliter la thermorégulation des animaux. En revanche, une telle litière aura

des inconvénients majeurs (voir E. 4. c)). Par temps humide et doux, il est préférable d'avoir une litière épaisse pour augmenter sa capacité d'absorption d'eau (ITAVI, 1997a).

Une bonne litière doit être :

- sèche : de façon à assurer le confort thermique des animaux ;
- saine : elle ne doit pas être le support de développement d'agents pathogènes ni de poussières ;
- souple : pendant toute la durée de l'élevage, pour assurer le confort physique des animaux ;
- pas trop **fermentescible** (voir C. 2. b)) pour éviter les dégagements d'ammoniac ;
- absorbante : afin d'assurer l'absorption de l'humidité des **fientes** ;
- épaisse : car il est difficile de maintenir une litière correcte si son épaisseur est insuffisante au départ.

A contrario, une mauvaise litière sera :

- humide : cet état favorisera les dégagements d'ammoniac et détériorera le confort des animaux (difficultés de déplacement, perte de chaleur importante par **conduction**, brûlures sur les différents points d'appui ou de contacts, aux pattes, aux genoux, au bréchet). L'addition de **superphosphate** peut permettre d'assécher la litière ;
- grasse : lors d'**entérites** sévères, certaines protéines plasmatiques (collagène, fibrinogène) sont excrétées en quantités importantes dans la litière, lui conférant ainsi cet « aspect gras ». Cet état de la litière peut provenir également de l'excrétion de matières grasses non digérées ;
- croûtée : le phénomène de croûtage est susceptible de se développer dans les zones où il y a des pertes d'eau sous les abreuvoirs notamment. Un stress thermique froid peut également induire des diarrhées responsables de la formation d'une croûte. L'Institut Technique Avicole conseille de repailler à la demande pour éviter ce défaut. Certains éleveurs passent préalablement un motoculteur pour casser les croûtes de la litière et l'aérer de nouveau ;
- poussiéreuse : les poussières en suspension constituent des supports très efficaces de dissémination de différents microorganismes pathogènes notamment à tropisme respiratoire, (ITAVI, 1997a, 2009).

Un test simple proposé par Jacquet (2007) pour évaluer l'humidité de la litière consiste à saisir une poignée de litière et à la comprimer. Si, lorsqu'on ouvre la main, la litière tombe en morceaux, cela indique que sa teneur en humidité est d'environ 20 à 25 %. Si, en revanche, la litière est trop humide, elle restera en masse compacte lorsqu'on ouvre la main.

5. Zonage dans le bâtiment

À l'intérieur d'un bâtiment d'élevage, il existe plusieurs zones distinctes par leur aspect et leur teneur en humidité (ITAVI, 1997a).

- la zone « abreuvoir » est caractérisée par sa teneur importante en humidité, d'autant plus si les abreuvoirs fuient ou ne sont pas équipés de récupérateurs ;
- la zone « mangeoire » est relativement humide car généralement assez chargée en déjections. On y trouve également des particules alimentaires ;
- La zone « dortoir » est généralement la plus sèche de tout le bâtiment.

a) Zones humides

Les oiseaux, dans la mesure où ils en ont la possibilité, s'éloignent d'eux-mêmes des zones de vie inconfortables, en particulier autour des abreuvoirs où la litière est croûtée et humide (plus de 60 % d'humidité).

Les lames d'air mesurées à ce niveau présentent une température plus faible : 15 à 20 °C pour une ambiance à 21 °C.

Les animaux vivant dans ces zones humides présentent un plumage souillé et humide, un bréchet dégarni de plumes et souvent mouillé. C'est principalement à ces endroits du bâtiment que l'on dénombre le plus d'individus présentant des anomalies de type ampoules ou pustules.

Les pertes thermiques par **conduction** (pattes et bréchet) sont potentiellement importantes et se répercutent sur la physiologie des animaux (thermorégulation) ainsi que sur leurs performances zootechniques (**efficacité alimentaire**).

b) Zones sèches

Les emplacements secs, souples, voire chauds de la zone « dortoir » sont naturellement recherchés par les oiseaux sauf par fortes chaleurs. Cependant, les litières chaudes peuvent présenter l'inconvénient de produire trop d'ammoniac (voir C. 2. b)).

En conséquence, il existe donc une méthode d'entretien et de gestion du poste litière à respecter pour obtenir le meilleur équilibre au profit des animaux présents (ITAVI, 1997a).

C. L'écosystème litière

Au début de l'élevage, la litière est caractérisée par une teneur en matière sèche très élevée (supérieure à 90 % pour la sciure ou les copeaux de bois tendre, par exemple), une forte concentration en **carbone** (environ 50 % pour la sciure ou les copeaux de bois tendre), une faible teneur en **azote** (< 0,5 % à 1 % pour la sciure et les copeaux de bois tendre, respectivement) se présentant essentiellement sous forme insoluble. Le rapport **carbone/azote** s'inverse au fur et à mesure que s'accumulent les déjections animales. Ces dernières sont caractérisées par leurs très fortes concentrations en composés azotés hautement dégradables (acide urique notamment) et générateurs potentiels de grandes quantités d'ammoniac, mais aussi par leur richesse en eau qui entraîne l'abaissement progressif du taux de matière sèche au-dessous de 50 % (Zhu et Lee, 2005 ; Kim *et al.*, 2009 ; Guinebert et Pénaud, 2005).

1. Biocénose de la litière

Les litières de **volaille** sont des **écosystèmes** dynamiques qui évoluent pendant la phase d'élevage. Pour comprendre cette évolution, il est nécessaire de connaître les acteurs impliqués. Les litières peuvent également participer au cycle de nombreux organismes pathogènes pour l'Homme ou les animaux. De façon générale, la population microbienne des litières de **volaille** est composée de moisissures, d'algues et de bactéries **hétérotrophes** aérobies (bactéries acidophiles, actinomycètes et bactéries aérobies pouvant sporuler) (Gupta *et al.*, 2004).

a) Bactéries

(1) Population bactérienne générale

Peu d'études sont disponibles sur la population bactérienne des litières, les études portent surtout sur les bactéries pathogènes susceptibles de s'y trouver.

Lu *et al.* (2003) ont étudié la composition bactérienne de la litière de poulet de chair (sur litière de bois blanc) en utilisant à la fois les méthodes de mise en culture et d'identification moléculaire. Les bactéries aérobies étaient détectées par les méthodes de culture à partir de 10^9 UFC/g de litière. Les entérobactéries comme *Enterococcus* spp. et les coliformes représentaient 0,1 et 0,01 %, respectivement, des bactéries aérobies totales cultivables dans la litière. Aucune souche de *Salmonella* n'a été détectée par culture. Pour caractériser les groupes bactériens les plus importants, les auteurs ont ensuite séquencé les gènes d'ADN ribosomal 16S par PCR à partir de l'ADN total de la communauté microbienne isolé dans la litière. .

Douze familles ou groupes ont été ainsi identifiés avec comme représentants principaux *Lactobacilli* et *Salinococcus* spp. En effet, 82 % des séquences totales appartenaient à des bactéries Gram positives, dont 62 % à des taxons à faibles GC%. En plus de la détection des séquences d'ADN ribosomal 16S correspondant à des bactéries d'origine fécale, de nombreuses autres séquences bactériennes ont été détectées dans la litière: *Globicatella sulfidofaciens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium urealyticum*, *Clostridium aminovalericum*, *Arthrobacter* spp., et *Denitrobacter permanens*. Celles-ci pourraient être impliquées dans la dégradation du bois et les cycles de l'**azote** et du soufre. D'autres séquences bactériennes correspondant à des agents pathogènes potentiels ont également été identifiées, à l'instar de *Clostridium*, *Staphylococusi*, et *Bordetella* spp. En revanche, n'ont pas été détectées *Salmonella*, les *Escherichia coli* pathogènes, *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp., *Listeria* spp., ou les *Staphylococci* toxigéniques.

Il existe néanmoins des variations de la composition de la flore bactérienne en fonction des types de productions de **volaille** : Omeira *et al.* (2006) ont comparé les propriétés microbiologiques de la litière générée par les poules pondeuses et les poulets de chair élevés dans des systèmes de production intensive ou en plein air. L'analyse microbiologique consistait en une numération des bactéries totales, des coliformes totaux, des espèces de staphylocoques, de *Salmonella* et de *Clostridium perfringens*. La litière des poules pondeuses élevées présentait un comptage bactérien total plus faible que celle des poulets de chair indépendamment du système d'élevage choisi. La litière des pondeuses élevées en conditions intensives avait les plus faibles numérations en moyenne de coliformes totaux alors que le plus faible comptage en espèces de staphylocoques était observé dans la litière des pondeuses de plein air. Les comptages de *C. perfringens* étaient minimaux pour les **volailles** élevées de manière intensive et ce quel que soit le type de production.

En conclusion, les litières hébergent une très grande diversité bactérienne, laquelle varie selon l'espèce de **volaille** élevée et le type de **substrat** utilisé. Le développement de la PCR a permis de détecter et d'identifier de nombreuses bactéries non mises en évidence par les techniques classiques de mise en culture. Les bactéries Gram positives constituent plus de 80 % de la communauté de la litière par rapport aux *Enterobacteriaceae* qui représentent moins de 2 % de cette **biocénose** (Nandi *et al.*, 2004).

(2) Bactéries pathogènes pour l'Homme

Les poulets de chair sont souvent des porteurs de *Salmonella*, dont certains sérotypes (Typhimurium ou Enteritidis) sont responsables de toxi-infections alimentaires majeures chez l'Homme, dans lesquelles les produits de viande de **volaille** sont fréquemment incriminés. Afin d'éviter efficacement la contamination des produits d'origine animales par *Salmonella*, des mesures drastiques de contrôle doivent être mises en oeuvre au niveau des élevages pour réduire la prévalence du portage. Rose *et al.* (1999) ont essayé d'identifier les facteurs de risque relatifs à la contamination par *Salmonella* des bandes de poulets de chair industriels en France à la fin de la période d'élevage. Une étude prospective a été menée dans ce but en 1996 et 1997 sur 86 bandes de poulets de chair situées dans l'ouest du pays. Le statut des élevages vis-à-vis de *Salmonella* des bandes était évalué au moyen d'écouvillons de litière et d'échantillons de poussière analysés avec des méthodes bactériologiques classiques. Soixante bandes (70 %) avaient au moins un échantillon environnemental contaminé et étaient classées comme « bandes contaminées par *Salmonella* ». Une régression logistique a été utilisée pour évaluer l'impact des différentes pratiques d'élevage, des mesures d'hygiène générale, du niveau de contamination de l'environnement par *Salmonella* sur la probabilité de contamination de la bande par cette même bactérie à la fin de la période d'élevage. Les facteurs de risque identifiés comme significatifs étaient la contamination initiale du poulailler avant introduction des animaux et le portage de *Salmonella* sur les poussins d'un jour. Le risque de contamination d'une bande augmentait lorsque les camions d'aliments se garaient à proximité de l'entrée du vestiaire et lorsque l'aliment démarrage se présentait sous forme de farines, plutôt que sous forme de miettes.

Refrégier-Petton *et al.* (2001) ont tenté d'identifier les facteurs de risque associés cette fois à la contamination de bandes de poulets de chair français par un autre microorganisme important en termes de santé publique, à savoir *Campylobacter*. Ils ont travaillé sur 75 élevages de poulets de chair dans l'ouest de la France. Un questionnaire était fourni aux éleveurs et des échantillons de déjections fraîches étaient prélevés pour évaluer le statut de la bande de poulets de chair par rapport au germe cible. Moins de la moitié des bandes (42,7 %) étaient positives pour *Campylobacter* spp. Le risque de contamination de la bande de poulets par ce microorganisme augmentait dans les poulaillers fonctionnant en ventilation statique (OR = 20,8), dans les élevages comptant au moins 3 bâtiments (OR = 13,2), en été/automne (OR = 6,4), lorsque l'eau de boisson des poulets était acidifiée (OR = 4,2), ou que deux personnes ou plus s'occupaient de la bande de **volaille** (OR = 3,1). La présence de coléoptères provenant de la litière dans le vestiaire augmentait également le risque de contamination (OR = 5,0) contrairement à l'administration de traitements antibiotiques curatifs.

(3) Antibiorésistance

On estime qu'environ 80 % des élevages de **volaille** utilisent des antibiotiques dans l'alimentation aux Etats-Unis d'Amérique (Graham *et al.*, 2009b). Leur utilisation dans la production industrielle de poulet de chair se traduit par la sélection de bactéries antibiorésistantes dans les **fientes** de ces oiseaux.

Contrôler la dispersion des bactéries multirésistantes est illusoire si on ignore l'histoire naturelle des gènes de résistance, des éléments mobiles qui les portent, et des hôtes bactériens qui les contiennent. En utilisant des techniques des techniques de cultures classiques et de génétique

moléculaire, Nandi *et al.* (2004) ont quantifié les gènes d'antibiorésistance et les éléments mobiles (intégrons) dans la litière de poulailler d'élevages industriels de **volaille**. Contrairement à ce qui était attendu, le réservoir majeur des intégrons de classe 1 dans la litière de **volaille** n'est pas constitué par leurs hôtes précédemment identifiés, les *Entérobacteriaceae* Gram négatives, comme *Escherichia coli*. Les intégrons et les gènes de résistance associés abondent en effet dans différentes populations de bactéries Gram positives qui constituent plus de 80 % de la communauté de la litière par rapport aux *Enterobacteriaceae* représentant moins de 2 % de cette population.

Khan *et al.* (2005) ont tenté d'identifier plus précisément les souches multirésistantes d'*Enterococcus* spp. par leurs marqueurs de résistance et de virulence. Dans ce but, ils ont isolé trente souches multirésistantes d'*Enterococcus* spp., incluant deux issues de lait de vaches avec mammite, neuf de litière de poulet et dix-neuf de litière de dinde. Vingt-cinq d'entre elles ont été identifiées par des méthodes biochimiques comme étant *E. gallinarum* ou *E. faecalis*. La plupart des isolats étaient multirésistants (vancomycine, gentamicine, streptomycine, tétracycline, érythromycine, bacitracine, kanamycine, acide nalidixique) mais sensibles à la ciprofloxacine, au sulfaméthoxazole, au chloramphénicol, à l'ampicilline et à l'ofloxacine. Des tentatives d'amplification partielle des séquences de gènes ont été faites pour détecter les marqueurs de résistance à la vancomycine *vanA* (734 paires de bases), *vanB* (420 pb), *vanC1* (531 pb) et *vanC2-C3* (673 pb); les marqueurs de virulence *cylA* (427 pb) et *cylB* (225 pb) pour la cytolysine entérococcique et la protéine de surface de formation de biofilm (*Esp*). Des essais individuels et multiplex de PCR ciblant les marqueurs de résistance à la vancomycine ont mis en évidence le gène *vanC1* dans 22 souches d'*E. gallinarum*. Pour les isolats restants (*E. faecalis* et *E. gallinarum*), le gène porteur de la résistance n'a pu être identifié. Des niveaux intermédiaires de résistance à la vancomycine dans les entérocoques des animaux de rentes aux Etats-Unis d'Amérique étaient principalement dus à la présence du gène *vanC1*.

En conclusion, l'utilisation systématique et à large échelle aux Etats-Unis d'Amérique des antibiotiques dans la production des **volailles** a conduit à l'apparition de bactéries antibiorésistantes. Selon les études, les bactéries sont porteuses d'un ou plusieurs gènes de résistance, ce qui diminue l'arsenal thérapeutique utilisable chez les humains et les animaux atteints de maladies causées par ces bactéries.

(4) Évolution bactérienne de la litière au cours de l'élevage

L'accumulation progressive des **fientes** sur la litière favorise la prolifération de la flore bactérienne présente qui passe progressivement d'une concentration de 10^4 UFC/g dans la litière propre à 10^8 UFC/g dans le fumier. Les entérobactéries et les coliformes subissent une évolution encore plus importante puisque leur nombre peut être multiplié par un facteur 10^5 à 10^6 . Dans le même temps, on note la disparition de la flore anaérobie stricte présente dans les fèces au niveau de l'intestin des animaux et son remplacement, dans la litière, par une flore aérobie-anaérobie facultative opportuniste (Guinebert et Pénaud, 2005).

b) Protozoaires

Les coccidioses du poulet sont provoquées par des protozoaires parasites du genre *Eimeria*. Les coccidies, en dépit de la prophylaxie anticoccidienne (vaccination notamment) mise en place, peuvent engendrer des manifestations cliniques ou plus souvent une dégradation des performances zootechniques dans certains élevages, bande après bande, alors que le contrôle est efficace dans la majorité des exploitations avicoles recourant à ces programmes de contrôle.

Les coccidioses sont provoquées par l'ingestion d'oocystes sporulés. Les conditions favorables à leur sporulation sont l'humidité et la chaleur, en présence d'oxygène, lesquelles sont réunies dans la litière qui ne constitue cependant pas le milieu idéal à la survie prolongée des oocystes. Après 5 jours dans la litière, environ 95 % des oocystes d'*Eimeria acervulina* ont sporulé, mais jusqu'à 70 % d'entre eux peuvent avoir été endommagés, probablement sous l'action des bactéries ou de l'ammoniac. La viabilité des oocystes commence à s'effondrer au-delà de 3 semaines. Des oocystes viables peuvent être détectés dans la litière des poulets de chair reproducteurs vaccinés après 3 ou 4 mois seulement parce qu'ils ont été produits par des poulets vaccinés qui ont ingéré des oocystes et qui ont excrété en continu. La production et donc l'excrétion dans le milieu extérieur des oocystes diminuent au fur et à mesure que l'immunité des oiseaux se renforce.

En théorie, plus le climat est sec, moins il y a de problèmes de coccidiose, mais ceci n'est pas toujours observé en pratique : plusieurs études non publiées ont abouti à des résultats contraires. Une explication pourrait être donnée par la constatation expérimentale suivante : la sporulation des oocystes d'*Eimeria maxima* est la meilleure lorsque la litière contient initialement 5 % d'humidité et augmente progressivement jusqu'à 16 % en 106 heures et elle est la pire lorsque la litière contient initialement 60 % d'humidité et augmente jusqu'à 62 %. Une litière humide est propice au développement bactérien et à la production d'ammoniac, avec une diminution concomitante du taux de dioxygène, ce qui pourrait nuire à la sporulation d'*E. maxima* (Williams, 1998).

Répérant *et al.* (2007) ont suivi deux élevages de poulets de chair présentant des problèmes récurrents liés à la présence de coccidies. L'évolution des populations parasitaires a été analysée sur deux bandes consécutives dans chacun des deux bâtiments, avec un changement d'additif anticoccidien entre les deux bandes. L'excrétion des oocystes a été mesurée à partir de prélèvements de **fientes** effectués deux à trois fois par semaine. Des prélèvements de terre en surface dans et hors du bâtiment à la fin de la phase d'élevage des poulets puis pendant le vide sanitaire et de litière propre ont été également analysés pour rechercher la présence d'*Eimeria*.

Les coccidies ont été décelées dans les bâtiments à partir de 10-12 jours dans les prélèvements de **fientes** et plusieurs pics d'excrétion ont été observés au cours de l'élevage, reflétant les cycles de développement des protozoaires. Toutefois, dans une des bandes, le développement coccidien a été décalé dans le temps pour être maximal à 30 jours, après mise en place de matériel d'élevage neuf.

Dans les prélèvements de paille et d'eau, des œufs et des larves de nématodes ont été retrouvés, ainsi que des protozoaires ciliés, des acariens et leurs œufs, des rotifères, mais pas d'oocystes de coccidies. Dans un des échantillons de terre, des oocystes ont été observés après enrichissement par flottation en solution saline saturée. Les oocystes observés étaient de deux tailles différentes et correspondaient morphologiquement à *E. acervulina* et *E. maxima*. Aucun oocyste n'a été observé dans les autres échantillons de terre. L'absence d'oocystes de coccidies dans les échantillons environnementaux ne signifie pas qu'il n'y avait pas d'oocystes dans l'environnement, mais que leurs concentrations pouvaient avoir été inférieures au seuil de détection des techniques utilisées. En raison de la nature des prélèvements et leur traitement, ce seuil n'est pas quantifiable.

En conclusion, les litières sont un milieu favorable au cycle parasitaire des coccidies. Ces dernières peuvent survivre sous forme sporulée jusqu'à 3 semaines dans la litière. Entre deux bandes d'oiseaux, le sol du bâtiment semble jouer un rôle dans la persistance des coccidies. En revanche, la litière propre introduite dans le bâtiment avant l'arrivée d'une nouvelle bande ne semble pas participer à l'introduction de nouvelles coccidies.

c) Helminthes

Maurer *et al.* (2009), dans le cadre de six poulaillers industriels de poules pondeuses, ont examiné l'effet de la gestion d'une litière de paille de blé sur le taux d'humidité, le nombre d'œufs d'helminthes et l'**infectivité** de la litière en ciblant les nématodes intestinaux *Ascaris galli*, *Heterakis gallinarum* et *Capillaria* spp. Trois modalités de traitement ont été mis en place dans chaque poulailler en parallèle : dans le compartiment A, aucune intervention n'a été réalisée (zone témoin), dans le compartiment B, la litière humide et compactée était remplacée chaque semaine, et dans le compartiment C, de la litière neuve était ajoutée sur toute la surface de l'aire paillée chaque semaine. Le taux de matière sèche de la litière et les paramètres parasitologiques (concentration en œufs d'helminthes dans les échantillons de litière, comptage d'œufs fécaux dans le groupe d'animaux en ponte, prévalence d'helminthes et calcul de l'**infectivité** de la litière à partir de deux séries d'animaux **sentinelles**) ont été déterminés toutes les quatre semaines pendant les 32 premières semaines d'une période de ponte. Le taux de matière sèche de la litière variait dans une large gamme (48 à 95 %), huit semaines après le début de l'étude ; il y avait des différences significatives selon les sites de prélèvements mais pas entre les régimes de gestion. Les œufs d'*A. galli*/*H. gallinarum* étaient isolés dans 91 % des échantillons de litière, alors que les œufs de *Capillaria* spp. étaient retrouvés dans seulement 13 % des échantillons. Les concentrations en œufs de la litière sont restées à un niveau similaire pendant la période d'observation. Le type de gestion (B ou C) ne réduisait pas les concentrations en œufs d'helminthes dans la litière par rapport à l'absence de traitement (A). Les pondeuses commençaient à excréter des œufs d'helminthes huit semaines après introduction dans le poulailler. Dans le traitement C (litière ajoutée), les comptages d'œufs fécaux étaient plus bas que dans le traitement témoin à la 8^{ème}, 20^{ème} et 28^{ème} semaines. Il n'y avait pas de corrélation entre la concentration d'œufs d'helminthes dans la litière et les comptages d'œufs fécaux chez les pondeuses. La prévalence d'*A. galli* chez les animaux **sentinelles** était plus faible (< 10 %) que celles de *H. gallinarum* (68-80 %) et *Capillaria* spp. (30-58 %). Les prévalences et la charge en *H. gallinarum* ne différaient pas significativement entre les régimes de gestion. Bien que des concentrations en œufs d'helminthes élevées aient été trouvées dans la litière, la prévalence et la charge en larves chez les animaux **sentinelles** étaient faibles par rapport à une étude similaire réalisée avec des prélèvements effectués dans le passage des **volailles**. La litière affecterait négativement la diversité spécifique et l'**infectivité** des œufs d'helminthes. Cependant, les mécanismes sous-jacents ont besoin d'être clarifiés. Cette étude montre que *H. gallinarum* est l'helminthe principal transmis par la litière. Même si cette espèce est moins pathogène que *A. galli* (Permin et Hansen, 1998 dans Maurer *et al.*, 2009), elle est d'une grande importance à cause de son rôle dans la transmission du protozoaire *Histomonas meleagridis* responsable de l'histomonose ou maladie de la tête noire.

Par rapport à la zone de **parcours libre**, identifiée comme une source importante de contamination par tous les helminthes des **volailles** (Maurer *et al.*, 2009), la litière semble constituer un risque inférieur sur ce plan chez les poules pondeuses. Les auteurs suggèrent donc de concentrer la gestion préventive des helminthes autour de l'aire de **parcours libre**.

d) Insectes

La litière abrite de nombreuses espèces d'insectes, capables d'interagir entre elles. L'une des espèces d'intérêt est le ténébrion (*Alphitobius diaperinus*) qui envahit progressivement la litière dans les bâtiments d'élevage. *Alphitobius diaperinus* est un insecte nuisible d'origine tropicale introduit dans les zones tempérées. Tous les stades de ténébrion (*Alphitobius diaperinus*) sont

retrouvés dans la litière. Cet insecte est vecteur et donc susceptible de transmettre un nombre important d'agents pathogènes pour les **volailles** tels les virus de la maladie de Newcastle, de l'influenza aviaire, de la bursite infectieuse, de la maladie de Marek et de la variole aviaire. Il peut transmettre divers autres agents infectieux, incluant *Salmonella*, *Aspergillus* spp., *Escherichia coli*, *Bacillus* spp., *Streptococcus* spp., des Réovirus, des Rotavirus, *Eimeria* (coccidiose) et des plathelminthes.

La distribution spatiale d'*Alphitobius diaperinus* dans les sols des poulaillers a été étudiée par Salin *et al.* (2000), pendant un cycle de reproduction en hiver. Un échantillonnage de la litière après départ des oiseaux a été réalisé sur trois zones bien identifiées (1- au pied des murs, 2- sous les nourrisseurs et 3- dans l'aire centrale). Trois paramètres physiques ont été mesurés : l'humidité, la **densité** et la **compaction** en surface de la litière. De plus, les températures de la litière ont été enregistrées pendant la période d'élevage des poulets. La température du sol était également enregistrée après le **curage**. La structure spatiale de la population d'insectes dans la litière révélait une grande hétérogénéité : le dernier stade larvaire, les nymphes et les adultes étaient localisés dans le sol à 10 cm de profondeur, sous les nourrisseurs là où la **densité**, la **compaction** de surface et le taux d'humidité du sol étaient les plus faibles. La litière constitue un site favorable pour la pupaison et un refuge pour les adultes et les larves lors des périodes de stress et notamment quand la température du sol diminue pendant la phase de nettoyage du bâtiment. *A. diaperinus* réagissait à plus d'un stimulus impliquant des paramètres structurels édaphiques, l'hygrotactisme et le thermotactisme pour sélectionner des sites adaptés à sa préservation. Sa survie dans les zones tempérées dépend de l'utilisation opportuniste qu'il fait des sites chauds comme le sol des poulaillers de poules pondeuses.

D'autres insectes nuisibles sont également rencontrés en élevage avicole. Watson *et al.* (2001) ont observé les interactions de trois insectes communément rencontrés dans la litière de **volaille** : un coléoptère prédateur de la mouche domestique (*Musca domestica*), *Carcinops pumilio* (*Histeridae*) et deux insectes nuisibles lors de l'élevage des **volailles**, *Musca domestica* (*Muscidae*) et le ténébrion, *A. diaperinus* (*Tenebrionidae*). L'objectif était d'étudier le rôle de *C. pumilio* dans la régulation des populations de mouches domestiques. Des échantillons de litière ont été collectés chaque semaine dans les 5 poulaillers de l'étude, et les insectes en ont été extraits pour identification (espèces, stades larvaires) en utilisant des entonnoirs de Berlese-Tullgren. Quand les populations de *C. pumilio* égalaient ou dépassaient celle des larves de mouche domestique, les populations adultes des secondes n'étaient pas considérées comme posant problème. En effet, le contrôle des populations de *Musca domestica* était obtenu pour un *ratio* de 1:1 entre les larves des deux espèces. Les cohortes adultes et larvaires de *C. pumilio* variaient significativement selon les poulaillers. Les larves de *C. pumilio* étaient peu nombreuses dans les poulaillers abritant des populations adultes de ténébrions, suggérant un impact négatif de cette espèce sur l'établissement de l'*Histeridae*. Les études de laboratoire ont confirmé que les larves de ténébrion réduisaient significativement la survie des œufs ou des larves de *C. pumilio* ce qui n'était pas le cas des ténébrions adultes. Les recommandations des auteurs pour favoriser l'établissement de *C. pumilio* dans le poulailler sont donc les suivantes :

- relâcher *C. pumilio* à un taux d'une larve de mouche par ténébrion adulte. Cependant, avant d'entreprendre cette opération, la population de *A. diaperinus* doit être échantillonnée. Pour estimer la population, un échantillon de 400 cm³ est prélevé à la surface de la litière en début de bande, les insectes sont ensuite extraits en utilisant des entonnoirs de Berlese-Tullgren et comptés. Si les **densités** de ténébrions sont le double de celles de *C. pumilio* relâché, le protocole devra être abandonné ;

- maintenir à un faible niveau les populations de mouches domestiques en utilisant judicieusement des insecticides ciblant les mouches adultes lorsque la population de *C. pumilio* s'établit. Utiliser une pyréthrine générant de faibles résidus, appliquée en thermonébulisation ou sous forme d'appât pour les diptères. De tels insecticides sont recommandés parce qu'ils ont un impact minimal sur les insectes utiles ;
- après le nettoyage lors du processus de décontamination des bâtiments entre deux bandes successives, traiter le poulailler entier avec un insecticide efficace contre les ténébrions, de façon à obtenir un niveau de population inférieur à celui de *C. pumilio*.
- ne pas déplacer le **fumier** contenant des ténébrions dans un nouveau poulailler et relâcher sélectivement *C. pumilio*.

En conclusion, la litière contient de nombreux insectes dont les interactions sont parfois complexes. *A. diaperinus* vit dans la litière et s'y répartit selon une distribution spatiale hétérogène. On le retrouve plus particulièrement dans les zones chaudes et sèches. L'introduction raisonnée de certaines espèces (*C. pumilio*) permet aux éleveurs de contrôler les populations d'insectes nuisibles au sein des litières et de réduire en conséquence l'utilisation d'insecticides.

- Rôle des mouches dans la dissémination de bactéries antibiorésistantes

L'emploi d'antibiotiques comme additifs alimentaires dans les productions avicoles aux Etats-Unis d'Amérique a été reliée à la présence de bactéries antibiorésistantes chez les personnels des exploitations concernées, les consommateurs des produits de **volaille** et dans les environs des poulaillers où les animaux sont confinés. Ces bactéries pourraient ainsi être transmises aux populations vivant à proximité sans toutefois que les modalités de dissémination dans l'environnement soient bien documentées. Graham *et al.* (2009b) ont évalué la prévalence des entérocoques et des staphylocoques antibiorésistants dans la litière de **volaille** stockée et chez certaines espèces de mouches (*Muscidae* et *Calliphoridae*) collectées entre 15 et 100 m des bâtiments de **volailles** de chair. Des souches résistantes ont été isolées chez les insectes capturés près des installations d'alimentation des **volailles** dans l'été 2006. Des tests de sensibilité ont été conduits sur les isolats en sélectionnant des antibiotiques sur la base de leur importance en médecine humaine et de leur utilisation en production de **volaille**. Les isolats résistants font l'objet de recherche de déterminants antigéniques d'antibiorésistance. Un total de 142 isolats d'entérocoques et de 144 isolats de staphylocoques issus des échantillons s'insectes ou de litière de **volaille** a été identifiés. Les gènes de résistance *erm(B)*, *erm(A)*, *msr(C)*, *msr(A/B)* et des éléments génétiques mobiles associés au transposon de conjugaison Tn916 ont été trouvés dans les deux types de prélèvements. *erm(B)* était le gène de résistance le plus commun chez les staphylocoques. Les auteurs rapportent que les diptères piégés près des installations de **volaille** de chair pourraient être impliqués dans la dispersion des bactéries antibiorésistantes et ainsi augmenter l'exposition humaine à ces microorganismes.

En conclusion, la litière contient de nombreux organismes interagissant entre eux ; elle est le siège d'une multiplication bactérienne intense au cours de l'élevage des **volailles** qui s'accompagne d'une évolution progressive de la flore. La litière héberge aussi des protozoaires et des helminthes parasites. Certains cycles d'insectes se déroulent également en totalité ou en partie dans la litière, avec là encore des interactions complexes entre espèces, en partie élucidées. Pour toutes ces raisons, la litière peut être considérée comme un véritable **écosystème**.