Rapport final

No projet : IA221665

Titre : Évaluation d'un acidifiant alimentaire chez le poulet de chair

Responsable scientifique : Carl Julien

Établissement : Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD)

14 août 2022, révisé le 22 février 2024

Section 1 - Chercheurs impliqués et responsable autorisé de l'établissement (ces personnes doivent également faire parvenir un courriel pour attester qu'ils ont lu et approuvent le rapport.)

Carl Julien, chercheur scientifique, responsable scientifique
Daniel Rico, directeur scientifique, responsable de l'établissement

Section 2 - Partenaires

Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD)

Agro-Bio Contrôle Inc.

Section 3 – Fiche de transfert (max 2 à 3 pages)

Veuillez noter que cette fiche sera mise sur le site Web du MAPAQ pour une diffusion grand public. Merci de ne pas faire référence à des tableaux ou des annexes qui sont ailleurs dans le rapport puisqu'ils ne seront pas annexés à la fiche de transfert.

: Évaluation d'un acidifiant alimentaire chez le poulet de chair

Carl Julien

No de projet : IA221665 **Durée :** 03/2021 – 06/2023

FAITS SAILLANTS

Le projet de recherche ici présenté vise à répondre aux besoins de l'industrie du poulet de chair. La demande pour les produits de consommation sans médicament est en croissance constante. Cependant, certaines infections communes chez le poulet de chair affectent la santé et la production, exigeant l'utilisation d'alternatives aux médicaments. Parmi ces infections communes, la coccidiose aviaire engendre des pertes économiques considérables pour les producteurs. Elle diminue l'absorption des nutriments, augmente le taux de conversion alimentaire et représente le facteur de risque principal pour l'entérite nécrotique. Pour l'instant, les alternatives efficaces aux anticoccidiens pour la production de poulet de chair sont manquantes. Même si des vaccins se sont développés et sont disponibles, leur efficacité nécessite des pratiques d'élevage supplémentaires et une gestion à la ferme plus stricte.

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

Le but de cette étude était d'évaluer un acidifiant alimentaire chez le poulet de chair. Un essai en parquet de 34 jours avec 8 répétitions de 47 oiseaux/parquet a été réalisé. Les poulets de chair mâles (Ross 308) ont été assignés au hasard à : 1) non infecté; 2) infecté par *Eimeria*; 3) infecté à *Eimeria* + programme conventionnel (BMD®/Maxiban®-Monteban®); 4) non infecté+6 kg/t acidifiant alimentaire; 5) non infecté+10 kg/t acidifiant alimentaire; 6) infecté à *Eimeria*+6 kg/t acidifiant alimentaire; 7) infecté à *Eimeria* +10 kg/t acidifiant alimentaire. L'infection à *Eimeria* a été induite par une administration orale au jour 14 de $2x10^5$ oocystes sporulés d'espèces mixtes d'*Eimeria* provenant d'isolats de champs. Les performances de croissance ont été évaluées par le poids corporel, la prise et la conversion alimentaires et le gain moyen quotidien. Les mesures de composition corporelle et de minéralisation osseuse ont été obtenues par ostéodensitométrie. L'effet sur la coccidiose a été évalué par des scores lésionnels de l'intestin et par des décomptes d'oocystes totaux par microscopie et par PCR quantitative dans les fientes des poulets au moment du pic d'infection (j20-j21). Une évaluation technico-économique a été réalisée en fonction des coûts d'aliment et des additifs et du gain de poids des oiseaux. Des analyses microbiologiques de *C. perfringens*, *E. coli* et *Salmonella* spp par PCR quantitative et du microbiote cæcal par séquençage ont été réalisées aux j21 et j34. Le pH et l'humidité de la litière ont été mesurés aux j21 et j34. Le pH du contenu du gésier, de l'iléon et du cæcum a été mesuré aux j21 et j34.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

Comme attendu, le challenge coccidien a réduit les performances de croissance, augmenté le nombre total d'oocystes excrétés (+4,9 $\log_{10}$, P<0,0001) et les scores lésionnels *E. acervulina* (1,12 vs 0,06, P<0,0001) et *E. tenella* (2,31 vs 0,00, P<0,0001) 6 jours post-infection (j20), par rapport aux oiseaux non infectés, alors que le programme alimentaire conventionnel a pallié ces impacts d'infection. Le challenge coccidien a aussi diminué le contenu minéral osseux (12,11 vs 13,03 g/kg, P<0,05) et la densité minérale osseuse (0,143 vs 0,151 g/cm^2, p<0,05) au j34, et a montré une tendance à augmenter les teneurs fécales de *C. perfringens* (6,54 vs 5,48 $\log_{10}$ copies par g de fiente, P=0,0718), a modifié le microbiote cæcal et a augmenté l'humidité de la litière (75,4 vs 80,9%, P<0,05) au j21.

Les deux doses d'acidifiant alimentaire n'ont pas amélioré les performances de croissance, l'excrétion ou les lésions intestinales du parasite chez les oiseaux sains ou infectés (P>0,05). Les analyses microbiologiques, de composition corporelle, de minéralisation osseuse et de pH intestinaux n'ont pas révélé d'effet significatif de l'acidifiant alimentaire à l'étude. L'analyse technico-économique n'a pas permis de montrer que cet additif à base d'acide formique aux doses évaluées dans cette étude est rentable chez le poulet de chair en présence ou en absence de coccidiose aviaire.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

L'additif à base d'acide formique n'a pas montré d'avantages pour la production de poulet de chair dans les conditions de cette étude. Ces résultats négatifs mènent à se diriger vers des travaux de recherche sur d'autres acidifiants et sur d'autres additifs pour améliorer et sécuriser les performances des poulets de chair, principalement dans un contexte de réduction d'utilisation d'antimicrobiens.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet : Carl Julien
Téléphone : (418) 286-3353 poste 236
Télécopieur : (418) 286-3597
Courriel : carl.julien@crsad.qc.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme Innov'Action agroalimentaire, un programme issu de l'Accord Canada-Québec de mise en œuvre du Partenariat canadien pour l'agriculture conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada. Le Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) et Agro-Bio Contrôle Inc ont aussi contribué financièrement à ce projet.

Section 4 - Activité de transfert et de diffusion scientifique (joindre en annexe la documentation en appui si applicable.)

Section 5 - Activités de diffusion et de transfert aux utilisateurs (joindre en annexe la documentation en appui. Au moins une preuve de réalisation d'une activité de transfert aux utilisateurs est obligatoire pour l'acceptation du rapport final.)

Les résultats du projet ont été diffusés dans les rapports des activités 2021-2022 (pages 40-41) et 2022-2023 (page 28) du CRSAD.

Le rapport du projet est diffusé sur le site Internet du CRSAD (https://crsad.qc.ca/publications-et-documentations/rapports-de-recherche).

Aouissi S, Julien J, Demers-Caron V, Clément JP, Khatir MEA, Létourneau-Montminy MP, Julien C. (2023). L'ajout d'acide formique dans l'aliment n'améliore pas les performances de croissance et ne mitige pas les effets de la coccidiose chez le poulet de chair. Rendez-vous avicole, Saint-Hyacinthe, Canada. Affiche et présentation. 15 novembre.

Section 6 – Grille de transfert des connaissances

1. Résultats Présentez les faits saillants (maximum de 3) des principaux résultats de votre projet.	2. Utilisateurs Pour les résultats identifiés, ciblez les utilisateurs qui bénéficieront des connaissances ou des produits provenant de votre recherche.	3. Message Concrètement, quel est le message qui devrait être retenu pour chacune des catégories d'utilisateurs identifiées? Présentez un message concret et vulgarisé. Quels sont les gains possibles en productivité, en rendement, en argent, etc.?	4. Cheminement des connaissances a) Une fois le projet terminé, outre les publications scientifiques, quelles sont les activités de transfert les mieux adaptées aux utilisateurs ciblés? (conférences, publications écrites, journées thématiques, formation, etc.) b) Selon vous, quelles pourraient être les étapes à privilégier en vue de maximiser l'adoption des résultats par les utilisateurs.
Les doses de l'acidifiant alimentaire à l'étude n'ont pas amélioré les performances de croissance chez des poulets de chair soumis ou non à un challenge coccidien *Eimeria*.	Éleveurs de poulets de chair, vétérinaires, nutritionnistes, scientifiques, entreprises développant des additifs pour la volaille et autres et intervenants dans le secteur avicole.	Pour tous, l'acidifiant alimentaire à l'étude n'a pas amélioré les performances de croissance et n'est pas économiquement avantageux pour la production du poulet de chair, avec et sans challenge de coccidiose.	a) Présentation des résultats lors de symposiums pour les producteurs, comme le Rendez-vous avicole de l'AQINAC et diffusion des résultats (Bulletin des agriculteurs, site Internet du CRAAQ, CRSAD et Agri-réseau). b) Diffusion des résultats négatifs.
Les doses de l'acidifiant alimentaire à l'étude n'ont pas montré d'effet sur les lésions intestinales caractéristiques de la coccidiose, sur l'excrétion fécale des parasites, l'humidité et le pH de la litière, les pH intestinaux des oiseaux, la composition corporelle et la minéralisation osseuse des oiseaux, les teneurs fécales des pathogènes *C. perfringens*, *E. coli* et *Salmonella* spp et la population microbienne dans le cæcum.	Éleveurs de poulets de chair, vétérinaires, scientifiques, nutritionnistes, entreprises développant des additifs pour la volaille et autres et intervenants dans le secteur avicole.	Pour tous, l'acidifiant alimentaire à l'étude n'a pas montré d'effet anticoccidien, sur les pathogènes *C. perfringens*, *E. coli* et *Salmonella* spp, le microbiote intestinal, le pH et l'humidité de la litière, le pH intestinal, la composition corporelle et la minéralisation osseuse.	a) Présentation des résultats lors de symposiums pour les producteurs, comme le Rendez-vous avicole de l'AQINAC et diffusion des résultats (Bulletin des agriculteurs, site Internet du CRAAQ, CRSAD et Agri-réseau). b) Diffusion des résultats négatifs.
En plus d'augmenter les scores lésionnels et l'excrétion d'oocystes *Eimeria*, le challenge de coccidiose que nous avons développé a réduit le gain de poids et détérioré la conversion alimentaire de 12%, affecté la minéralisation osseuse, a montré une tendance à augmenter les teneurs fécales de *C. perfringens*, a modifié le microbiote cæcal et a	Scientifiques, nutritionnistes, entreprises développant des additifs pour la volaille et autres et intervenants dans le secteur avicole.	Pour tous, le challenge coccidien que nous avons développé diminue les performances de croissance des poulets de chair, permet l'étude de la coccidiose et ses impacts sur le poulet de chair, et l'évaluation d'anticoccidiens et de leurs substituts.	a) Présentation des résultats lors de symposiums pour les producteurs, comme le Rendez-vous avicole de l'AQINAC et diffusion des résultats (Bulletin des agriculteurs, site Internet du CRAAQ, CRSAD et Agri-réseau). b) Diffusion et discussion lors de congrès scientifiques et techniques.

augmenté l’humidité de la litière.			

Section 7 - Contribution et participation de l’industrie réalisées

Agro-Bio Contrôle Inc a contribué comme prévu au projet pour un montant total de 24 000 $ (12 000 $ en argent, 12 000 $ en nature). L’entreprise a fourni l’additif acidifiant, contribué financièrement à une partie des charges animales. Martine Giguère d’Agro-Bio Contrôle Inc a suivi l’essai, participé aux rencontres scientifiques, a participé à la rédaction scientifique des travaux effectués jusqu’à maintenant.

Section 8 - Rapport scientifique et/ou technique (format libre réalisé selon les normes propres au domaine d'étude)

1. Introduction

Les consommateurs recherchent de plus en plus des produits d'alimentation certifiés biologiques, qui ne sont pas génétiquement modifiés et qui sont exempts de médicaments. La production de poulet de chair n'échappe pas à ce courant, entraînant ainsi des contraintes d'élevage pour les producteurs. Ainsi, le développement d'alternatives naturelles aux médicaments et aux additifs alimentaires est nécessaire pour la filière avicole afin de limiter l'impact des infections communes chez le poulet de chair. Parmi ces dernières, la coccidiose aviaire engendre des pertes totalisant plus de 3 milliards de dollars à l'échelle mondiale pour la production avicole (Quiroz-Castañeda and Dantán-González, 2015). La coccidiose aviaire affecte la santé digestive et la conversion alimentaire des poulets, est le principal facteur de risque de l'entérite nécrotique, cause des excréments liquides, et peut mener à des taux de mortalité importants (Chapman, 2014). Neuf espèces *Eimeria*, *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. mitis*, *E. tenella*, *E. mivati*, et *E. hagani*, ont été identifiées comme responsables de la coccidiose chez le poulet (Joyner and Long, 1974). Ces parasites peuvent infecter et se multiplier dans l'épithélium muqueux à différents endroits de l'intestin selon l'espèce (Conway and McKenzie, 2007). En plus de n'être pas compatibles avec une production biologique, les anticoccidiens chimiques, les coccidiostats, et les ionophores, bien qu'encore largement utilisés en production avicole, peuvent entraîner de la résistance aux médicaments (Chapman et al., 2010). La vaccination, composée d'une ou de plusieurs souches sauvages ou atténuées d'espèces *Eimeria* s'est développée au cours des années pour contrer la coccidiose, mais son efficacité n'est pas optimale et est difficile à exploiter en raison, notamment, du bas âge des poulets à l'abattage (Muthamilselvan et al., 2016).

Des produits naturels peuvent représenter une alternative pour prévenir la coccidiose. Ces dernières années, des produits d'extrait de plante ont été développés spécifiquement pour la coccidiose, comme le Cocci-Guard (DPI Global, É-U), l'Apacox (GreenVet, Italie), un mélange de *Quercus infectoria*, *Rhus chinensis* et *Terminalia chebula* (Kemin Industries, É-U), et une formulation de *Bidens pilosa* et d'autres plantes (Ta-Fong, Taiwan) (Thangavel et al., 2014; Yang et al., 2015). L'effervescence des alternatives naturelles aux médicaments se constate aussi par plusieurs travaux de recherche qui ont rapporté des effets anticoccidiens d'extraits de plus d'une trentaine de plantes (Muthamilselvan et al., 2016). L'inhibition de la sporulation, la destruction protéolytique des oocystes, la stimulation de la réponse immunitaire de l'hôte et des effets sur l'oxydation ont été rapportés comme mécanismes sous-jacents l'effet anticoccidien d'extraits de plantes (Akhtar et al., 2012; Lee et al., 2018; Molan et al., 2009; Muthamilselvan et al., 2016; Nghonjuyi et al., 2015; Wang et al., 2017, 2008)

D'autres produits naturels peuvent aussi présenter des effets antibactériens. Par exemple, l'huile de coque de noix de cajou (CNSL, pour *Cashew nut shell liquid*) a montré des effets bénéfiques sur la concentration d'*E. coli* intestinale chez le poulet de chair (López et al., 2012). L'acide anacardique qu'il contient agit comme ionophore dans la mitochondrie (Toyomizu et al., 2000) et ses niveaux de cardanol et de cardol lui confèrent une activité antioxydante (Andrade et al., 2011; Oliveira et al., 2011). De façon générale, les acides organiques sont utilisés depuis longtemps comme additifs alimentaires pour prévenir la détérioration des aliments et prolonger la durée de conservation des ingrédients alimentaires périssables (Ricke, 2003). En particulier, l'acide formique utilisé comme antimicrobien dans l'aliment pour limiter ses niveaux de pathogènes peut aussi avoir un effet indirect sur les pathogènes colonisant le tractus gastro-intestinal (Ricke et al., 2020). L'effet antibactérien de l'acide formique contre *E. coli*, *Salmonella* spp. et *Clostridium perfringens* a été démontré *in vitro* (Gómez-García et al., 2019). Des études *in vivo* chez le poulet chair ont rapporté un effet antibactérien de l'acide formique contre *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (Bourassa et al., 2018), le principal responsable de la salmonellose chez l'humain, et *E. coli* résistante aux antibiotiques (Roth et al., 2017). Cependant, les auteurs d'une étude du microbiome cæcal à la suite d'une infection à *S.* Typhimurium n'ont pas observé d'effet de l'acide formique sur les pathogènes spécifiques (Oakley et al., 2014).

En plus de ses effets antibactériens, il a été suggéré que l'acide formique puisse présenter un effet anticoccidien (Manzoor et al., 2013). En effet, dans certains pays, l'acide formique est largement utilisé comme anticoccidien, et il a montré diminuer les scores lésionnels et les décomptes oocytaires à la suite d'une infection à *E. tenella* (Manzoor et al., 2013). Cependant, à notre connaissance, il s'agit de la seule étude qui rapporte un effet anticoccidien de l'acide formique chez le poulet de chair.

Toutes ces données laissent croire que l'additif acidifiant à base d'acide formique à l'étude pourrait contrer la coccidiose et pourrait représenter un substitut aux antibiotiques en réduisant les pathogènes chez le poulet de chair. Cependant, les effets anticoccidiens et antibactériens de cet additif restent à valider chez le poulet de chair, et ses modes d'action restent à être élucidés.

Cette étude vise à étudier l'efficacité d'un additif acidifiant à base d'acide formique sur la santé et les performances de croissance chez le poulet de chair en conditions d'élevage, comprendre ses modes d'action et évaluer sa rentabilité. De plus, l'additif à base d'ingrédients naturels à l'étude pourrait représenter des alternatives naturelles aux anticoccidiens et aux antibiotiques, tout en diminuant le développement de résistance.

2. Objectif

Évaluer un acidifiant alimentaire chez le poulet de chair.

Objectifs spécifiques

1) Déterminer son effet sur les performances de croissance; 2) Évaluer son effet anticoccidien et 3) sur des pathogènes bactériens; 4) Étudier ses modes d'action; 5) Évaluer son impact technico-économique.

3. Hypothèse

Nous émettons l'hypothèse que l'additif acidifiant à base d'acide formique améliore les performances de croissance, montre un effet anticoccidien et diminue des pathogènes, à savoir *E. coli*, *C. perfringens* et *Salmonella* spp., via un effet direct sur les oocystes et les bactéries pathogènes par la réduction du pH gastro-intestinal et la modification du microbiome intestinal chez le poulet de chair.

4. Méthodologie

Nous avons réalisé un essai expérimental avec des poulets de chair en conditions contrôlées avec et sans challenge de coccidiose. Une analyse technico-économique a permis de connaître les impacts économiques de l'utilisation de cet additif comme substitut aux anticoccidiens et aux antibiotiques communément utilisés sur le terrain. L'utilisation des animaux a été approuvée par le comité de protection des animaux du CRSAD (CPA-CRSAD) (#AV449).

4.1 Animaux

Deux mille six cent trente-deux (2632) poulets de chair (Ross 308) mâles de 0 jour d'âge seront distribués aléatoirement à l'un des 7 traitements expérimentaux, selon un plan complet en 8 blocs, à raison de 47 oiseaux par parquet, pour un total de 56 parquets. Les blocs seront désignés par section du bâtiment pour tenir en compte des effets du bâtiment. Les oiseaux seront hébergés pendant 35 jours au poulailler DC-0149 du CRSAD selon les conditions d'élevage suivantes : la température a été initialement fixée à 33°C et puis progressivement réduite chaque semaine pour atteindre 20,5°C à 35 jours d'âge. Les poussins seront exposés à la lumière pendant 24 heures le 1er jour, 23 h au 2e jour, 20 h du 3e au 10e jour, 18 h du 11e au 25e jour et 16 h du 26e au 35e jour. La moulée à servir aux animaux a été formulée de sorte à répondre aux besoins nutritionnels des poulets de chair.

4.2 Traitements alimentaires

Les traitements ont été :
T1 = Témoin non infecté, non médicamenté
T2 = Témoin infecté, non médicamenté
T3 = Témoin infecté, médicamenté aux antibiotique et anticoccidiens conventionnels (55 ppm bacitracine (BMD® 50, Zoetis, Parsipanny, NJ, É-U) J0-J35; 40-40 ppm narasin-nicarbazine (Maxiban®, Elanco, Mississauga, ON) J0-J20 suivi de 70 ppm narasin (Monteban®, Elanco) J20-J35)
T4 = Non infecté, +6 kg/t FormXP® (Agro-Bio Contrôle, Saint-Hyacinthe, QC)
T5 = Non infecté, +10 kg/t FormXP®
T6 = Infecté, +6 kg/t FormXP®
T7 = Infecté, +10 kg/t FormXP®

Le programme alimentaire en trois phases a été : 1) démarrage (j0-10), 2) croissance (j10-20), 3) finition (j20-35). Les aliments de base ont été fabriqués en granules et les traitements expérimentaux ont été formulés à l'aide de prémélanges 40X au laboratoire. De sorte à limiter les variations dues à la fabrication, les traitements alimentaires ont été formulés avec le même aliment de base.

4.3 Challenge coccidien

Les animaux des traitements 2, 3, 6 et 7 ont reçu au J14 un inoculât d'isolats mixtes de champs mélangé à l'aliment, après une mise à jeun d'une heure. Les dilutions de l'inoculât de coccidies ont été préparées de sorte à atteindre les niveaux d'oocystes suivants par oiseau : $1x10^5$ d'*E. acervulina*, $6x10^4$ d'*E. maxima* et $4x10^4$ d'*E. tenella* (pour un total de $2x10^5$ oocystes par oiseau). Les oocystes d'espèces mixtes d'*Eimeria* ont été isolés à partir d'échantillons de fiente d'oiseaux non vaccinés au poulailler du CRSAD en 2018. Les oocystes ont été propagés dans des poulets sains, sporulés à 30°C dans 2% de dichromate de potassium pendant 48 heures et lavés 3 fois avec de l'eau, avant d'être

inoculés aux oiseaux. Pour chaque enclos, 1 kg d'aliment a été mouillé avec 0,7 L d'eau. La suspension d'oocystes à $1x10^5$ oocystes/ml a été ajoutée à l'aliment mouillé, à raison de 2 ml par oiseau, afin d'obtenir une inoculation de $2x10^5$ oocystes par oiseau. Les oiseaux ont eu accès à seulement cette nourriture jusqu'à ce qu'elle soit complètement consommée (environ 4h après).

4.4. Mesures et observations

4.4.1 Performances zootechniques et suivi de l'état de santé

Tous les oiseaux et l'aliment par parquet ont été pesés au début et à la fin de chaque phase alimentaire pour déterminer le poids, l'apport alimentaire, la conversion alimentaire et le gain moyen quotidien (GMQ). De plus, quatre oiseaux représentatifs par parquet ont été euthanasiés à la fin de chaque phase alimentaire pour évaluer les masses graisseuse et musculaire et le contenu minéral osseux par ostéodensitométrie (Discovery W, Hologic, Bedford, MA, États-Unis). Les aliments ont été échantillonnés pour analyse afin de déterminer leur composition. Les oiseaux ont été inspectés au moins deux fois par jour pour l'enregistrement de la santé générale et de la mortalité des oiseaux.

4.4.2 Oocystes et coccidiose

Un suivi du décompte des coccidies a été assuré grâce à la collecte d'échantillons de fientes fécales et cæcales (3 :1) collectés dans les neuf parquets par traitement deux fois par semaine. Les échantillons ont été groupés par traitement et le décompte d'oocystes a été réalisé par microscopie grâce à des lames McMaster. Aux j17 et j20, des échantillons de fiente ont été collectés pour des décomptes coccidiens par parquet. Au j21, deux oiseaux par parquet ont été euthanasiés pour évaluer les lésions de coccidiose (Services Vétérinaires Ambulatoires Triple-V inc.). Des analyses par qPCR ont été réalisées à partir d'échantillons de fientes des oiseaux qui ont été euthanasiés au j21 pour déterminer les populations d'*E. acervulina*, *E. maxima* et *E. tenella*, selon (Vrba et al., 2010) et (Peek et al., 2017). Pour les valeurs plus faibles que le seuil de quantification, la moitié du seuil de quantification a été utilisée. Les courbes standard ont été construites grâce à des dilutions d'ADN double-brin linéarisé correspondant aux amplicons de chaque espèce (gBlocks Gene Fragments, Integrated DNA Technologies, Mississauga, ON).

4.4.3 Impacts technico-économiques

Pour évaluer les effets des produits sur les coûts, les différences des coûts de l'aliment ingéré et des additifs ont été calculées par rapport au gain de poids des témoins infectés non médicamentés (T2) pour toute la durée de l'élevage (j0-j34). Les coûts suivants ont été utilisés. BMD® à un taux d'inclusion de 0,5 kg/t d'aliment, 7,39288 $/kg; Maxiban® à un taux d'inclusion de 0,5 kg/t d'aliment, 23,90472 $/kg; Monteban® à un taux d'inclusion de 0,7 kg/t d'aliment, 14,9175 $/kg; FormXP®, 2,65 $/kg).

4.4.4 Analyses microbiologiques

Les teneurs en *C. perfringens*, *E. coli* et *Salmonella* spp par g de fiente ont été analysées aux jours 21 et 34 selon les méthodes décrites à la section 4.4.2 et dans Bourassa et al. (2018), Oakley et al. (2014) et Roth et al. (2017).

4.4.5 pH et humidité

Le pH et l'humidité de la litière ont été mesurés aux j21 et j34. Le pH du contenu du gésier, de l'iléon et du cæcum a été mesuré chez les animaux euthanasiés aux j21 et j34.

4.5 Analyses statistiques

Les données continues ont été analysées à l'aide d'un modèle mixte incluant l'effet fixe du traitement, et le bloc, représentant la section du bâtiment, comme effet aléatoire. La procédure Modèle linéaire et la méthode des moindres carrés standard et du maximum de vraisemblance restreint (REML) du logiciel JMP Pro (version 16.0, The SAS Institute, Cary, NY, États-Unis) ont été utilisées. La normalité des résidus, l'homogénéité de la variance et l'absence de données aberrantes (résidus studentisés ± 3.0) ont été vérifiées pour toutes les variables. Des comparaisons entre toutes les paires des traitements ont été réalisées à l'aide de tests Tukey des différences des moindres carrés, en suivi (*post hoc*) du modèle linéaire. Les données des scores lésionnels de coccidiose ont été analysées par des analyses non paramétriques Kruskal-Wallis et les comparaisons entre les traitements par des analyses post-hoc Wilcoxon, grâce au logiciel JMP Pro. Les moyennes ajustées par le modèle statistique (moyennes des moindres carrées) accompagnées de leurs erreurs standard sont présentées. Les unités expérimentales pour les données continues sont les parquets, tandis que les unités expérimentales pour les données des scores lésionnels sont les oiseaux.

4.6 Microbiote

Les séquences contenues dans les fichiers FASTQ ont été analysées à l'aide du logiciel QIIME2 (QIIME2 version 2021.11) (Bolyen et al., 2019). Les amorces ont été supprimées à l'aide de l'extension cutadapt (Martin, 2011). Les séquences pour lesquelles aucune amorce n'a été détectée ont été excluent des analyses subséquentes. Les séquences ont été découpées, dé-répliquées et les séquences chimériques ont été filtrées via le plugin Diverse

Amplification Denoise Algorithm (DADA2) (Callahan et al., 2016) de QIIME2, afin de produire une table des variants de séquence d'amplicon (ASVs). Tous les échantillons (n=112) ont été raréfiés au minimum de 18 000 séquences par échantillon. L'arbre phylogénétique pour l'analyse de la diversité a été calculé à l'aide du plugin QIIME2 align-to-tree-mafft-fasttree à partir de la table des variants de séquence d'amplicon et la classification taxonomique pour chaque ASV a été attribuée à l'aide d'un classificateur Bayesien naïf entraîné sur la base de données de référence SILVA_138 (Quast et al., 2013) avec le plugin feature-classifier de QIIME2 (Bokulich et al., 2018). Les mesures de la diversité alpha, y compris le nombre de ASV observées, l'indice de Shannon, l'indice phylogénétique de Faith ainsi que l'indice de régularité de Pielou ont été calculés. Pour évaluer l'impact des facteurs expérimentaux, un modèle non linéaire intégré à effets mixtes avec pour équation IndiceAlpha ~ temps *infection + temps*traitement + 1|Bloc a été déterminé via la méthode REML sur les valeurs de diversité alpha. La signification statistique de l'effet de chaque élément du modèle a ensuite été déterminée via un test ANOVA. Pour visualiser la diversité Beta entre les groupes, la matrice de dissimilarité de Bray-Curtis et la matrice de distance UniFrac pondérée ont été calculées et représentées à l'aide de l'analyse des coordonnées principales (PCoA). L'association entre les facteurs expérimentaux et la diversité bêta a été évaluée en appliquant une régression multivariée de la matrice de distance (Anderson, 2001) à la matrice de dissimilarité de Bray-Curtis et la matrice de distance UniFrac pondérée. Les taxons différentiellement abondants entre les groupes ont été identifiés à l'aide de l'analyse discriminante linéaire de la taille de l'effet (LEfSe) (Segata et al., 2011). Les biomarqueurs associés aux groupes ont été identifiés à l'aide du test de Wilcoxon, puis toutes les valeurs P ont été ajustées pour les comparaisons multiples à l'aide de la méthode Benjamini-Hochberg. Les résultats ont été considérés comme significatifs à un taux de fausse découverte (FDR) < 0,05.

5. Résultats

À moins que spécifié autrement, les données rapportées dans cette section sont comparées à celles des oiseaux infectés non traités (T2).

Performances de croissance

Les données de performance de croissance et du taux de mortalité de l'essai sont résumées au Tableau 1. Au j10, le traitement aux BMD® et Maxiban® (T3) a augmenté le poids, comparativement aux oiseaux non traités (T1 et T2). Le challenge coccidien (T2) a réduit le poids corporel 6 jours après l'infection (6 jpi, j20) (0,805 contre 0,922 kg, p<0,05), et a aggravé l'indice de conversion alimentaire (CA) pendant la phase de croissance (10-20 j) (1,396 contre 1,250, p<0,05), comparativement aux oiseaux non infectés (T1). Les médicaments (T3) ont empêché la perte de perte de poids corporel et l'augmentation de la CA induites par *Eimeria*. Le challenge coccidien (T2) a aussi réduit le poids corporel à la fin de l'élevage au j34 (2,394 contre 2,567 kg, p<0.05) et dégradé la CA globale (0-34 j) (1,416 contre 1,376 kg, p<0.05), et les médicaments (T3) ont prévenu ces effets sur le poids (2,640 contre 2,394 kg, p<0,05) et la CA (1,357 contre 1,416 kg, p<0.05). Avec et sans le challenge, l'additif acidifiant n'a pas amélioré les performances de croissance, comparativement à leurs témoins (p>0,05). Globalement (0-34 j), les traitements n'ont pas eu d'impact sur les taux de mortalité (p>0,05).

Oocystes et coccidiose

Le challenge coccidien (T2) a augmenté l'excrétion d'*Eimeria* 6 jpi (Figure 1A) et les scores lésionnels les scores lésionnels associés à *E. acervulina* (Figure 1C), *E. maxima* (Figure 1E) et *E. tenella* (Figure 1G) 7 jpi, comparés aux oiseaux non infectés (T1) (*P*<0,01). Le traitement médicamenté (T3) a diminué l'excrétion oocytaire (Figure 1A) et les lésions intestinales causées par *E. acervulina* (Figure 1C), *E. maxima* (Figure 1E) et *E. tenella* (Figure 1G). Les deux doses de l'acidifiant alimentaire à l'étude n'ont pas modifié l'excrétion oocytaire (Figure 1A) et les scores lésionnels (Figure 1C, 1E, 1G). Les données de qPCR montrent que les médicaments (T3) ont diminué les excrétions d'*E. acervulina* (Figure 1D), d'*E. tenella* (Figure 1F) et la somme des deux (Figure 1B). Les doses de l'additif à l'étude n'ont pas diminué l'excrétion d'*E. acervulina*, et d'*E. tenella* (Figure 1B, 1D, 1F). *E. maxima* n'a pas été détecté par qPCR dans les échantillons.

Composition corporelle et minéralisation osseuse

Les données de composition corporelle et de minéralisation osseuse sont résumées au Tableau 2. Au j34, le challenge (T2) coccidien a diminué le contenu minéral osseux corrigé sur le poids de la carcasse (12,11 contre 13,03 g/kg, p<0,05) et la densité minérale osseuse (0,143 contre 0,151 g/cm^2, p<0,05), comparativement aux oiseaux non infectés (T1). Les médicaments et les deux doses de l'additif alimentaire n'ont pas prévenu cette diminution (p>0.05).

Impacts technico-économiques

Les différences en $ par t produite par rapport au T2 sont résumées à la Figure 2. Le challenge coccidien a augmenté le coût de l'aliment par t produite (+40,3 $/t produite, p<0,05) par rapport aux oiseaux non infectés et non médicamentés (T1). Le traitement BMD®/Maxiban®-Monteban® (T3) a diminué le coût (−39,4 $/t produite, p<0,05).

Les deux doses de l'acidifiant alimentaire a augmenté le coût de l'aliment par t produite avec et sans challenge de coccidiose par rapport à leurs témoins (T1 ou T2) ($p<0,05$).

Analyses microbiologiques

Les teneurs en *C. perfringens*, *E. coli* et *Salmonella* spp par g de fiente aux jours 21 et 34 sont résumées à la Figure 3. Les niveaux d'*E. coli* (Figure 3B) et de *Salmonella* (Figure 3C) ont été largement plus faibles que ceux de *C. perfringens* (Figure 3A) (~3 contre 6 log_{10} copies par g de fiente). Au j21, le challenge (T2) coccidien a montré une tendance à augmenter les teneurs en *C. perfringens* (6,54 contre 5,48 log_{10} copies par g de fiente, $p = 0,0718$) (Figure 3A). Aux jours 21 et 34, le traitement BMD®/Maxiban®-Monteban® (T3) a diminué les niveaux de *C. perfringens* (−2.0 log_{10} copies par g de fiente, $p<0,01$) (Figure 3A). Au j34, les niveaux de *C. perfringens* étaient plus élevés par rapport au j21 (Figure 3A). Les deux doses de l'acidifiant alimentaire n'ont pas modifié les niveaux de *C. perfringens*, d'*E. coli* et de *Salmonella* spp. Les abondances relatives de la population microbienne aux jours 21 et 34 sont présentées à la Figure 4. Le challenge coccidien (T2) et le traitement BMD®/Maxiban®-Monteban® (T3) ont modifié les abondances relatives aux jours 21 et 34 (Figure 4A, 4B). Les taxa observés et les indices de Faith, de Shannon, et de Pielou présentée à la Figure 5 montrent que globalement, le challenge coccidien, les antimicrobiens et le jour ($p<0,05$) ont tous trois modifié la diversité phylogénique du microbiote cæcal, alors que les doses de l'acidifiant alimentaire n'a pas eu d'impact. Les composantes principales de l'analyse microbienne présentées à la Figure 6 montrent des regroupements pour les oiseaux challengés à la coccidiose et ceux non challengés (Figure 6A) et des regroupements pour les oiseaux traités ou non avec le BMD®/Maxiban®-Monteban® (Figure 6B), alors que les doses de l'acidifiant alimentaire n'a pas eu d'impact (Figure 6C). L'analyse discriminante linéaire par taille d'effet (LEfSE, LDA Effect Size) de taxons du microbiote cæcal aux jours 21 et 34, en fonction du challenge coccidien, et de la présence ou l'absence d'antibiotique et d'anticoccidiens (BMD®/Maxiban®-Monteban®) est représentée par des cladogrammes à la Figure 7. L'infection avec le challenge coccidien a augmenté les niveaux d'*Enterococcaceae*, de *Clostridiaceae*, de Clostridiales, d'*Enterobacteriaceae* et d'Enterobacterales, alors que l'absence de BMD®/Maxiban®-Monteban® a favorisé les *Enterococcaceae*, les *Clostridiaceae* et les Clostridiales au jour 21 (Figure 7A, 7B). Les doses de l'acidifiant alimentaire n'ont pas montré d'effet discriminant (non montré).

Humidité de la litière et pH de la litière et des contenus intestinaux

Les données d'humidité (matière sèche) et de pH de la litière aux jours 21 et 34 sont présentées à la Figure 8. Au jour 21, le challenge coccidien a diminué la matière sèche de la litière (75,4 contre 80,9%, $p<0,05$) et le traitement BMD®/Maxiban®-Monteban® (T3) a montré une tendance à prévenir cette baisse de MS (79,8 contre 75,4%, $p=0,0912$) (Figure 8A). Au jour 21, le traitement BMD®/Maxiban®-Monteban® (T3) a augmenté le pH de la litière (6,82 contre 6,47 $p<0,05$) (Figure 8B). Les deux doses de l'acidifiant alimentaire n'ont pas modifié l'humidité ou le pH de la litière (Figure 8A, 8B).

Les données de pH des contenus du gésier, de l'iléon et du cæcum aux jours 21 et 34 sont présentées à la Figure 9. Ni les traitements ni le jour a eu d'effet sur le pH du gésier ($p>0,05$, Figure 9A). Au jour 21, le challenge coccidien a montré une tendance à diminuer le pH dans l'iléon (−0,49, $p<0,0607$) (Figure 9B). Aux jours 21 et 34, le traitement BMD®/Maxiban®-Monteban® (T3) a augmenté le pH de l'iléon (+0,72 et +0,64, respectivement, $p<0,05$) (Figure 9B). Au jour 21, le challenge coccidien a diminué le pH du cæcum (−0,61, $p<0,0001$) et le traitement BMD®/Maxiban®-Monteban® (T3) a prévenu cette baisse de pH (+0,40, $p<0,01$) (Figure 9C). Les deux doses de l'acidifiant alimentaire n'ont pas modifié les pH des contenus de l'iléon et du cæcum (Figure 9B, 9C).

Tableau 1. Données de performances zootechniques et de mortalité de l'essai.

Mesures	Traitements							Erreur std	Effet Tx Valeur de p
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7		
Poids (kg)									
J0	0.036	0.037	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.0002	0.8173
J10	0.274^{b}	0.272^{bc}	0.284^{a}	0.266^{c}	0.275^{b}	0.270^{bc}	0.275^{b}	0.003	0.0018
J20	0.922^{b}	0.805^{c}	0.958^{a}	0.905^{b}	0.927^{b}	0.805^{c}	0.825^{c}	0.010	<.0001
J34	2.567^{b}	2.394^{d}	2.640^{a}	2.444^{cd}	2.490^{c}	2.285^{e}	2.411^{d}	0.026	<.0001
CV à J34 (%)	2.12	1.68	2.54	2.74	4.91	3.51	2.18		
Poids parquet (kg)									
J0	1.71	1.72	1.71	1.71	1.71	1.70	1.71	0.010	0.8174
J10	12.75^{ab}	12.56^{bc}	13.10^{a}	12.20^{c}	12.69^{ab}	12.56^{bc}	12.74^{ab}	0.169	0.0121
J20	38.84^{ab}	33.70^{c}	40.12^{a}	37.56^{b}	38.93^{ab}	33.50^{c}	34.84^{c}	0.543	<.0001
J34	92.11^{ab}	84.37^{de}	94.70^{a}	86.17^{cd}	88.60^{bc}	81.38^{e}	87.40^{cd}	1.379	<.0001
Gain moyen quotidien (g/j)									
J0-J10 (Phase 1)	23.78^{b}	23.58^{bc}	24.76^{a}	22.96^{c}	23.87^{b}	23.40^{bc}	23.83^{b}	0.32	0.0017
J10-J20 (Phase 2)	64.75^{b}	53.23^{d}	67.43^{a}	63.90^{b}	65.22^{b}	53.46^{cd}	55.01^{c}	0.78	<.0001
J20-J34 (Phase 3)	117.55^{a}	113.49^{b}	120.10^{a}	109.95^{c}	111.67^{bc}	105.73^{d}	113.29^{b}	1.51	<.0001
J0-J20	44.26^{bc}	38.41^{d}	46.09^{a}	43.43^{c}	44.54^{b}	38.43^{d}	39.42^{d}	0.51	<.0001
J10-J34	95.55^{b}	88.38^{e}	98.15^{a}	90.76^{cd}	92.30^{c}	83.95^{f}	89.01^{de}	1.03	<.0001
J0-J34	74.44^{b}	69.32^{d}	76.57^{a}	70.82^{cd}	72.17^{c}	66.14^{e}	69.84^{d}	0.78	<.0001
Consommation (g/j)									
J0-J10 (Phase 1)	28.24	27.73	29.17	27.85	28.48	28.32	28.62	0.45	0.2488
J10-J20 (Phase 2)	80.89^{a}	74.29^{b}	83.78^{a}	81.35^{a}	82.64^{a}	74.41^{b}	75.98^{b}	1.16	<.0001
J20-J34 (Phase 3)	170.67^{ab}	165.46^{bcd}	171.62^{a}	168.73^{abc}	163.75^{cd}	160.77^{d}	165.80^{bcd}	2.51	0.0034
J0-J20	54.57^{a}	51.01^{b}	56.47^{a}	54.60^{a}	55.56^{a}	51.37^{b}	52.30^{b}	0.72	<.0001
J10-J34	133.27^{ab}	127.47^{cd}	135.02^{a}	132.32^{ab}	129.99^{bc}	124.79^{d}	128.38^{c}	1.59	<.0001
J0-J34	102.38^{ab}	98.14^{de}	103.89^{a}	101.59^{abc}	100.13^{bcd}	96.41^{e}	99.04^{cd}	1.17	<.0001
Conversion alimentaire									
J0-J10 (Phase 1)	1.188	1.176	1.178	1.213	1.193	1.211	1.202	0.016	0.4045
J10-J20 (Phase 2)	1.250^{b}	1.396^{b}	1.242^{a}	1.274^{b}	1.270^{b}	1.393^{a}	1.382^{a}	0.018	<.0001
J20-J34 (Phase 3)	1.452^{b}	1.458^{b}	1.429^{a}	1.536^{b}	1.465^{b}	1.520^{a}	1.464^{b}	0.018	0.0003
J0-J20	1.233^{bc}	1.328^{a}	1.225^{c}	1.258^{b}	1.249^{bc}	1.337^{a}	1.328^{a}	0.014	<.0001
J10-J34	1.395^{d}	1.443^{b}	1.375^{d}	1.459^{ab}	1.407^{cd}	1.486^{a}	1.442^{bc}	0.013	<.0001
J0-J34	1.376^{d}	1.416^{bc}	1.357^{d}	1.435^{ab}	1.386^{cd}	1.457^{a}	1.418^{b}	0.012	<.0001
Mortalités (%)									
J0-J10 (Phase 1)	1.06	1.86	1.86	2.39	1.85	1.06	1.33	0.69	0.7790
J10-J20 (Phase 2)	0.81	0.54	0.55	0.81	0.29	1.89	0.28	0.47	0.1928
J20-J34 (Phase 3)	0.59	1.78	0.29	0.61	1.03	0.00	0.29	0.49	0.1906
J0-J20	1.87	2.41	2.41	3.20	2.12	2.95	1.61	0.88	0.8416
J10-J34	1.40	2.32	0.84	1.42	1.35	1.89	0.57	0.66	0.4883
J0-J34	2.46	4.18	2.70	3.81	3.16	2.95	1.90	1.02	0.7017

Les moyennes des moindres carrées ± l'erreur standard sont présentées. Les traitements non connectés par la même lettre sont significativement différents, selon une valeur de $p < 0,05$. T1, oiseaux non infectés et non médicamentés ; T2, oiseaux infectés et non médicamentés ; T3, oiseaux infectés + médicamentés aux antibiotique et anticoccidiens; T4, oiseaux non infectés +6 kg/t FormXP® ; T5, oiseaux non infectés +10 kg/t FormXP® ; T6, oiseaux infectés +6 kg/t FormXP® ; T7, oiseaux infectés +10 kg/t FormXP®.

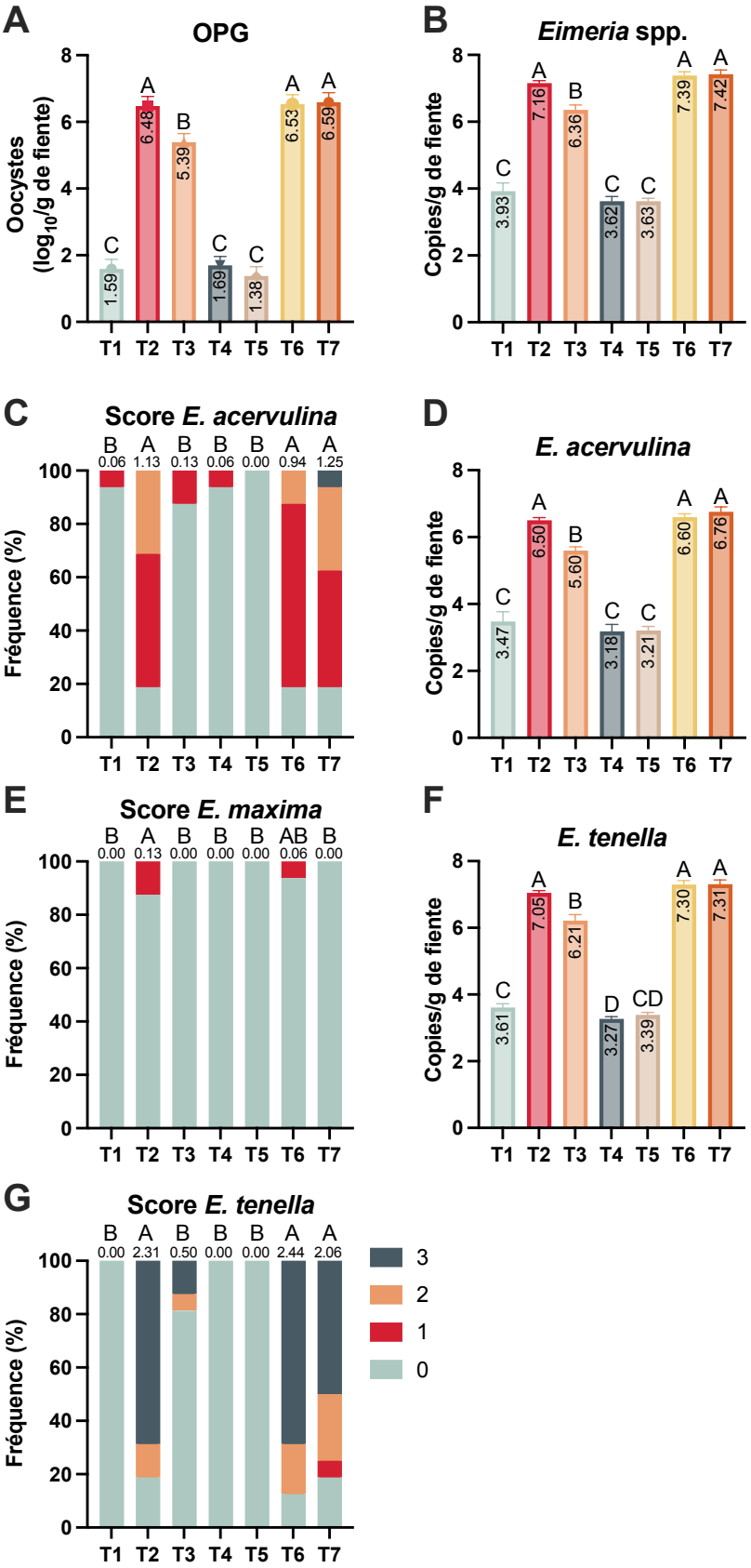


Figure 1. Lésions de coccidiose et excrétion oocytaire de l'essai. (**A**) Oocystes par g de fiente et (**B**) nombre de copies excrétées d'*Eimeria* spp. (*E. acervulina* et *E. tenella*) au j20. Scores des lésions caractéristiques (**C**) d'*E. acervulina*, (**D**) d'*E. maxima* et (**D**) d'*E. tenella* au j21. Nombre de copies excrétées (**D**) d'*E. acervulina*, et (**F**) d'*E. tenella* au j21. Pour C, E et G, les données

présentées sont les fréquences pour chaque score lésionnel et leurs moyennes sont affichées au-dessus des barres. Les traitements non connectés par la même lettre sont significativement différents, selon une valeur de p < 0,05. T1, oiseaux non infectés et non médicamentés ; T2, oiseaux infectés et non médicamentés ; T3, oiseaux infectés + médicamenté aux antibiotique et anticoccidiens ; T4, oiseaux non infectés +6 kg/t FormXP® ; T5, oiseaux non infectés +10 kg/t FormXP® ; T6, oiseaux infectés +6 kg/t FormXP® ; T7, oiseaux infectés +10 kg/t FormXP®.

Tableau 2. Données de composition corporelle et de minéralisation osseuse de l'essai.

	Traitements								Effet Tx
Mesures	**T1**	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**	**T6**	**T7**	**Erreur std**	**Valeur de p**
Contenu minéral osseux (g)									
J10	3.01	2.71	2.89	2.74	2.71	2.70	2.86	0.15	0.6472
J20	11.68^{a}	10.21^{c}	11.51^{ab}	11.79^{a}	11.25^{ab}	10.02^{c}	10.59^{bc}	0.34	0.0012
J34	33.69^{a}	29.45^{c}	32.60^{ab}	31.71^{ab}	32.37^{a}	29.10^{c}	30.15^{bc}	0.75	0.0003
Contenu minéral osseux/poids (g/kg)									
J10	10.91	10.12	10.28	10.81	10.30	10.49	11.24	0.38	0.3061
J20	12.17^{b}	12.21^{b}	11.74^{b}	13.09^{a}	11.90^{b}	12.14^{b}	12.35^{ab}	0.30	0.0837
J34	13.03^{a}	12.11^{bc}	11.90^{c}	12.80^{ab}	12.56^{abc}	12.61^{ab}	12.59^{abc}	0.25	0.0377
Densité minérale osseuse (g/cm^2)									
J10	0.072^{ab}	0.067^{b}	0.074^{a}	0.075^{a}	0.073^{a}	0.072^{a}	0.076^{a}	0.002	0.0424
J20	0.117^{ab}	0.111^{b}	0.114^{b}	0.122^{a}	0.116^{ab}	0.113^{b}	0.114^{b}	0.003	0.0914
J34	0.151^{a}	0.143^{bc}	0.148^{ab}	0.151^{a}	0.147^{ab}	0.139^{c}	0.146^{abc}	0.002	0.0076
Masse maigre (g)									
J10	213.9	211.5	223.4	205.0	205.4	201.2	201.0	7.3	0.3181
J20	788.3^{ab}	691.7^{d}	823.8^{a}	747.0^{bc}	786.4^{ab}	686.0^{d}	709.4^{cd}	18.6	<.0001
J34	2157.4^{b}	2022.0^{d}	2309.3^{a}	2042.2^{cd}	2152.3^{bc}	1895.9^{e}	2013.5^{d}	38.7	<.0001
Masse grasse (g)									
J10	61.3	56.1	58.0	49.5	57.3	56.2	52.4	3.7	0.2864
J20	172.0^{a}	144.8^{bc}	155.2^{bc}	153.9^{bc}	159.7^{ab}	140.5^{c}	148.8^{bc}	5.6	0.0051
J34	426.4	413.9	430.6	435.9	427.7	414.8	384.4	14.6	0.1706
Pourcentage de matière grasse (%)									
J10	22.4	20.9	20.6	19.4	21.7	21.7	20.9	1.3	0.6861
J20	18.0	17.4	15.9	17.1	16.9	17.0	17.4	0.6	0.3798
J34	16.5^{bc}	17.0^{abc}	15.7^{c}	17.6^{ab}	16.6^{bc}	17.9^{a}	16.0^{c}	0.5	0.0172

Les moyennes des moindres carrées ± l'erreur standard sont présentées. Les traitements non connectés par la même lettre sont significativement différents, selon une valeur de p < 0,05. T1, oiseaux non infectés et non médicamentés ; T2, oiseaux infectés et non médicamentés ; T3, oiseaux infectés + médicamenté aux antibiotique et anticoccidiens ; T4, oiseaux non infectés +6 kg/t FormXP® ; T5, oiseaux non infectés +10 kg/t FormXP® ; T6, oiseaux infectés +6 kg/t FormXP® ; T7, oiseaux infectés +10 kg/t FormXP®.

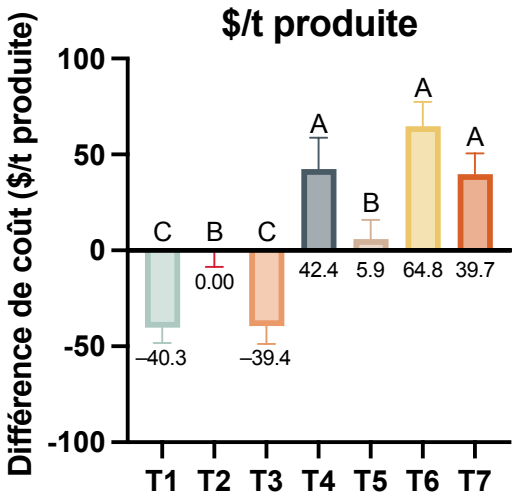


Figure 2. Différences des coûts de l'aliment ingéré et des additifs de l'essai par rapport au gain de poids produit ($/t produite) par rapport au T2. Les barres représentent les moyennes ± l'erreur type. Les traitements non connectés par la même lettre sont significativement différents, selon une valeur de $p < 0,05$. T1, oiseaux non infectés et non médicamentés ; T2, oiseaux infectés et non médicamentés ; T3, oiseaux infectés + médicamenté aux antibiotique et anticoccidiens ; T4, oiseaux non infectés +6 kg/t FormXP® ; T5, oiseaux non infectés +10 kg/t FormXP® ; T6, oiseaux infectés +6 kg/t FormXP® ; T7, oiseaux infectés +10 kg/t FormXP®.

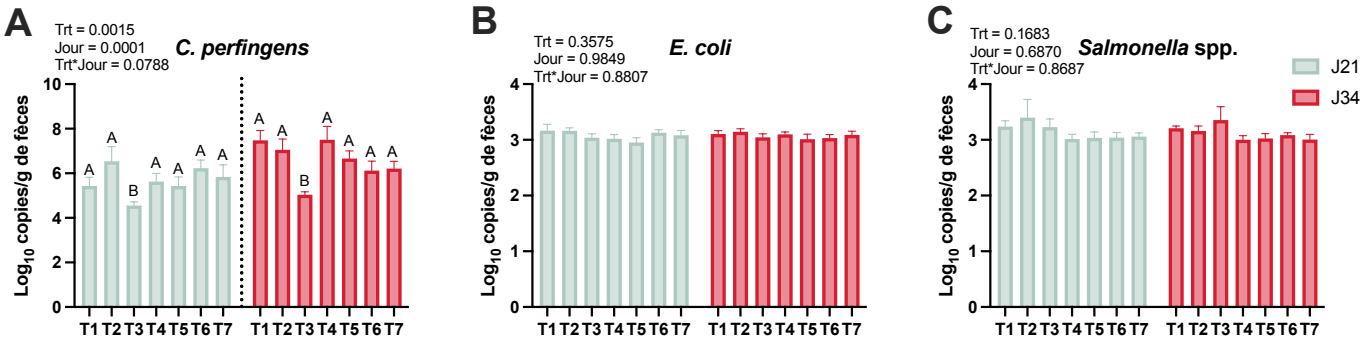


Figure 3. Teneurs en *C. perfringens* (**A**), *E. coli* (**B**) et *Salmonella* spp (**C**) par g de fiente aux jours 21 et 34. Les barres représentent les moyennes ± l'erreur type. Les traitements non connectés par la même lettre sont significativement différents, selon une valeur de $p < 0,05$. T1, oiseaux non infectés et non médicamentés ; T2, oiseaux infectés et non médicamentés ; T3, oiseaux infectés + médicamenté aux antibiotique et anticoccidiens ; T4, oiseaux non infectés +6 kg/t FormXP® ; T5, oiseaux non infectés +10 kg/t FormXP® ; T6, oiseaux infectés +6 kg/t FormXP® ; T7, oiseaux infectés +10 kg/t FormXP®.

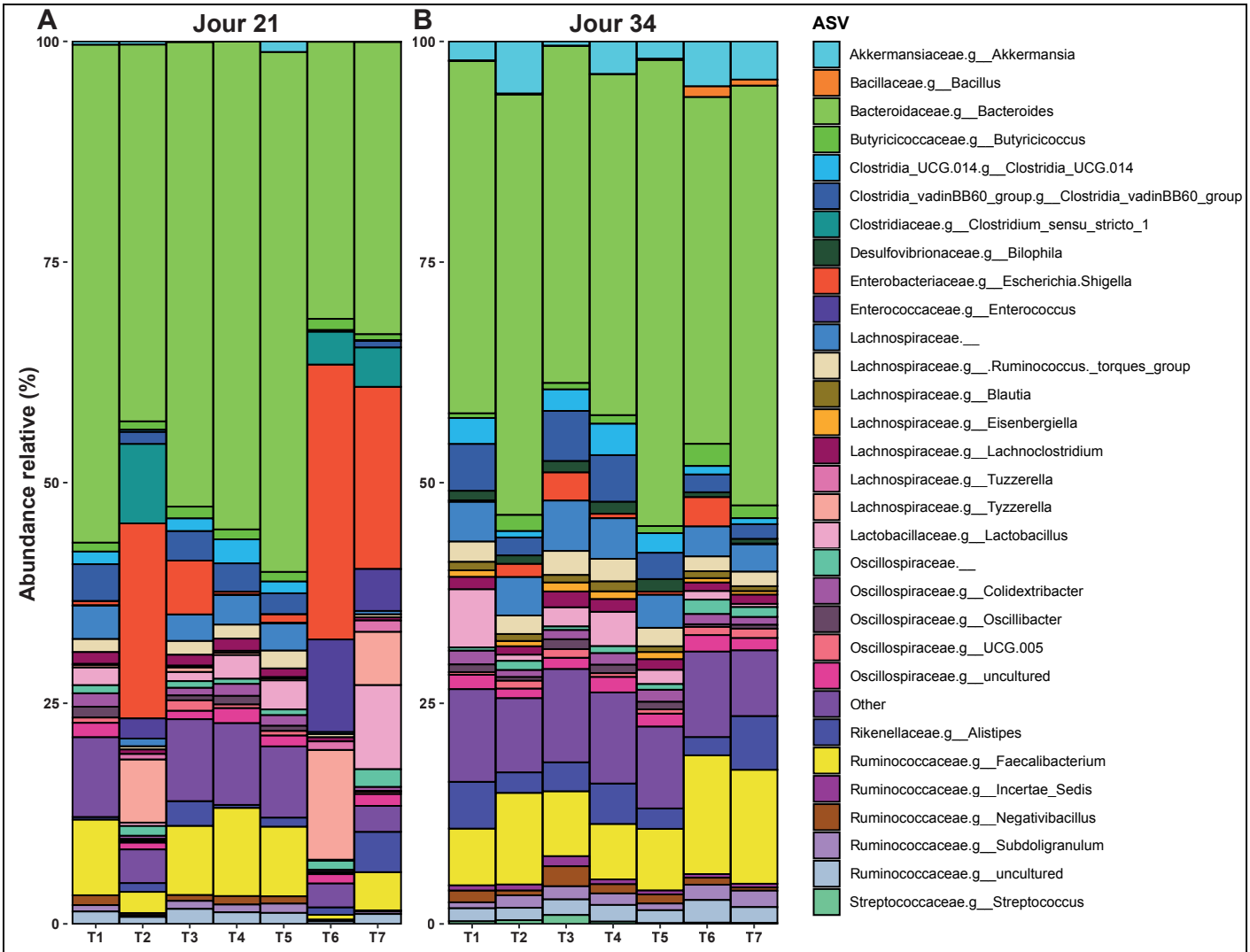
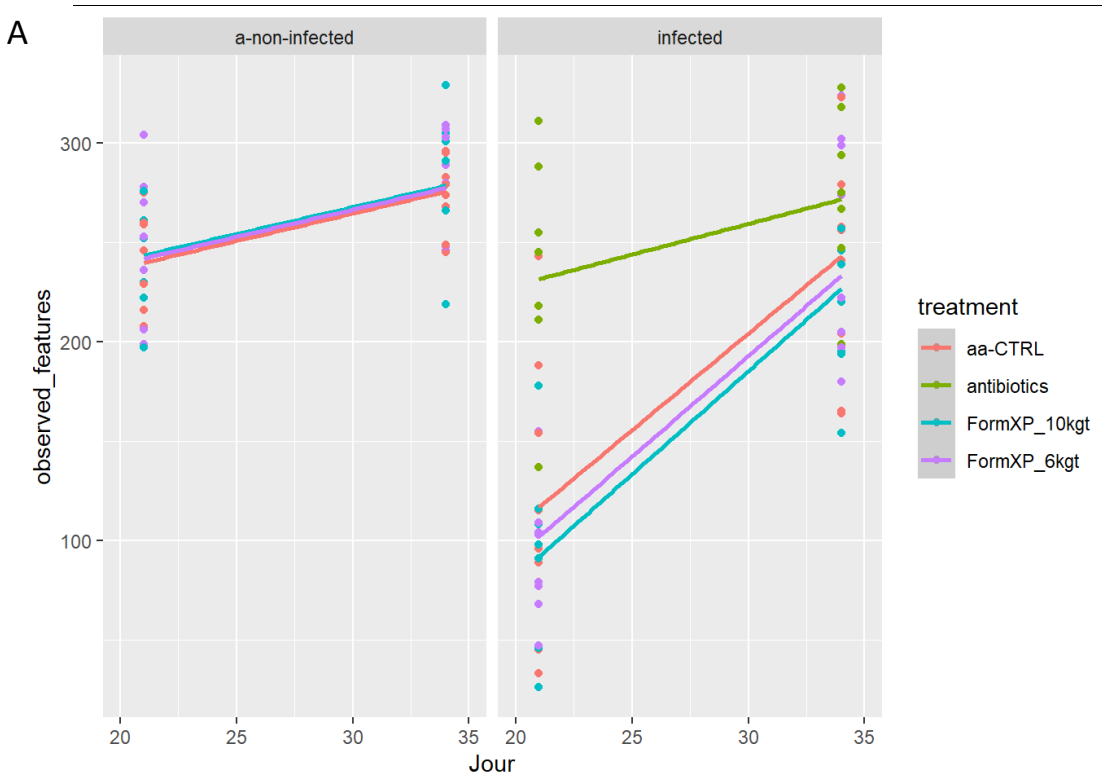
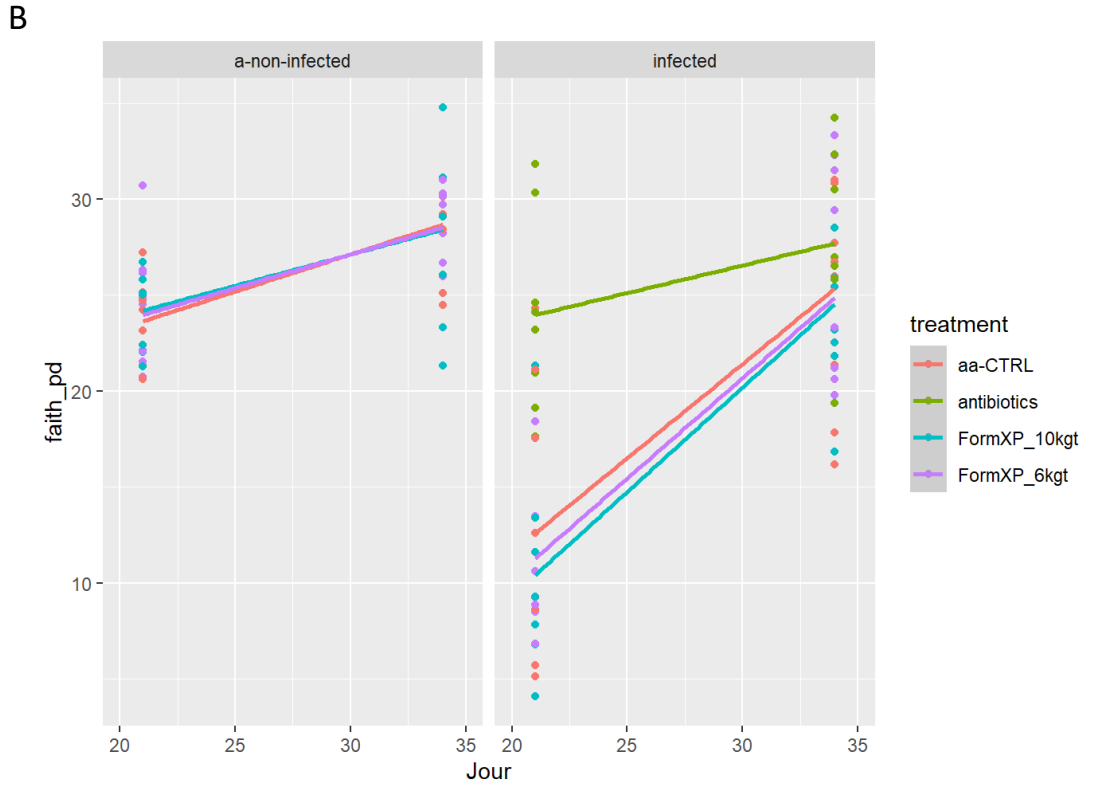
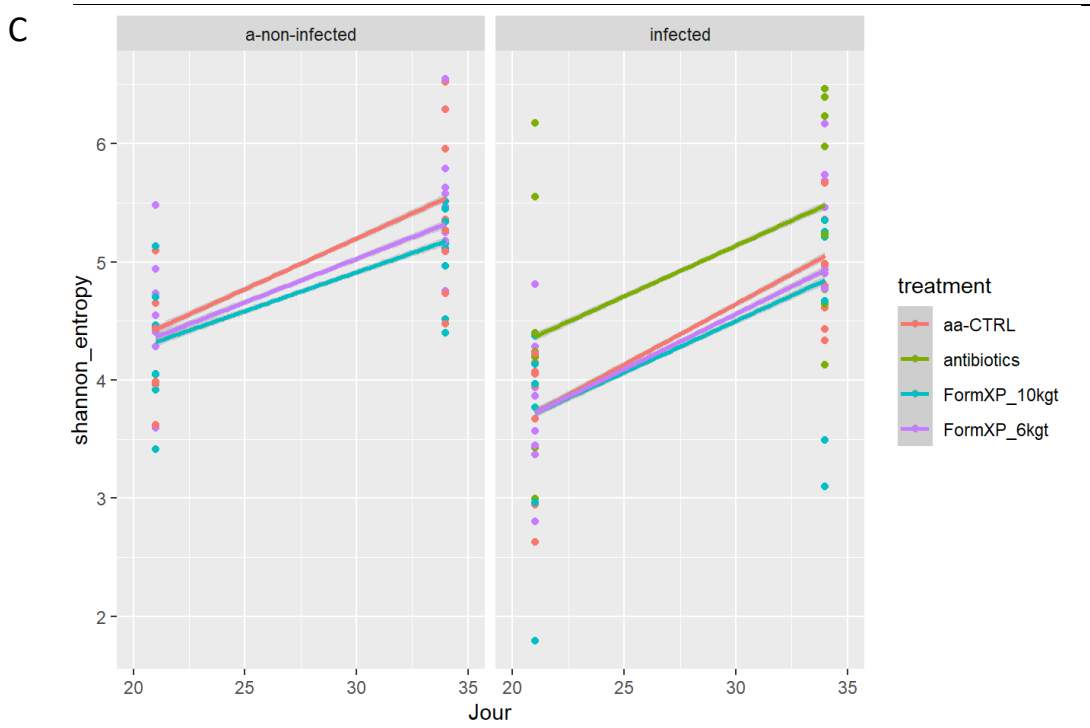


Figure 4. Abondances relatives de la population microbienne aux jours 21 (**A**) et 34 (**B**) des contenus cæcaux. T1, oiseaux non infectés et non médicamentés ; T2, oiseaux infectés et non médicamentés ; T3, oiseaux infectés + médicamenté aux antibiotique et anticoccidiens ; T4, oiseaux non infectés +6 kg/t FormXP® ; T5, oiseaux non infectés +10 kg/t FormXP® ; T6, oiseaux infectés +6 kg/t FormXP® ; T7, oiseaux infectés +10 kg/t FormXP®.


A
a-non-infected
infected
observed_features
300
200
100
20
25
30
35
Jour
treatment
aa-CTRL
antibiotics
FormXP_10kgt
FormXP_6kgt


B
a-non-infected
infected
faith_pd
30
20
10
20
25
30
35
Jour
treatment
aa-CTRL
antibiotics
FormXP_10kgt
FormXP_6kgt



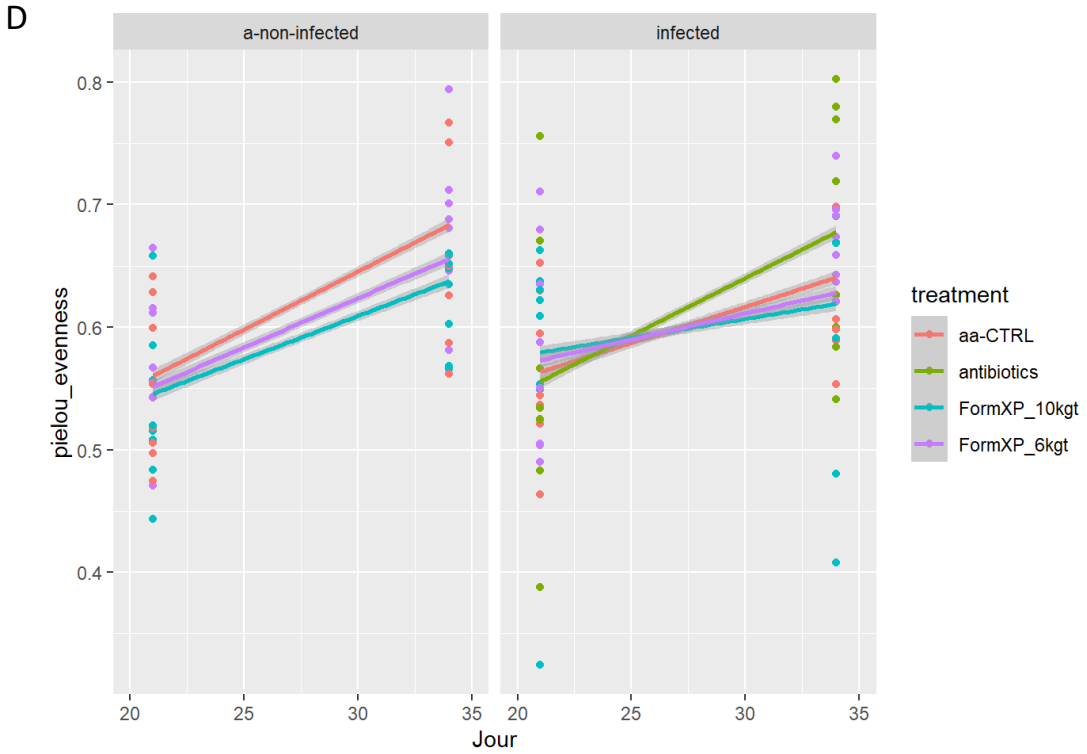


Figure 5. Diversité phylogénique alpha du microbiote cæcal. (**A**) Taxa observés, indices phylogéniques de (**B**) Faith, (**C**) de Shannon, et de régularité (**D**) de Pielou.

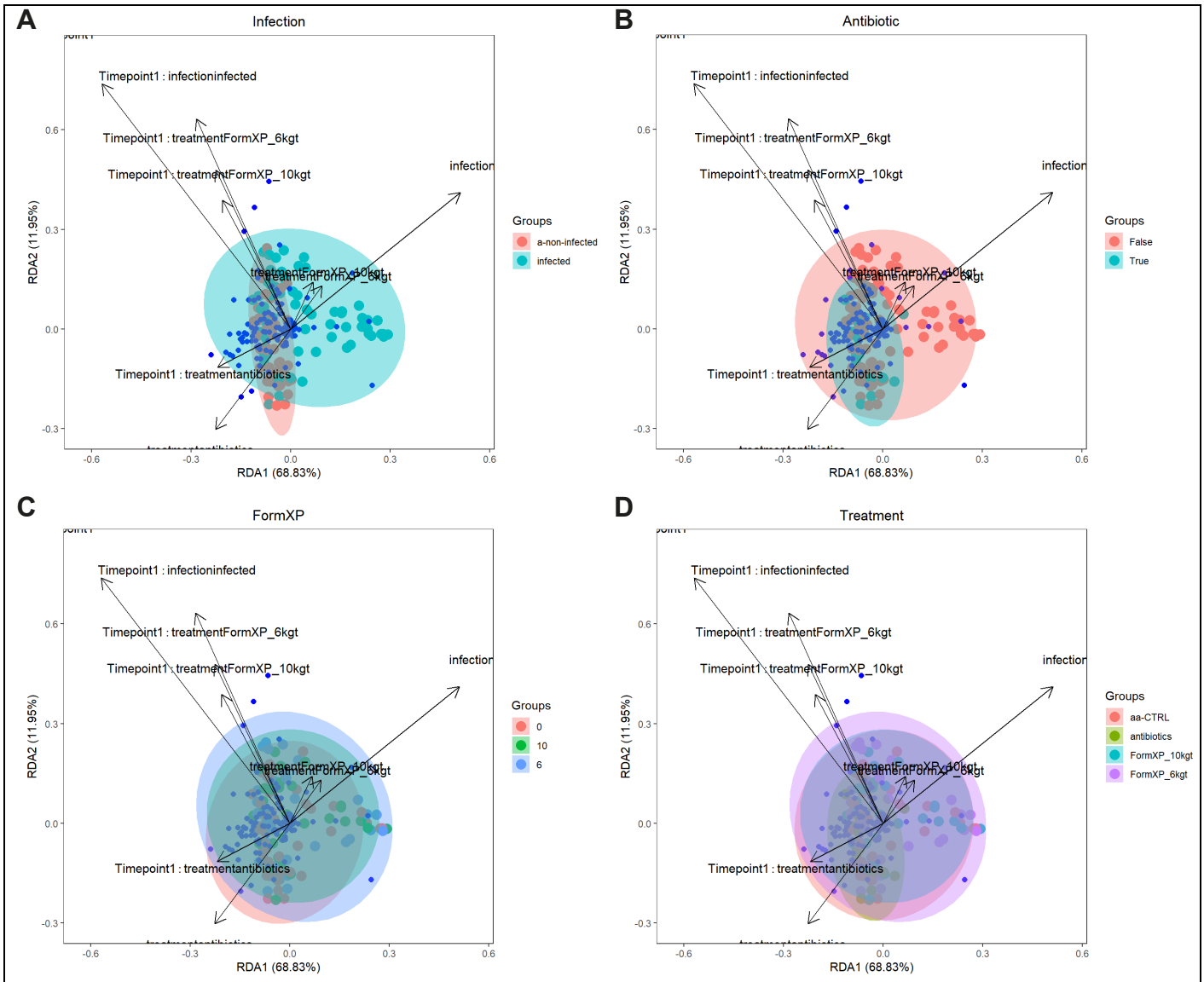
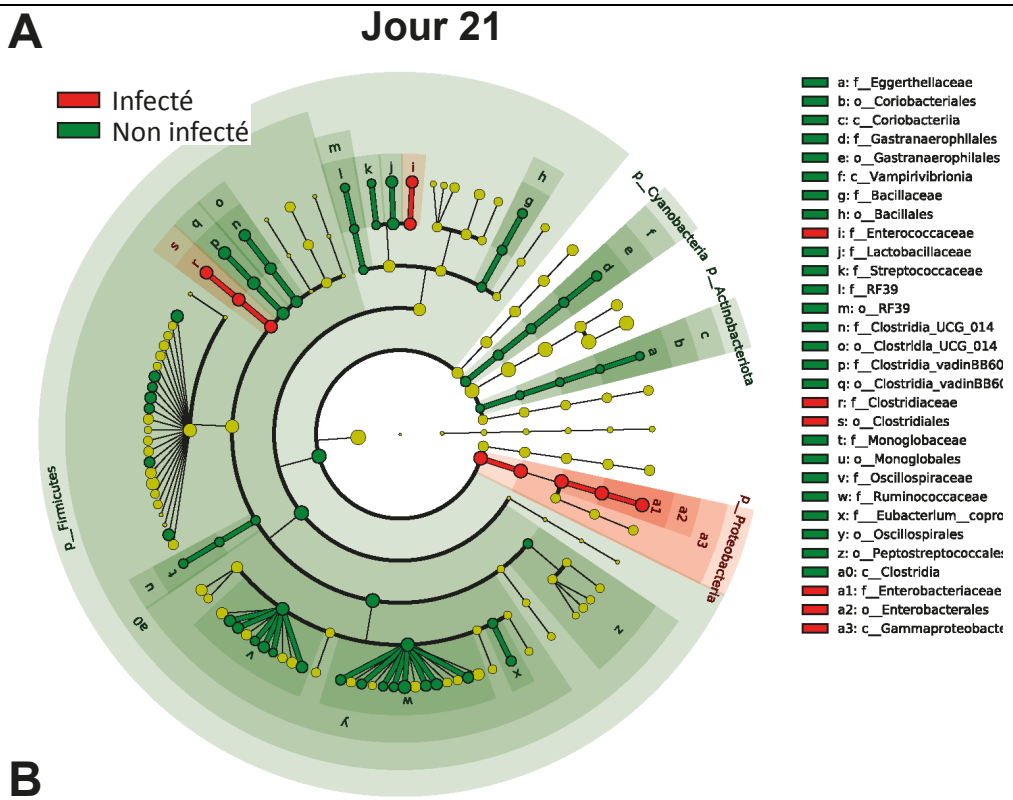
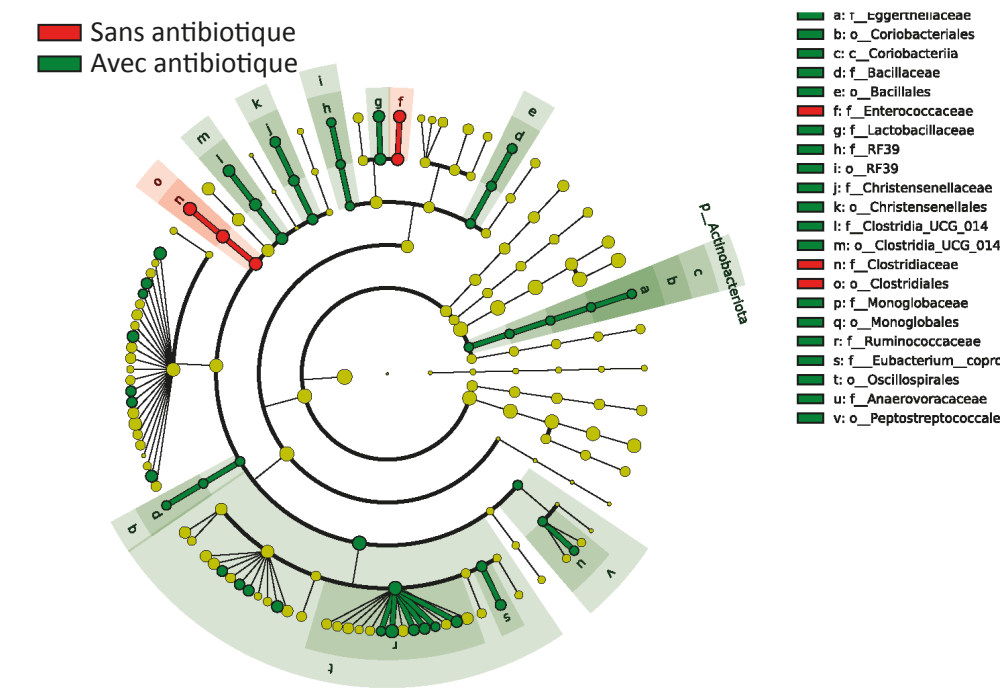


Figure 6. Analyse des coordonnées principales de la diversité Beta des contenus cæcaux, selon le challenge coccidien (**A**), la présence ou l'absence d'antibiotique et d'anticoccidiens (BMD®/Maxiban®-Monteban®) (**B**), la dose de l'acidifiant alimentaire FormXP® (**C**) et de l'ensemble (**D**).


A
Jour 21
Infecté
Non infecté
p__Cyanobacteria
p__Actinobacteriota
p__Proteobacteria
p__Firmicutes
a: f__Eggerthellaceae
b: o__Coriobacteriales
c: c__Coriobacteriia
d: f__Gastranaerophilales
e: o__Gastranaerophilales
f: c__Vampirivibrionia
g: f__Bacillaceae
h: o__Bacillales
i: f__Enterococcaceae
j: f__Lactobacillaceae
k: f__Streptococcaceae
l: f__RF39
m: o__RF39
n: f__Clostridia_UCG_014
o: o__Clostridia_UCG_014
p: f__Clostridia_vadinBB60
q: o__Clostridia_vadinBB6(
r: f__Clostridiaceae
s: o__Clostridiales
t: f__Monoglobaceae
u: o__Monoglobales
v: f__Oscillospiraceae
w: f__Ruminococcaceae
x: f__Eubacterium__copro
y: o__Oscillospirales
z: o__Peptostreptococcales
a0: c__Clostridia
a1: f__Enterobacteriaceae
a2: o__Enterobacterales
a3: c__Gammaproteobacte


B
Sans antibiotique
Avec antibiotique
p__Actinobacteriota
a: f__Eggerthellaceae
b: o__Coriobacteriales
c: c__Coriobacteriia
d: f__Bacillaceae
e: o__Bacillales
f: f__Enterococcaceae
g: f__Lactobacillaceae
h: f__RF39
i: o__RF39
j: f__Christensenellaceae
k: o__Christensenellales
l: f__Clostridia_UCG_014
m: o__Clostridia_UCG_014
n: f__Clostridiaceae
o: o__Clostridiales
p: f__Monoglobaceae
q: o__Monoglobales
r: f__Ruminococcaceae
s: f__Eubacterium__copro
t: o__Oscillospirales
u: f__Anaerovoracaceae
v: o__Peptostreptococcale

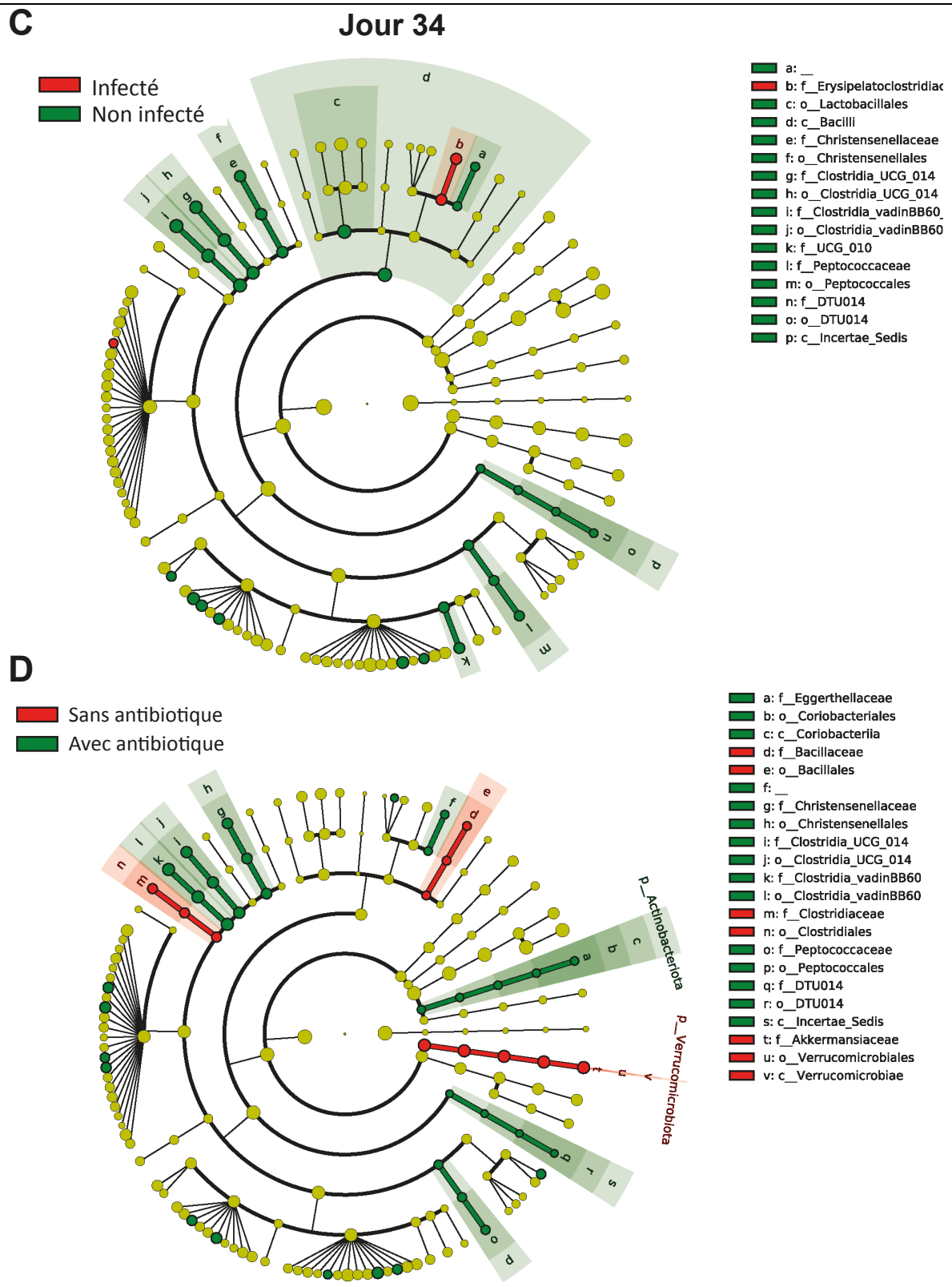


Figure 7. Cladogrammes générés par l'analyse discriminante linéaire par taille d'effet (LEfSE, LDA Effect Size) représentant la diversité beta du microbiote cæcal aux jours 21 (**A** et **B**) et 34 (**C** et **D**), en fonction du challenge coccidien (**A** et **C**), et de la présence ou l'absence d'antibiotique et d'anticoccidiens (BMD®/Maxiban®-Monteban®) (**B** et **D**). Les taxons significativement différents sont présentés dans la légende.

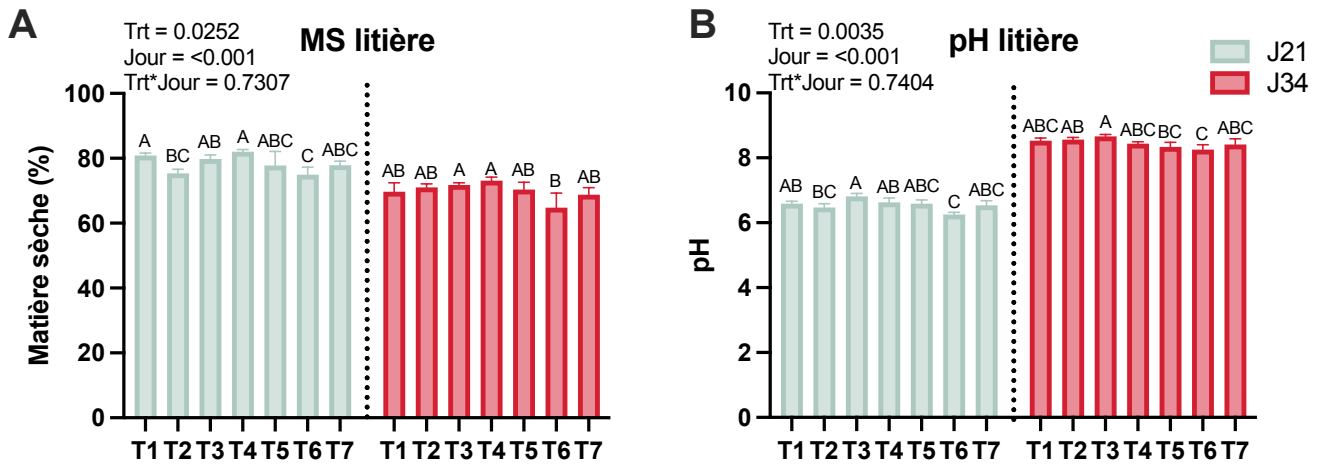


Figure 8. Matière sèche (MS) (**A**), et pH (**B**) de la litière aux jours 21 et 34. Les barres représentent les moyennes ± l'erreur type. Les traitements non connectés par la même lettre sont significativement différents, selon une valeur de p < 0,05. T1, oiseaux non infectés et non médicamentés ; T2, oiseaux infectés et non médicamentés ; T3, oiseaux infectés + médicamenté aux antibiotique et anticoccidiens ; T4, oiseaux non infectés +6 kg/t FormXP® ; T5, oiseaux non infectés +10 kg/t FormXP® ; T6, oiseaux infectés +6 kg/t FormXP® ; T7, oiseaux infectés +10 kg/t FormXP®.

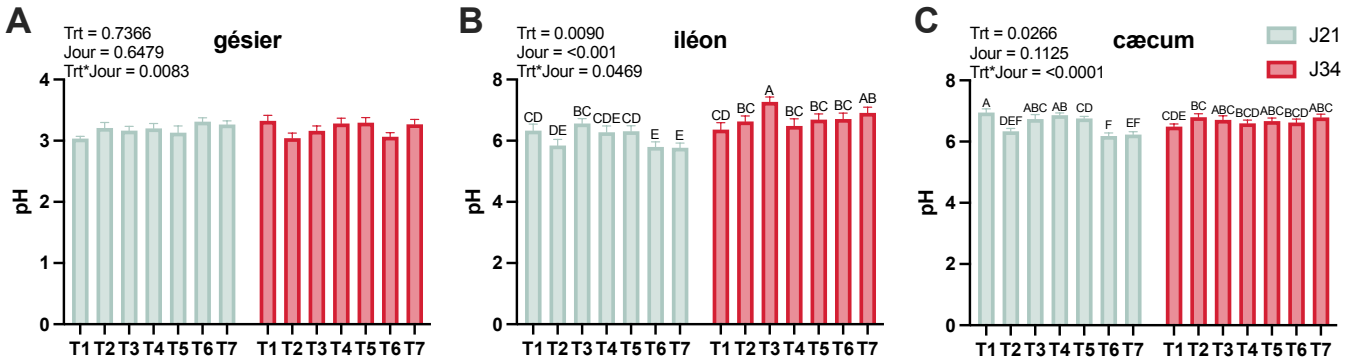


Figure 9. pH des contenus du gésier (**A**), de l'iléon (**B**) et du cæcum (**C**) aux jours 21 et 34. Les barres représentent les moyennes ± l'erreur type. Les traitements non connectés par la même lettre sont significativement différents, selon une valeur de p < 0,05. T1, oiseaux non infectés et non médicamentés ; T2, oiseaux infectés et non médicamentés ; T3, oiseaux infectés + médicamenté aux antibiotique et anticoccidiens ; T4, oiseaux non infectés +6 kg/t FormXP® ; T5, oiseaux non infectés +10 kg/t FormXP® ; T6, oiseaux infectés +6 kg/t FormXP® ; T7, oiseaux infectés +10 kg/t FormXP®.

6. Conclusion

En résumé, les résultats de cette étude ont permis de déterminer les effets de deux doses d'un acidifiant alimentaire sur les performances zootechniques, le microbiote intestinal et leurs impacts technico-économiques chez le poulet de chair dans des conditions avec et sans coccidiose aviaire. L'acidifiant à l'étude n'a pas amélioré les performances de croissance, la minéralisation osseuse et la composition corporelle chez des poulets de chair soumis ou non à un challenge coccidien *Eimeria* et n'a pas montré d'effet direct sur le parasite, sur les pathogènes *C. perfringens*, *E. coli* et *Salmonella* spp., sur la population microbienne intestinale et sur les pH intestinaux et de la litière. L'analyse technico-économique n'a pas permis de montrer que cet additif aux doses évaluées dans cette étude est rentable chez le poulet de chair en présence ou en absence de coccidiose aviaire.

7. Références

Akhtar, M., Tariq, A.F., Awais, M.M., Iqbal, Z., Muhammad, F., Shahid, M., Hiszczynska-Sawicka, E., 2012. Studies on wheat bran Arabinoxylan for its immunostimulatory and protective effects against avian coccidiosis. Carbohyd Polym 90, 333–339. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.048

Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. Austral Ecol. 26, 32–46. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x

Andrade, T. de J.A. dos S., Araújo, B.Q., Citó, A.M. das G.L., Silva, J. da, Saffi, J., Richter, M.F., Ferraz, A. de B.F., 2011. Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). Food Chemistry 126, 1044–1048. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.122

Bokulich, N.A., Kaehler, B.D., Rideout, J.R., Dillon, M., Bolyen, E., Knight, R., Huttley, G.A., Caporaso, J.G., 2018. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. Microbiome 6, 90. https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z

Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R., Bokulich, N.A., Abnet, C.C., Al-Ghalith, G.A., Alexander, H., Alm, E.J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J.E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C.J., Brown, C.T., Callahan, B.J., Caraballo-Rodríguez, A.M., Chase, J., Cope, E.K., Silva, R.D., Diener, C., Dorrestein, P.C., Douglas, G.M., Durall, D.M., Duvallet, C., Edwardson, C.F., Ernst, M., Estaki, M., Fouquier, J., Gauglitz, J.M., Gibbons, S.M., Gibson, D.L., Gonzalez, A., Gorlick, K., Guo, J., Hillmann, B., Holmes, S., Holste, H., Huttenhower, C., Huttley, G.A., Janssen, S., Jarmusch, A.K., Jiang, L., Kaehler, B.D., Kang, K.B., Keefe, C.R., Keim, P., Kelley, S.T., Knights, D., Koester, I., Kosciolek, T., Kreps, J., Langille, M.G.I., Lee, J., Ley, R., Liu, Y.-X., Loftfield, E., Lozupone, C., Maher, M., Marotz, C., Martin, B.D., McDonald, D., McIver, L.J., Melnik, A.V., Metcalf, J.L., Morgan, S.C., Morton, J.T., Naimey, A.T., Navas-Molina, J.A., Nothias, L.F., Orchanian, S.B., Pearson, T., Peoples, S.L., Petras, D., Preuss, M.L., Pruesse, E., Rasmussen, L.B., Rivers, A., Robeson, M.S., Rosenthal, P., Segata, N., Shaffer, M., Shiffer, A., Sinha, R., Song, S.J., Spear, J.R., Swafford, A.D., Thompson, L.R., Torres, P.J., Trinh, P., Tripathi, A., Turnbaugh, P.J., Ul-Hasan, S., Hooft, J.J.J. van der, Vargas, F., Vázquez-Baeza, Y., Vogtmann, E., Hippel, M. von, Walters, W., Wan, Y., Wang, M., Warren, J., Weber, K.C., Williamson, C.H.D., Willis, A.D., Xu, Z.Z., Zaneveld, J.R., Zhang, Y., Zhu, Q., Knight, R., Caporaso, J.G., 2019. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. Nat. Biotechnol. 37, 852–857. https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9

Bourassa, D.V., Wilson, K.M., Ritz, C.R., Kiepper, B.K., Buhr, R.J., 2018. Evaluation of the addition of organic acids in the feed and/or water for broilers and the subsequent recovery of Salmonella Typhimurium from litter and ceca. Poultry Sci 97, 64–73. https://doi.org/10.3382/ps/pex289

Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nat. Methods 13, 581–583. https://doi.org/10.1038/nmeth.3869

Chapman, H.D., 2014. Milestones in avian coccidiosis research: a review. Poultry science 93, 501–511. https://doi.org/10.3382/ps.2013-03634

Chapman, H.D., Jeffers, T.K., Williams, R.B., 2010. Forty years of monensin for the control of coccidiosis in poultry. Poultry science 89, 1788–1801. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00931

Conway, D.P., McKenzie, M.E., 2007. Poultry Coccidiosis, John Wiley & Sons. John Wiley & Sons.

Gómez-García, M., Sol, C., Nova, P.J.G. de, Puyalto, M., Mesas, L., Puente, H., Mencía-Ares, Ó., Miranda, R., Argüello, H., Rubio, P., Carvajal, A., 2019. Antimicrobial activity of a selection of organic acids, their salts and essential oils against swine enteropathogenic bacteria. Porcine Heal Management 5, 32. https://doi.org/10.1186/s40813-019-0139-4

Joyner, L.P., Long, P.L., 1974. The specific characters of the Eimeria, with special reference to the Coccidia of the fowl. Avian Pathol 3, 145–157. https://doi.org/10.1080/03079457409353827

Lee, Y.S., Lee, S.H., Gadde, U.D., Oh, S.T., Lee, S.J., Lillehoj, H.S., 2018. Allium hookeri supplementation improves intestinal immune response against necrotic enteritis in young broiler chickens. Poultry science 97, 1899–1908. https://doi.org/10.3382/ps/pey031

López, C.A.A., Lima, K.R.S., Manno, M.C., Tavares, F.B., Neto, D.L.F., Jesus, M.L.C., Viana, M.A.O., Fonseca, L.A.B., 2012. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 64, 1027–1035. https://doi.org/10.1590/s0102-09352012000400032

Manzoor, Z., Munawar, S.H., Abbas, R.Z., Raza, M.A., Khan, I.A., 2013. Comparative anticoccidial activity of hydrochloric acid (HCl) and formic acid against Eimeria tenella in broiler chickens. International Journal of Biological and Medical Research 4, 3714–3718.

Martin, M., 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. EMBnetJ. 17, 10–12. https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200

Molan, A.L., Liu, Z., De, S., 2009. Effect of pine bark (Pinus radiata) extracts on sporulation of coccidian oocysts. Folia Parasitologica 56, 1–5. https://doi.org/10.14411/fp.2009.001

Muthamilselvan, T., Kuo, T.-F., Wu, Y.-C., Yang, W.-C., 2016. Herbal Remedies for Coccidiosis Control: A Review of Plants, Compounds, and Anticoccidial Actions. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM 2016, 2657981–19. https://doi.org/10.1155/2016/2657981

Nghonjuyi, N.W., Tiambo, C.K., Kimbi, H.K., Manka'a, C.-A.N., Juliano, R.S., Lisita, F., 2015. Efficacy of Ethanolic Extract of Carica papaya leaves as a Substitute of Sulphanomide for the Control of Coccidiosis in KABIR Chickens in Cameroon. J Animal Heal Prod 3, 21–27. https://doi.org/10.14737/journal.jahp/2015/3.1.21.27

Oakley, B.B., Buhr, R.J., Ritz, C.W., Kiepper, B.H., Berrang, M.E., Seal, B.S., Cox, N.A., 2014. Successional changes in the chicken cecal microbiome during 42 days of growth are independent of organic acid feed additives. Bmc Vet Res 10, 282. https://doi.org/10.1186/s12917-014-0282-8

Oliveira, M.S.C., Morais, S.M. de, Magalhães, D.V., Batista, W.P., Vieira, Í.G.P., Craveiro, A.A., Manezes, J.E.S.A. de, Carvalho, A.F.U., Lima, G.P.G. de, 2011. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. Acta Tropica 117, 165–170. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.08.003

Peek, H.W., Veen, C.T., Dijkman, R., Landman, W.J.M., 2017. Validation of a quantitative Eimeria spp. PCR for fresh droppings of broiler chickens. Avian pathology : journal of the W.V.P.A 46, 615–622. https://doi.org/10.1080/03079457.2017.1337269

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. Nucleic Acids Res. 41, D590–D596. https://doi.org/10.1093/nar/gks1219

Quiroz-Castañeda, R.E., Dantán-González, E., 2015. Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. BioMed research international 2015, 430610–11. https://doi.org/10.1155/2015/430610

Ricke, S., 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. Poultry Sci 82, 632–639. https://doi.org/10.1093/ps/82.4.632

Ricke, S.C., Dittoe, D.K., Richardson, K.E., 2020. Formic Acid as an Antimicrobial for Poultry Production: A Review. Frontiers Vet Sci 7, 563. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00563

Roth, N., Mayrhofer, S., Gierus, M., Weingut, C., Schwarz, C., Doupovec, B., Berrios, R., Domig, K.J., 2017. Effect of an organic acids based feed additive and enrofloxacin on the prevalence of antibiotic-resistant E. coli in cecum of broilers. Poultry Sci 96, 4053–4060. https://doi.org/10.3382/ps/pex232

Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W.S., Huttenhower, C., 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. Genome Biol. 12, R60. https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60

Thangavel, G., Mukkalil, R., Chirakkal, H., Kurian, H., Inc, K.I., 2014. Plant Parts and Extracts Having Anticoccidial Activity.

Toyomizu, M., Okamoto, K., Ishibashi, T., Chen, Z., Nakatsu, T., 2000. Uncoupling effect of anacardic acids from cashew nut shell oil on oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria. Life sciences 66, 229–234.

Vrba, V., Blake, D.P., Poplstein, M., 2010. Quantitative real-time PCR assays for detection and quantification of all seven Eimeria species that infect the chicken. Vet Parasitol 174, 183–190. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.006

Wang, D., Zhou, L., Li, W., Zhou, H., Hou, G., 2017. Anticoccidial effects of areca nut (Areca catechu L.) extract on broiler chicks experimentally infected with Eimeria tenella. Experimental parasitology. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.11.002

Wang, M.L., Suo, X., Gu, J.H., Zhang, W.W., Fang, Q., Wang, X., 2008. Influence of Grape Seed Proanthocyanidin Extract in Broiler Chickens: Effect on Chicken Coccidiosis and Antioxidant Status. Poultry science 87, 2273–2280. https://doi.org/10.3382/ps.2008-00077

Yang, W.C., Tien, Y.J., Chung, C.Y., Chen, Y.C., Chiou, W.H., Hsu, S.Y., Liu, H.Y., Liang, C.L., Chang, C.L.T., 2015. Effect of Bidens pilosa on infection and drug resistance of Eimeria in chickens. Research in veterinary science 98, 74–81. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.11.002