



Université Sidi Mohammed Ben Abdellah
Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès
Centre d'Etudes Doctorales
"Sciences et Technologies"

Formation Doctorale : Molécules bioactives, Santé et Biotechnologies

Discipline : Biologie

Spécialité : Biochimie et biotechnologie

Laboratoire : Biotechnologie

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

SENNOUNI Chaimae Imane

Composition innovante utilisée pour le traitement de l'eau d'abreuvement en élevage avicole:

Effet contre les germes pathogènes

Soutenue le 02/02/2019 devant le jury composé de :

Pr. REMMAL Adnane	(Faculté des sciences Dhar el mahrez)	Président
Pr. HAJJAJ Hassan	(Faculté des sciences de Meknes)	Rapporteur
Pr. BELKADI Bouchra	(Faculté des sciences Agdal, Rabat)	Rapporteur
Pr. BENYAHYA Mohammed	(Faculté des sciences Dhar el mahrez)	Rapporteur
Pr. OUMOKHTAR Bouchra	(Faculté de médecine et de pharmacie de Fes)	Examineur
Pr. EL ABED Soumya	(Faculté des sciences et techniques de Fes)	Examineur
Pr. TANTAOUI-ELARAKI Abdelghafour	(Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II)	Membre invité
Pr. CHAMI Fouzia	(Faculté des sciences Dhar el mahrez)	Directeur de thèse

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents en gratitude de tout ce qu'ils ont fait pour moi

A mon mari, pour sa compréhension, sa patience et son soutien matériel et moral

A mon fils, que Dieu le bénisse

A mes frères, pour leur amour et leur affection

A tous les membres de ma famille

A mes très chères amies, Imane, Mounia, Samira et Houda

A tous ceux qui me sont chers

Que ce travail soit l'accomplissement de nos vœux

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier ma directrice de thèse le Professeur Chami Fouzia et mon co-directeur le Professeur Remmal Adnane pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de biotechnologie de la faculté des sciences Dhar El Mahrez de Fès. Je vous remercie particulièrement pour vos compétences scientifiques, orientations, confiance et patience qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

J'adresse ma reconnaissance aux Professeurs Chami Najat et Tantaoui-Elaraki Abdelghafour, pour m'avoir accompagné efficacement dans la réalisation de ce manuscrit. Pour leur disponibilité, leurs précieux conseils et leur patience.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements au Professeur Remmal Adnane de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Ma profonde reconnaissance et mes profonds respects.

Je voudrais remercier les rapporteurs de cette thèse les Professeurs Hajjaj Hassan, Belkadi Bouchra et Benyahya Mohammed, pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail.

J'adresse aussi mes remerciements aux Professeurs Oumokhtar Bouchra et El Abed Soumya, d'avoir bien voulu examiner ce manuscrit et juger ce travail. Merci pour votre disponibilité et pour le temps que vous avez accordé à la critique de ce travail.

Résumé

La première partie de ce travail consiste à étudier *in vitro* l'action d'un produit développé et breveté (NP Boisson®) sur la réduction de la charge des différents types de micro-organismes présents dans l'eau d'abreuvement. Les résultats obtenus ont montré une activité antibactérienne, antifongique et antiparasitaire d'autant plus importante que la concentration de ce produit est élevée. Le NP Boisson plus®, contenant une substance utilisée pour fixer les substances chimiques, permet aussi l'amélioration de la qualité physico-chimique de l'eau en terme de réduction de la dureté et du taux de nitrites et de quelques métaux lourds tels que le zinc et le chrome.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons évalué *in vivo*, l'effet du traitement de l'eau d'abreuvement stagnante et non stagnante par le NP Boisson® à deux concentrations différentes (1 g/l et 2 g/l). Les résultats obtenus montrent un effet positif du traitement qui se traduit par une réduction de la flore intestinale des poulets de chair ainsi qu'une amélioration de leurs performances zootechniques. L'effet est d'autant plus important que la concentration du NP Boisson® est élevée.

Dans la troisième partie, nous avons testé le pouvoir antibactérien, antifongique et antiparasitaire du NP Boisson®, sur des bactéries, des levures, des moisissures et des protozoaires qui forment des biofilms sur les parois des réservoirs et des canalisations d'eau utilisés en élevage avicole. Pour cela, deux expériences ont été effectuées, la première consiste en un test de prévention de la formation du biofilm sur les parois des canalisations, et la deuxième consiste en un traitement du biofilm déjà formée à la surface de ces parois. Les résultats montrent une réduction de la charge de micro-organismes dans les deux cas.

En conclusion, le NP Boisson® peut être utilisé en élevage avicole pour le traitement des eaux d'abreuvement, quelque soit leur origine ; souterraine (eaux des puits et des nappes) ou de surface (oued) et aussi pour empêcher l'adhésion des micro-organismes et la formation des biofilms sur les surfaces des dispositifs d'abreuvement. L'amélioration de la qualité de l'eau permettra par conséquent, la réduction de la charge microbienne intestinale des animaux et l'amélioration de leurs performances zootechniques.

Mots clés : Eau d'abreuvement, volaille, huile essentielle, composés majoritaires, antibactérienne, antifongique, antiparasitaire, biofilm.

Abstract

The first part of this work consists on studying *in vitro* the impact of a developed product (NP Boisson®) on the reduction of various types of microorganisms load in drinking water. The obtained results show an important antibacterial, antifungal and antiparasitic activity depending on the treatment concentration. The NP Boisson plus®, used to fix chemical substances, improve physico-chemical water quality by reducing hardness, nitrates, nitrites and some heavy metals (zinc and chromium).

In the second part, we evaluated *in vivo* the impact of drinking treated water (stagnant and not stagnant) with two different concentrations of the NP Boisson® (1g/l and 2g/l). The results showed a positive impact of water treatment through reducing intestinal flora of animals and also on improving zootechnical performances.

In the third part, we tested the antibacterial, antifungal and antiparasitic impact of the NP Boisson®, on biofilms that colonize tank walls and water pipelines in poultry farming. Two tests were conducted: the first one aimed to prevent formation of biofilm, and the second consisted on the treatment of biofilm, which are already adhered to the surface. The results showed a reduction in the microorganism load throughout both tests.

NP Boisson® can be used in poultry farming for drinking water treatment, and also to prevent microorganisms' adhesion and biofilm formation in water distribution systems. The improvement of water quality will allow then the reduction of animals' intestinal load and the optimization of their zootechnical performances.

Keywords: Drinking water, poultry, essential oil, majority compound, antibacterial, antifungal, antiparasitic, biofilm.

Liste des abréviations

- ASR : bactéries Anaérobies Sulfito-réductrices
- FMAT : Charge de la flore mésophile aérobie totale
- HE : huile essentielle
- IC : Indice de consommation
- NP Boisson[®] : Naturel promotor boisson
- PVC : Le polychlorure de vinyle

Liste des figures

- Figure 1 : Variation de la consommation d'eau en fonction de la température ambiante
- Figure 2 : Pipette
- Figure 3 : L'abreuvoir en cloche
- Figure 4 : Le système d'abreuvement à godet
- Figure 5 : Structure chimique du thymol
- Figure 6 : Etapes de colonisation des canalisations par le biofilm
- Figure 7 : Structure chimique du thymol
- Figure 8 : Carte de la situation géographique des points de prélèvement
- Figure 9 : Variation de la charge de la FMAT en fonction de la concentration du NP Boisson[®]
- Figure 10 : Variation de la charge de coliformes totaux en fonction de la concentration du NP Boisson[®]
- Figure 11 : Variation de la charge de coliformes fécaux en fonction de la concentration du NP Boisson[®]
- Figure 12 : Variation de la charge en *staphylocoques* en fonction de la concentration du NP Boisson[®]
- Figure 13 : Variation de la charge en salmonelles en fonction de la concentration du NP Boisson[®]
- Figure 14: Variation de la charge en bactéries sulfuto-réductrices (*C. perfringens*) en fonction de la concentration du NP Boisson[®]
- Figure 15 : Variation de la charge en protozoaires en fonction de la concentration du NP Boisson[®]
- Figure 16 : Variation de la charge fongique en fonction de la concentration du NP Boisson[®]
- Figure 17 : Variation du pH des différents échantillons en fonction de la concentration du NP Boisson plus[®]
- Figure 18 : Variation de la concentration des nitrates en fonction de la concentration du NP Boisson plus[®]
- Figure 19 : Variation de la concentration des nitrites en fonction de la concentration du NP Boisson plus[®]
- Figure 20 : Variation de la concentration du calcium en fonction de la concentration du NP Boisson plus[®]
- Figure 21 : Variation de la concentration du magnésium en fonction de la concentration du NP Boisson plus[®]
- Figure 22 : Variation de la concentration du zinc en fonction de la concentration du NP Boisson plus[®]
- Figure 23 : Variation de la concentration du fer en fonction de la concentration du NP Boisson plus[®]

- Figure 24 : Variation de la concentration du chrome en fonction de la concentration du NP Boisson plus[®]
- Figure 25 : Evolution de la charge intestinale en FMAT
- Figure 26 : Evaluation du poids vif des poussins
- Figure 27 : Evolution de la charge intestinale en FMAT
- Figure 28 : Evolution de la charge intestinale en *Clostridium perfringens*
- Figure 29 : Evolution de la charge intestinale parasitaire
- Figure 30 : Evolution du poids vif moyen des animaux
- Figure 31 : Evolution de la charge intestinale en FMAT
- Figure 32 : Evolution de la charge intestinale en *Clostridium perfringens*
- Figure 33 : Evolution de la charge intestinale parasitaire
- Figure 34 : Evolution du poids vif moyen
- Figure 35 : Schéma du protocole expérimental
- Figure 36 (a): Evolution de la charge d'*E. coli* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 1 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 36 (b): Evolution de la charge d'*E. coli* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 37 (a): Evolution de la charge d'*E. coli* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 1 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 37 (b) : Evolution de la charge d'*E. coli* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 38 (a) : Evolution de la charge de *C. perfringens* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 1 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 38 (b) : Evolution de la charge de *C. perfringens* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 39 (a) : Evolution de la charge de *C. perfringens* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 1 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 39 (b) : Evolution de la charge de *C. perfringens* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 40 (a) : Evolution de la charge de *C. albicans* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 1 g/l par rapport au témoin non traité

- Figure 40 (b): Evolution de la charge de *C. albicans* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 41 (a) : Evolution de la charge de *C. albicans* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1 g/l par rapport au témoin non traité)
- Figure 41 (b): Evolution de la charge de *C. albicans* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 42 (a) : Evolution de la charge d'*A. niger* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 42 (b): Evolution de la charge d'*A. niger* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 43 (a) : Evolution de la charge d'*A. niger* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 43 (b): Evolution de la charge d'*A. niger* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 44 (a): Evolution de la charge des protozoaires dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 44 (b) : Evolution de la charge des protozoaires dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 45 (a) : Evolution de la charge en protozoaires dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 45 (b) : Evolution de la charge en protozoaires dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2 g/l par rapport au témoin non traité
- Figure 46: Effet du traitement par le NP Boisson® et par DECAPACID sur la réduction de la charge bactérienne, fongique et en protozoaires par rapport au témoin non traité

Liste des tableaux

- Tableau 1 : Consommation d'eau journalière du poulet (litres/1000 oiseaux)
- Tableau 2: Consommations moyennes d'abreuvement estimées par espèce
- Tableau 3 : Différentes sources de pollution des eaux de surface
- Tableau 4. Teneurs préconisées des principaux paramètres physico-chimiques
- Tableau 5 : Caractéristiques des différents traitements utilisés
- Tableau 6. Les principaux germes pathogènes responsables de troubles digestifs chez la volaille
- Tableau 7. Normes bactériologiques humaines et valeurs préconisées en élevage avicole de l'eau
- Tableau 8. Propriétés des substances utilisées comme désinfectants de l'eau de boisson
- Tableau 9: Evolution du poids vif moyen et du gain de poids moyen
- Tableau 10: Evolution de la consommation alimentaire et l'indice de consommation (IC)
- Tableau 11. Analyse microbiologique de l'eau utilisée en abreuvement
- Tableau 12: Effet du produit utilisé pour le traitement de l'eau sur le poids vif moyen et le gain de poids moyen des poulets
- Tableau 13 : Effet du traitement utilisé sur la consommation alimentaire et l'IC
- Tableau 14: Analyse microbiologique de l'eau utilisée en abreuvement
- Tableau 15 : Effet de NP Boisson® sur le poids vif moyen et le gain de poids moyen
- Tableau 16: Effet de NP Boisson® sur la consommation alimentaire, l'indice de consommation et le taux de mortalité
- Tableau 17 : Identification de *Candida albicans*
- Tableau 18: Identification d'*Aspergillus niger*

SOMMAIRE

Introduction générale	1
Introduction bibliographique.....	3
1. Aperçu sur les conditions d'élevage de la volaille.....	4
1.1 La température ambiante.....	4
1.2 L'installation lumineuse.....	5
1.3 La ventilation	5
1.4 La litière	6
1.5 La densité d'élevage.....	6
1.6 L'alimentation	7
1.7 Les différents systèmes d'abreuvement de la volaille.....	7
1.8 Le nettoyage et la désinfection du bâtiment d'élevage	8
2. Situation générale relative à la qualité de l'eau d'abreuvement	9
2.1 L'utilisation de l'eau dans la filière avicole.....	9
2.2 Facteurs influençant la consommation de l'eau chez les volailles.....	10
2.2.1 L'âge.....	10
2.2.2 L'alimentation: composition et consommation.....	11
2.2.3 Sexe et Stade physiologique.....	11
2.2.4 La race.....	12
2.2.5 La température ambiante.....	12
2.2.6 La température de l'eau.....	13
2.2.7 La ponte.....	13
2.2.8 Système d'abreuvement	13
2.3 L'origine de l'eau utilisée en élevage avicole.....	15
2.3.1 Eaux souterraines	16
2.3.2 Eaux de surface	16
2.4 Qualité de l'eau de boisson en élevage avicole.....	18
2.4.1 Échantillonnage et analyse organoleptique de l'eau.....	18

2.4.2 Paramètres physico-chimiques de l'eau	19
2.4.3 Normes et valeurs des paramètres physico-chimiques de l'eau préconisées en élevage de volaille	22
2.4.4 Traitements physico-chimiques de l'eau.....	22
2.4.5 Paramètres microbiologiques de l'eau	24
2.4.6 Normes de la qualité bactériologique de l'eau requise en élevage avicole.....	27
2.4.7 Les désinfectants de l'eau de boisson	28
2.5 Traitements thérapeutiques et prophylactiques via l'eau de boisson ...	30
2.5.1 Les antibiotiques et les vitamines	30
2.5.2 Les vaccins	30
2.5.3 Les acides organiques	30
2.5.4 Les traitements alternatifs	31
3. Problématique de la formation des biofilms sur les parois des installations d'abreuvement en élevage avicole	32
3.1 Généralités sur les biofilms.....	32
3.1.1 Etapes de la formation d'un biofilm	32
3.1.2 Facteurs favorisant la formation des biofilms.....	33
3.1.3 Effets de la formation des biofilms en aviculture	35
3.2 Les traitements des biofilms	35
3.2.1 Traitement par les désinfectants et décapants	35
3.2.2 Traitement enzymatiques	36
3.3 Résistance des biofilms aux biocides.....	36
4. L'utilisation des huiles essentielles en élevage avicole	37
4.1 Généralités sur les huiles essentielles	37
4.1.1 Rôle de certains composés d'HE	38
4.1.2 Rôle de certaines molécules odorantes des huiles essentielles	38
4.1.3 Propriétés biologiques des huiles essentielles.....	38
4.2 Utilisation des huiles essentielles dans l'alimentation animale	39
4.2.1 Effets sur le microbiote digestif	39
4.2.2 Effet sur les performances de croissance	40
4.2.3 Effet sur la qualité de la viande.....	40
4.2.4 Effet sur la production et la qualité des œufs.....	41
4.2.5 Effet sur l'immunité	41
4.3 Utilisation des huiles essentielles et des composés majoritaires pour le détachement des biofilms.....	41

Partie 1 :	43
Evaluation <i>in vitro</i> de l'action du NP Boisson® et NP Boisson plus® sur l'amélioration de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau....	43
Introduction	44
Matériel et méthodes	46
1. Préparation des compositions.....	46
2. Echantillonnage.....	46
3. Analyses microbiologiques	48
3.1 La flore totale (FMAT)	48
3.2 Les coliformes totaux et fécaux	48
3.3 Les staphylocoques	48
3.4 Les salmonelles	48
3.5 Les Bactéries sulfito-réductrices (<i>Clostridium perfringens</i>).....	49
3.6. Analyses parasitaires	49
3.7. La charge fongique.....	49
4. Etude statistique	49
5. Analyses physico-chimiques des échantillons d'eau	49
5.1 Le pH.....	50
5.2 Dosage des nitrates et nitrites.....	50
5.3 Dureté de l'eau	50
5.4 Dosage des métaux lourds.....	50
Résultats	51
1. Analyses microbiologiques	51
1.1 La flore totale	51
1.2 Les coliformes totaux	52
1.3 Les coliformes fécaux	53
1.4 Les staphylocoques	54
1.5 Les salmonelles	54
1.6 Les Bactéries sulfito-réductrices (<i>Clostridium perfringens</i>):.....	55
1.7 La charge en protozoaires	56
1.8 La charge fongique.....	57
2. Analyses physico-chimiques	58
2.1 pH.....	58
2.2 Les nitrite et les nitrates	59
2.3 Dureté totale de l'eau	61

2.4 Les métaux lourds :	62
Discussion	66
Partie 2 :	70
Evaluation <i>in vivo</i> de l'effet de NP Boisson® sur l'amélioration des performances zootechniques et le contrôle de la flore intestinale du poulet de chair.....	70
Introduction	71
Matériel et méthodes	72
1. Animaux et conditions d'élevage.....	72
1.1 Animaux d'expérience	72
1.2 Conditions d'élevage.....	72
2. Analyses microbiologiques de l'eau d'abreuvement	72
3. L'évaluation de la charge intestinale en microorganismes	73
3.1 La charge bactérienne	73
3.2 La charge parasitaire	73
4. Détermination des paramètres zootechniques	74
4.1 Le poids vif moyen.....	74
4.2 Le gain du poids vif.....	74
4.3 La consommation alimentaire	74
4.4 L'indice de consommation	75
4.5 Le taux de mortalité :	75
5. Etude statistique	75
6. Protocole expérimental.....	75
6.1 Première expérience	75
6.2 Deuxième expérience	76
6.3 Troisième expérience	76
Résultats	77
1. Première expérience.....	77
1.1 Analyse microbiologique de l'eau utilisée en abreuvement	77
1.2 L'évaluation de la charge intestinale en microorganismes	77
1.3 L'évolution des paramètres zootechniques	78
2. Deuxième expérience.....	80
2.1 Analyse microbiologique de l'eau utilisée en abreuvement	80

2.2 Evaluation de la charge intestinale en microorganismes	81
2.3 Evolution des paramètres zootechniques	83
3. Troisième expérience	87
3.1 Analyse microbiologique de l'eau stagnante utilisée en abreuvement	87
3.2 L'évaluation de la charge intestinale en microorganismes	87
3.3 Evolution des paramètres zootechniques	90
Discussion	95
Partie 3:	99
Evaluation <i>in vitro</i> de l'action de NP Boisson® sur des biofilms formés sur les parois des tuyaux.....	99
Introduction	100
Matériel et méthodes	101
1. Protocole expérimental	101
1.1 Micro-organismes	101
1.2 Préparation des biofilms.....	104
1.3 Traitement des biofilms	104
1.4 Détection des biofilms résiduels	106
1.5 Analyses microbiologiques	107
1.6 Etude comparative entre l'effet de NP Boisson® et un produit industriel couramment utilisé.....	108
1.7 Etude statistique	108
Résultats	109
1. Action du NP Boisson® sur la charge bactérienne	109
1.1 La charge d' <i>Escherichia coli</i>	109
1.2 La charge de <i>Clostridium perfringens</i>	110
2. Action du NP Boisson® sur la charge fongique	112
2.1 La charge de <i>Candida albicans</i>	112
2.2 La charge d' <i>Aspergillus niger</i>	114
3. Action du NP Boisson® sur la charge en protozoaires.....	115
3.1 Test préventif de la formation du biofilm des protozoaires	115
3.2 Traitement du biofilm formé par des protozoaires.....	116
4. Etude comparative entre l'effet de NP Boisson® et un produit industriel couramment utilisé (DECAPACID 0,5%).....	117

Discussion	119
Conclusion générale et perspectives	121
Références bibliographiques	124
Annexes.....	145
Annexe 1 : Les milieux de culture	146
Annexe 2: NP Boisson®	Erreur ! Signet non défini.

Introduction générale

Ces dernières années, de plus en plus de pays adoptent des réglementations interdisant les antibiotiques dans l'alimentation animale (Castanon, 2007) utilisés comme facteurs de croissance de même que les anticoccidiens. Ces interdictions ont conduit à une diminution des performances zootechniques des animaux et à l'émergence de troubles digestifs comme les entérites non spécifiques, qui constituent aujourd'hui un réel problème économique pour l'élevage de volailles (Diarra; 2014).

De plus, la mauvaise qualité de l'eau s'est avérée comme étant une des causes de l'apparition des troubles digestifs chez les animaux d'élevage. Des épisodes de diarrhées en particulier correspondent à une détérioration de la qualité bactériologiques de l'eau (présences de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et d'entérocoques) et physico-chimique (pH très élevé ou très bas, substances chimiques toxiques) (Travel, 2007). Il devient donc nécessaire de bien gérer la qualité de l'eau de boisson, qui dépend généralement de plusieurs facteurs comme la qualité de l'eau elle-même à la source, l'adaptation et l'efficacité des traitements réalisés, le fonctionnement des systèmes d'abreuvement et l'état sanitaire de ces derniers (Travel, 2007).

Par ailleurs, certaines substances actives présentes dans les biocides (désinfectants, antiparasitaires) utilisés pour la destruction et l'élimination des organismes nuisibles, présentent un risque élevé pour l'homme et les écosystèmes (European Commission; 2009).

Le présent travail s'inscrit dans la suite des travaux effectués, au sein de notre laboratoire, qui s'intéressent à l'activité antimicrobienne des HE et de leurs composés majoritaires, qui sont des substances actives qui ne présentent pas de risques pour l'homme et l'environnement et qui peuvent donc être utilisées comme alternatives aux antibiotiques, antiparasitaires et antifongiques (Rhayour et coll., 2003; Chami F. et coll., 2004; 2005; Chami N. 2004; 2005; Bennis et coll., 2004a, 2004b; Remmal et coll., 2011).

Dans la première partie de ce travail, nous avons évalué *in vitro* l'activité antibactérienne, antiparasitaire et antifongique d'un produit développé par notre laboratoire (NP Boisson[®]), sur des échantillons d'eau utilisée en abreuvement dans des élevages avicoles. Nous avons testé aussi l'action de NP Boisson plus[®], une version du

produit NP Boisson[®], utilisé pour l'amélioration de la qualité physico-chimique des eaux qui sont chargées en substances chimiques.

La deuxième partie a été consacrée à l'évaluation *in vivo* de l'action de ce produit sur la réduction de la charge intestinale des animaux (charge FMAT, charge des bactéries anaérobies sulfito-réductrices et la charge en protozoaires) et l'effet de cette réduction sur l'amélioration des paramètres zootechniques observés (le poids, le gain du poids, la consommation alimentaire et l'IC).

Dans la troisième partie, nous avons évalué l'effet du NP Boisson[®] sur les micro-organismes pathogènes (bactéries aérobies et anaérobies, levures et moisissures et protozoaires) qui forment des biofilms sur les parois des installations d'abreuvement en élevage avicole. Une étude comparative avec un produit désinfectant et décapant utilisé couramment en élevage, a été effectuée.

Introduction bibliographique

1. Aperçu sur les conditions d'élevage de la volaille

La réussite de la production avicole dépend de la capacité de l'éleveur de maintenir le confort physiologique des volailles par la maîtrise des conditions d'élevage: la température ambiante adéquate, la ventilation, l'éclairage, la répartition des points d'eau et d'aliment, l'hygiène et la sécurité. Le respect des normes d'élevage, des conditions de préparation du bâtiment et du matériel et la recherche des causes d'anomalies permettent d'assurer une meilleure croissance des animaux depuis le démarrage jusqu'à l'âge de l'abattage.

1.1 La température ambiante

La température d'ambiance de référence dans les élevages avicoles est aux environs de 28°C. Les bâtiments sont généralement chauffés avant l'arrivée des poussins. Le temps de préchauffage dépend de la température extérieure. Il est de 36 à 48h en hiver et de 24h en été. La répartition des poussins donne généralement une indication sur l'adéquation de la température aux besoins des animaux. Ces derniers doivent se répartir d'une façon homogène dans la zone chauffée et ne pas s'entasser les uns sur les autres ou se disperser loin de la source de chaleur. La volaille se caractérise par sa capacité de maintenir une température corporelle constante (41°C pour les adultes et 38°C pour les poussins). Toutefois, tout inconfort thermique peut entraîner des conséquences sur l'équilibre physiologique de l'animal, sa santé et ses performances zootechniques. (Tesseraud et Temim., 1999 ; Kadzere et coll, 2002).

Les températures basses pendant les trois premières semaines entraînent une augmentation de la consommation alimentaire (Van Eekeren et coll, 2006). Ainsi, l'énergie supplémentaire consommée ne sert plus à la croissance des animaux mais au maintien d'une température adéquate du corps ce qui provoque par la suite une augmentation de l'indice de consommation (Anon, 2012). La surveillance du comportement des animaux et la vérification du bon fonctionnement et positionnement des dispositifs de chauffage permet de maintenir un bon niveau de confort de la volaille.

Cependant, des mortalités sont dues à une augmentation de la température ambiante après que l'emplumement est complet (généralement après la 5^{ème} semaine), ce qui entraîne une modification de la thermorégulation dépassant ainsi les capacités d'adaptation de l'animal et ne permet plus la prévention de l'élévation de la température

corporelle. Cette hyperthermie est influencée aussi par l'humidité relative de l'air et le comportement nutritionnel de l'animal (Ait Boulahsen, 1995).

Quelques mesures doivent être prises afin de prévenir le stress thermique dans le cas des températures élevées comme l'addition de la vitamine C dans l'eau de boisson, qui a fait l'objet de plusieurs publications (Moreng, 1980, Pardue, 1986), indiquant que cette dernière améliore les performances de production pendant l'exposition à la chaleur. Aussi l'apport de quelques minéraux tels que le potassium, sous forme de chlorure de potassium (KCl), permet d'améliorer la résistance des poulets au stress thermique aiguë d'après une étude menée par Ait Boulahsen et coll, (1995). D'autres mesures peuvent être prises tels que l'augmentation du nombre d'abreuvoirs, le renouvellement et la distribution d'une eau fraîche, l'installation des ventilateurs ou des brumisateurs et l'isolation des parois du bâtiment.

1.2 L'installation lumineuse

Chez la volaille, la lumière joue le rôle de stimulateur physiologique de nutrition, d'abreuvement, de chauffage, de la bonne répartition et de l'interaction des animaux (Jacquet, 2007). Une bonne installation lumineuse est nécessaire quel que soit le type de bâtiment, clair ou obscur. Généralement, le programme lumineux dépend de la phase d'élevage. Durant les premiers jours de l'arrivée des poussins, l'intensité lumineuse est maintenue 24/24, afin de permettre aux animaux d'occuper aisément l'aire de vie et de repérer l'emplacement des abreuvoirs et mangeoires. Cette intensité est diminuée progressivement par la suite. Cependant, les études qui se sont intéressées aux effets des programmes lumineux en termes de productivité et des performances de croissance ont montré que les programmes dit fractionnés (2 heures de lumière et 2 heures d'obscurité) sont les plus performants sur le plan de la productivité (Martrenchar et Morisse, 1997). A l'opposé, selon Valancony et ses collaborateurs (1999), les meilleures performances de croissance des poulets ont été obtenues pour un éclairage constant 24h/24.

1.3 La ventilation

La ventilation est l'un des facteurs assurant la réussite d'un élevage. Le renouvellement d'air dans le bâtiment permet de fournir l'air neuf et frais nécessaire pour l'oxygénation des animaux et d'assurer l'élimination des gaz nocifs produits par la respiration

(Robertson et coll., 1990), des poussières et des microbes en suspension dans l'air, provenant des fèces et de la litière (Donham, 1986; Taylor and Reynolds, 2001; Douwes et coll. 2003). Néanmoins, le rôle le plus important de la ventilation est la lutte contre la chaleur excédentaire, l'humidité et la régulation des apports et des pertes de chaleur dans les bâtiments.

Le débit de renouvellement d'air doit être précis. Des courants d'air trop élevés pendant les premières semaines peuvent causer des retards de croissance chez les poussins (Jacquet, 2007). Une ventilation mal adaptée, en particulier en fin de période d'engraissement, provoquera une montée de la température des poulets de chair. (Anon, 2012).

1.4 La litière

La litière permet une isolation des animaux du contact avec le sol. Elle assure également l'absorption de l'humidité produite par les fèces qui sera ensuite évacuée par la ventilation. Elle est formée par de la paille hachée ou les copeaux de bois dépoussiérés et non traités qui sont généralement préférés pour leurs importante capacité d'absorption de l'eau. Une litière en mauvais état affecte la santé et les performances des animaux (Jacquet, 2007). Elle doit être sèche, saine, peu fermentescible, souple, absorbante, isolante, épaisse et surtout avec peu de dégagement d'ammoniac, pour protéger la volaille contre plusieurs maladies infectieuses.

L'humidité de la litière est influencée par plusieurs facteurs dont la nature de la litière (matériel et épaisseur), les fuites d'eau des abreuvoirs, la mauvaise ventilation, la densité d'élevage (nombre et taille des animaux), l'alimentation et la santé des volailles. Une alimentation riche en matière grasse accroît la teneur en graisse des fèces et par conséquent une détérioration de la litière causée par une diminution de la friabilité (Jacquet, 2007).

1.5 La densité d'élevage

Une densité d'élevage trop élevée entraîne une baisse des performances marquée par la réduction de croissance et d'homogénéité, l'augmentation de l'indice de consommation (IC) et la mortalité (Hansen, 1960; Bolton, 1972; Vo et Fanguy, 1982). Une densité élevée entraîne aussi la détérioration de la qualité de la litière. L'eau, la matière grasse

et l'azote sont moins absorbés surtout avec l'âge et le poids des animaux qui augmentent (Jacquet, 2007).

1.6 L'alimentation

Les points d'alimentation doivent être en nombre suffisant et adaptés à la taille et au niveau de croissance de la volaille (Jacquet, 2007). L'aliment distribué doit être frais et en petite quantité et rajouté en cas de nécessité pour éviter le tri et le gaspillage et surtout l'accumulation de la litière et des fientes dans les mangeoires (Jacquet, 2007; Anon, 2012). La forme et la composition de l'aliment varient selon l'âge de l'animal (Anon, 2012). Le passage de l'aliment « démarrage » à l'aliment « croissance » doit être effectué de façon progressive. Il est sous forme de farine ou miettes pendant la phase de démarrage et sous la forme granulées pendant les deux phases de croissance et de finition. Les besoins en éléments nutritionnels (protéines, minéraux, vitamines, énergie) chez la volaille évoluent avec l'âge (Anon, 2012). L'apport d'énergie se fait par les céréales et l'apport de protéines principalement par le tourteau de soja (mais aussi par les légumineuses comme le pois ou la féverole). Les besoins en minéraux (sodium, phosphore et calcium) sont importants, mais leur présence en excès dans l'aliment entraîne une surconsommation d'eau (Anon, 2008). Les besoins en vitamines sont aussi importants, surtout pour les jeunes poussins, qui dépendent essentiellement des apports d'aliment.

1.7 Les différents systèmes d'abreuvement de la volaille

Dans les conditions d'élevage normales (température ambiante normale, absence de pathologie et utilisation d'aliment de bonne qualité), la consommation d'eau est le double de la consommation alimentaire (Olkowski, 2009). Une réduction de la consommation d'eau induira une diminution de la consommation d'aliment et par conséquent une augmentation de l'indice de consommation (Anon, 2012). Le nombre d'abreuvoirs et leur répartition doivent être adaptés en fonction de la croissance des animaux (Jacquet, 2007). Une eau fraîche doit être disponible en continu. La qualité de l'eau est primordiale surtout pendant la phase de démarrage (Jacquet, 2007). Le dispositif d'abreuvement se compose d'une cuve à basse pression alimentant des canalisations en PVC qui conduisent à des abreuvoirs. Il existe plusieurs modèles

d'abreuvoirs: abreuvoir circulaire (plasson), cup ou mini drink et tétine avec ou sans coupelle de récupération. Les abreuvoirs tétines sont les plus utilisés en élevage avicole.

1.8 Le nettoyage et la désinfection du bâtiment d'élevage

En général, le nettoyage et la désinfection du bâtiment d'élevage sont effectués le plus tôt possible après le départ d'une bande et avant la mise en place de la bande suivante (Jacquet, 2007). L'aliment restant doit être retiré et la litière doit être enlevée. Un bon nettoyage élimine 80 % des microbes. Le bâtiment et les équipements doivent être lavés et désinfectés, sans négliger aucun élément notamment le système d'aération, les murs et les dispositifs d'abreuvement pour éliminer les dépôts organiques et minéraux et les biofilms formés sur les parois intérieures des conduits, des réservoirs et des abreuvoirs (Jacquet, 2007). La désinfection est effectuée généralement par thermo-nébulisation ou par fumigation au formaldéhyde (Jacquet, 2007).

2. Situation générale relative à la qualité de l'eau d'abreuvement

La qualité de l'eau d'abreuvement en élevage avicole constitue un risque pour la santé de la volaille. Elle est évaluée par la présence ou non des microorganismes pathogènes et des substances chimiques indésirables.

2.1 L'utilisation de l'eau dans la filière avicole

Dans la filière avicole, les utilisations de l'eau sont diverses:

- En alimentation: généralement, la volaille consomme une quantité d'eau deux fois supérieure à celle de la nourriture (Olkowski, 2009). L'eau permet aussi de ramollir les aliments, favorise le transport et l'absorption des nutriments (glucose, minéraux, acides aminés, vitamines...) (Dennery et coll, 2012). L'eau assure aussi le transport de l'oxygène nécessaire aux réactions d'oxydation cellulaire et du gaz carbonique produit par ces réactions. Elle permet l'élimination des déchets vers les organes spécialisés tels que le foie et les reins.
- En tant que thermorégulateur: la consommation de l'eau assure le rejet de la chaleur et le refroidissement du corps des animaux par évaporation par les poumons et les sacs aériens. La consommation en eau croît lorsque la température augmente. (Dennery et coll, 2012)
- En tant que vecteur thérapeutique et prophylactique: l'eau est utilisée pour l'administration des vitamines; c'est aussi un support vaccinal, un moyen de traitement (Vermeulen et coll, 2002; Bengoumi, 2004, Travel, 2007)
- Dans le lavage des bâtiments et du matériel d'élevage.
- Dans les systèmes de refroidissement: qui assurent la maîtrise de la température des animaux: pad-cooling et la pulvérisation à basse ou à haute pression (Dennery et coll, 2012).

Ainsi, la disponibilité d'une eau propre et en volume suffisant est nécessaire pour assurer le confort et la viabilité et pour éviter la déshydratation des animaux due aux pertes en eau via la respiration, la transpiration, les urines et les fèces (Anon, 2008). Le taux de ces pertes augmentera impérativement en fonction de la température ambiante et de l'humidité (Anon, 2008).

2.2 Facteurs influençant la consommation de l'eau chez les volailles

Chez la volaille, l'eau représente 70% du poids corporel. L'eau contenue dans l'aliment présente de son côté une source d'eau (10%). L'organisme des volailles est alimenté aussi en eau au cours des réactions chimiques d'oxydation interne (15%). La consommation de l'eau varie selon plusieurs facteurs dont : la race, le sexe, l'âge, la consommation d'aliments, le poids corporel, la composition des aliments, les systèmes d'abreuvement et le goût de l'eau. A ceci, s'ajoute la température ambiante et la température de l'eau de boisson, l'état sanitaire des animaux, leur stade physiologique (puberté, moment de l'ovulation et de la ponte).

2.2.1 L'âge

Selon Sanders (1996) (tableau 1), l'ingestion d'eau augmente avec l'âge de l'animal et avec la température ambiante du poulailler. Cette notion est confirmée plus tard par un autre auteur (Anon, 2007). Une étude menée par Stahl et Sunde (1983), a indiqué que la consommation d'eau double au cours de la première semaine de la vie du poussin. Elle est d'autant plus importante que les oiseaux sont médicalisés.

**Tableau 1: Consommation d'eau journalière du poulet (litres/1000 oiseaux)
(Sanders, 1996)**

Age (semaines)	20°C	30°C
1	24	40
3	100	190
6	240	500
9	300	600

2.2.2 L'alimentation: composition et consommation

Les consommations d'eau et d'aliment sont étroitement liées; c'est pourquoi tous les effets sur la consommation d'aliment (âge et poids corporel par exemple) sont liés indirectement à celle de l'eau. La prise d'eau chez la volaille peut être modifiée en fonction de la composition de l'aliment (la teneur en matière sèche de l'aliment, sa richesse en protéines brutes, sa teneur en énergie, la part prise par des composants tels que la mélasse ou le sel). Un régime à base du remoulage de blé favorise une consommation d'eau de 50% plus qu'une alimentation par le soja ou le maïs (Patterson et coll., 1989). Larbier et Leclercq (1992) ont montré que les aliments riches en protéines et en électrolytes (potassium, sodium...) entraînent une surconsommation d'eau. La présence des sels de Na, K, Cl favorise l'augmentation de la consommation d'eau et par conséquent la formation des fientes liquides. Un équilibre entre la teneur de Na dans l'eau de boisson et l'aliment doit être maintenu pour réduire cette consommation (Anon, 2008). Le taux de sodium recommandé est de 0,16 à 0,23% (Anon, 2007). Il en est de même pour les chlorures. Pour le potassium, la concentration recommandée est plus faible : 0,4 à 0,9% (Anon, 2007) et peut être augmentée à 1,5 et 2% (Anon, 2007) lorsque la température augmente afin de palier à l'importante consommation d'eau et l'élimination accrue dans les urines (Anon, 2008).

Le rapport eau/aliment dépend essentiellement de la température; la prise d'eau croît avec l'augmentation de la température et entraîne une diminution de la consommation d'aliment. (Dennery et coll, 2012).

2.2.3 Sexe et Stade physiologique

La consommation de l'eau chez la volaille varie en fonction du sexe de la volaille. Elle est plus importante chez les mâles (Dennery et coll, 2013), ce qui entraîne un ratio eau/aliment plus élevé par rapport aux femelles. Par ailleurs, il a été rapporté par plusieurs chercheurs que la prise d'eau de la poule pondeuse est influencée par les stades physiologiques de la formation d'un œuf (Nys et coll., 1976). Ces chercheurs ont évalué la consommation d'eau des poules individuelles tout au long de la journée. Une hausse de l'apport d'eau a été enregistrée immédiatement après la pose d'un œuf. Il reste relativement élevé pendant 12 heures, avec un autre pic à 8 heures, ensuite la consommation d'eau baisse, puis atteint un autre pic autour de 20 heures.

2.2.4 La race

Une étude menée par Dennery et coll. (2013) a montré que la consommation d'eau variait en fonction de la race et de l'espèce (tableau 2). Elle varie selon le type de production et la souche utilisée.

Tableau 2: Consommations moyennes d'abreuvement estimées par espèce de volaille (Dennery et coll., 2013)

Espèces	Quantité d'eau moyenne pour l'abreuvement	Unité
Poulet Export	120 ± 20%	m ³ /bande (base 28 000 animaux)
Poulet Standard	140 ± 20%	m ³ /bande (base 22 000 animaux)
Poules reproductrices	190-230	ml/poule/jour
Poules pondeuses	190 ± 1%	ml/poule/jour
Dinde	330-460	m ³ /bande (base 8 000 animaux)
Pintade	140-180	m ³ / bande (base 7 000 animaux)
Canards chair	25-40	L/canard
Canards PAG	30-45	L/canard
Canards gavage	25-40	L canard
Oies gavage	50-110	L/oie

2.2.5 La température ambiante

Le taux de consommation de l'eau d'abreuvement varie en fonction de la température ambiante (figure 1).

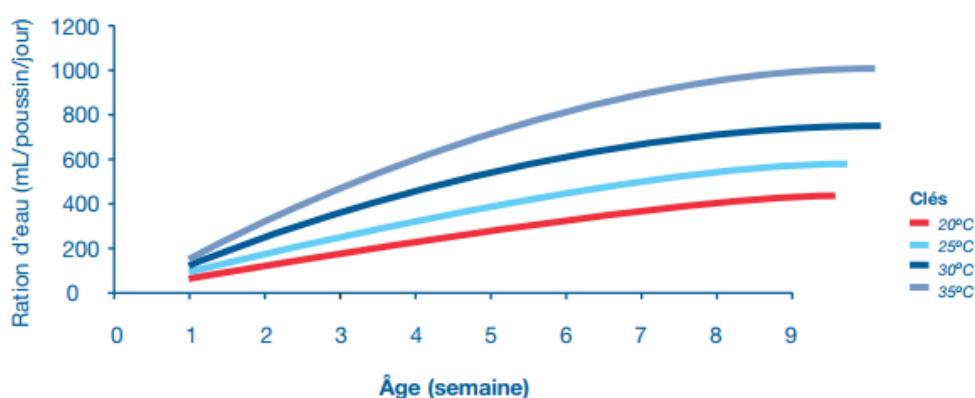


Figure 1: Variation de la consommation d'eau d'abreuvement en fonction de la température ambiante (Singleton, 2004)

Les animaux consomment beaucoup plus d'eau lorsque la température augmente. C'est un moyen pour eux de réguler la température corporelle et de rejeter de la chaleur en

évaporant l'eau à travers le système respiratoire en haletant (Dennerly et coll., 2012). La consommation d'eau peut alors doubler voire tripler durant un coup de chaleur. Une étude effectuée par National Research Council (NRC, 1994) sur des poulets de chair, indique que le ratio eau/aliment est de l'ordre de 1,8 à la température de 21°C. Une augmentation de la consommation de l'eau de 6 à 7% est observée pour chaque degré supérieur à 21°C. Une température de 24°C induit une consommation d'eau équivalente à 4% du poids vif des poulets et en condition de stress thermique, la consommation augmente pour atteindre 6% du poids vif. Quelques mesures sont prises en périodes de stress thermique tels que l'ajout de chlorure de sodium, de chlorure de potassium, de sulfate de potassium ou de dioxyde de carbone à l'eau d'abreuvement (Beker and Teeter, 1994), ce qui permet de réduire la température corporelle.

2.2.6 La température de l'eau

La température de l'eau d'abreuvement est prise en compte au moment de la vaccination (Température < 20°C). La température de l'eau est l'un des facteurs favorisant l'augmentation de sa consommation chez la volaille, qui préfère une eau de l'ordre de 10°C (Beker et Teeter, 1994). Une température de l'eau de 26,7°C entraîne une diminution importante de la consommation de l'aliment et du gain du poids quotidien.

2.2.7 La ponte

Chez les poules pondeuses, pendant la période de production, la consommation d'eau varie au cours de la journée en fonction du moment de l'ovulation et de la ponte. Des essais réalisés par Mongin et Sauveur (1974) ont montré que les besoins en eau augmentaient considérablement juste après la ponte. Ce phénomène est dû probablement aux mécanismes hormonaux. D'après Larbier et Leclercq (1992), une poule en pleine ponte réduit de 20% de sa consommation de l'eau.

2.2.8 Système d'abreuvement

La consommation de l'eau dépend aussi du système de distribution d'eau. Il est nécessaire que la volaille ait suffisamment de place à l'abreuvoir et que la hauteur soit adaptée quotidiennement à sa taille (Jacquet, 2007). Plusieurs facteurs assurent la maîtrise de la consommation tels que la pression de l'eau, le débit des pipettes, l'entretien des systèmes d'abreuvement, la bonne accessibilité des abreuvoirs... (Anon,

2008). Il existe plusieurs types d'abreuvoirs, chaque type a une influence sur la qualité bactériologique de l'eau de boisson. Les abreuvoirs sont de trois types:

2.2.8.1 Les pipettes

La pipette est une tige qui assure le passage d'eau constant. Les systèmes d'abreuvement en pipettes (figure 2) permettent de diminuer les risques de contamination et limitent la propagation des maladies mais nécessitent un entretien régulier pour éviter la stagnation de l'eau et le développement des biofilm (Travel, 2007). La pression de l'eau est faible. La consommation dépend de la constance du débit d'eau alimentant les pipettes, sur toute la ligne d'abreuvement. Ce dernier doit être réglé afin de répondre aux besoins des animaux qui varient en fonction de l'âge. Un débit d'eau faible chez les souches dont le poids dépasse 2Kg entraîne une diminution de la consommation de l'aliment. (Anon, 2008).



Figure 2: Pipette

2.2.8.2 Abreuvoirs de type rond à cloche (Plasson)

Ce type d'abreuvoir (figure 3) propose un volume d'eau stagnante importante selon le réglage. La stagnation de l'eau favorise la propagation des micro-organismes qui peuvent être issus de l'animal lui-même via son bec. Ce type d'abreuvoir ne facilite donc pas le maintien d'une bonne qualité d'eau.



Figure 3: L'abreuvoir en cloche

2.2.8.3 Godets ou coupelles :

Ces abreuvoirs (figure 4) sont répartis en lignes ou par blocs de 4 à 5 coupelles. La volaille boit dans la coupelle, le bec vers le bas. Ces abreuvoirs se caractérisent par une forte pression de l'eau. La stagnation de l'eau et la présence de collerette augmentent le risque de contamination de l'eau (Travel, 2007).



Figure 4: Le système d'abreuvement à godet

2.3 L'origine de l'eau utilisée en élevage avicole

Au Maroc, les eaux utilisées en abreuvement sont soit des eaux souterraines en provenance des puits ou des forages soit des eaux de surface comme les eaux des étangs ou des oueds. Chaque source d'eau représente des caractéristiques microbiologiques et

physico-chimiques bien définies, qui dépendent de son origine et du type de pollution à laquelle elle est exposée.

2.3.1 Eaux souterraines

- ✓ Puits: de profondeur inférieure à 12m, les eaux des puits sont généralement de meilleure qualité que les eaux de surface (Guergazi, 2005) grâce à la capacité filtrante du sol mais elles peuvent être vulnérables à la contamination par des substances toxiques ou des micro-organismes pathogènes. Les sources de contaminations sont multiples: la présence d'une source de pollution fécale au voisinage (comme par exemple un épandage suivi d'épisodes pluvieux), le mauvais aménagement du puits (matériaux défectueux, ruissellement provenant de la surface....) ou l'existence de sols perméables dont la nappe phréatique est peu profonde, situés dans les exploitations d'élevage intensif ou dans les terrains d'infiltration des fosses septiques (Bape, 2000 ; Dégbey, 2008).

- ✓ Forages: du fait de la profondeur des forages (dizaines à centaines de mètres), les eaux sont généralement exemptes des micro-organismes (manque de nutriments et d'oxygène, épuration par les micro-organismes présents dans la nappe). Cependant, il existe toujours des risques de contaminations soit en traversant une autre nappe polluée et peu profonde ou par ruissellement d'eau de surface. Ainsi la qualité physico-chimique de l'eau dépend essentiellement de la nature géologique des sols traversés par l'eau (Belghiti, 2013).

2.3.2 Eaux de surface

Les plans d'eau de surface tels que les marécages, les étangs, les étangs-réservoirs, les barrages et les lacs sont vulnérables aux différentes sortes de pollution. Ces différents types de pollution sont détaillés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Différentes sources de pollution des eaux de surface

Types de pollution		Sources	Références
<i>Pollution industrielle</i>	Industrie pétrochimique	Les hydrocarbures et les métaux lourds (Pb, Hg, Cd, etc.)	
	Industrie agro-alimentaire	Pollution organique (demande chimique en oxygène (DCO), demande biologique en oxygène (DBO)), polyphénols peu dégradables	(Foutlane, 2002)
	Tanneries	Cr, acides, protéines, graisses et produits chimiques toxiques utilisés pour le tannage des peaux	(Dominik et coll., 2007)
	Dinanderies	Cr, Cu, Ni, Pb, solutions acides, cyanures	(Khyati et Messafi, 2004)
	Textile	Métaux, tensioactifs, colorants, divers polluants organiques	(Giorgetti et coll., 2011)
	Papeteries	Matière en suspension (MES), DCO et DBO, métaux lourds	(Ali et Sreekrishnan, 2001 ; Pokhrel et Viraraghavan, 2004)
	Centrales thermiques	T = 70 à 80 °C: développement des organismes causant un déséquilibre écologique suite à la température élevée.	(Mizi, 2006)
<i>Pollution agricole</i>		Eutrophisation : apport excessif d'azote et de phosphore par ruissellement	(Gillet, 2010 ; Gardner et coll., 2002)
<i>Pollution domestique et urbaine</i>		Eaux usées non épurés, eaux de pluie, eaux collectives: Pollution organique et chimique	(Djilani, 2006).

2.4 Qualité de l'eau de boisson en élevage avicole

La qualité de l'eau peut avoir des répercussions importantes sur la production et la santé d'un animal (Olkowski, 2009). Les propriétés physico-chimiques (pH, dureté), la composition chimique notamment les teneurs en nitrates, nitrites, métaux lourds, etc..., et la charge microbienne (bactéries, protozoaires, levures et moisissures) de l'eau de boisson distribuée en élevage avicole doit être régulièrement contrôlée pendant toute la période d'élevage (Olkowski, 2009). Des évaluations régulières de la qualité de l'eau sont nécessaires au niveau de la source d'où provient l'eau, des bacs de stockage et des abreuvoirs.

Le Maroc n'a pas encore normalisé les teneurs des différents paramètres physico-chimiques et microbiologiques de l'eau d'abreuvement. La seule référence qui existe est la norme française d'eau d'abreuvement en élevage (tableau 4) (Travel, 2007).

2.4.1 Échantillonnage et analyse organoleptique de l'eau

Les sources d'eau devraient être souvent vérifiées pour s'assurer de l'abondance des bactéries et de la teneur en minéraux (Anon, 2008). Les puits peuvent être contaminés par de l'eau de surface ou de ruissellement, et doivent donc être testés après une forte pluviométrie (Halls, 2008). Il est nécessaire de prélever un échantillon représentatif pour s'assurer de la qualité de l'eau analysée. Les résultats de l'analyse d'eau peuvent être affectés si l'échantillon est prélevé incorrectement (Halls, 2008). Les prélèvements doivent être pris aux niveaux de la source et des abreuvoirs. En cas de problème de qualité, des mesures doivent être prises pour ne pas affecter la santé de la volaille (Dennery et coll., 2012).

Idéalement, l'eau doit être incolore, inodore et insipide. Une couleur brune rougeâtre indique la présence de fer, tandis que la couleur bleu indique la présence de cuivre. Le sulfure d'hydrogène produit une odeur d'œuf pourri. Le goût peut être affecté par la présence de sels. Un goût amer est habituellement associé à la présence de sulfates de fer et de manganèse (Halls, 2008).

2.4.2 Paramètres physico-chimiques de l'eau

Les variations incontrôlées des paramètres physico-chimiques de l'eau peuvent engendrer des interactions négatives avec les traitements désinfectants, les traitements prophylactiques et favoriser le développement des biofilms (Vermeulen et coll, 2002 ; Travel, 2007).

2.4.2.1 Le pH

L'acidité ou l'alcalinité de l'eau est mesurée par le pH. Le pH de l'eau destinée à l'abreuvement de la volaille, doit être compris entre 6 et 7 (Travel, 2007). Des valeurs inférieures à 5 affectent les performances de la volaille en entraînant des troubles urinaires ou digestifs et une fragilisation du squelette des animaux. Les matériaux des systèmes de distribution sont corrodés en contact avec l'eau et la solubilité de certains antibiotiques acides est réduite (Vermeulen et coll, 2002 ; Halls, 2008). Des valeurs plus élevées du pH indiquent des fortes concentrations de calcium et de magnésium, qui peuvent, au cours du temps, bloquer le système de distribution de l'eau (Halls, 2008). L'eau très alcaline peut causer des troubles digestifs chez les animaux, tels que la diarrhée ou la mauvaise conversion alimentaire et réduire l'apport d'eau et d'aliments (Halls, 2008). L'eau alcaline inhibe aussi l'effet des vaccins, réduit l'efficacité des antibiotiques basiques ainsi que l'activité de la chloration et des autres agents désinfectants (Vermeulen et coll, 2002; Halls, 2008; Olkowski, 2009). De plus, l'eau alcaline favorise la prolifération des bactéries à Gram négatif et la formation des biofilms. (Travel, 2007).

2.4.2.2 La dureté

La dureté de l'eau exprime la quantité de minéraux comme le calcium (Ca) et le magnésium (Mg) dissous dans l'eau. L'eau dure n'affecte pas la santé et les performances de la volaille, mais elle peut causer l'accumulation de dépôts minéraux, conduisant au colmatage du système de circulation de l'eau (Halls, 2008; Olkowski, 2009). Par ailleurs, une dureté excessive de l'eau peut interférer avec les médicaments administrés par l'eau, les désinfectants et les produits de nettoyage (Halls, 2008). La dureté réduit aussi l'absorption des oligo-éléments par les animaux et la solubilité des vitamines. Elle favorise également le sous-abreuvement des animaux lorsque la température ambiante augmente de même que la formation de complexes insolubles

entre les ions calcium et magnésium d'une part et les molécules actives des antibiotiques (Tétracycline) d'autre part (El Moustaine, 2013). Les dépôts de tartre dus à l'utilisation d'une eau dure diminuent le débit de l'eau et, dans certains cas de malveillance, le bouchage des canalisations causant sa privation. La privation d'eau a des effets fortement indésirables sur le taux de croissance des volailles d'abattage et des poules pondeuses, et provoque aussi une augmentation de la morbidité et de la mortalité (Olkowski, 2009).

2.4.2.3 Les sulfates

Des niveaux modérés de sulfates dans l'eau d'abreuvement peuvent augmenter le taux d'humidité de la litière. Des niveaux extrêmement élevés peuvent causer des effets négatifs sur la croissance et la production d'œufs (Halls, 2008). Les sulfates peuvent également interférer avec d'autres minéraux comme le cuivre.

2.4.2.4 Les nitrates et nitrites

Les nitrates et les nitrites sont des formes oxydées d'azote. Ces composés sont naturellement présents dans l'eau, mais les nitrates prédominent la plupart du temps. Les nitrates sont des sous-produits de la désintégration biologique des matières animales et végétales, des engrais chimiques ou des déchets animaux. Le nitrate n'est pas toxique en soi, mais devient toxique quand il est converti en nitrite par les microorganismes intestinaux. Cette conversion ne se produit généralement pas chez la volaille (Halls, 2008). Les eaux souterraines sont naturellement fortement chargées de nitrates, mais peuvent quand même être contaminées par les nitrates et les nitrites provoquée par la non étanchéité des puits, engrais, épandage de fumier, fuites des fosses septiques et effluents urbains (Olkowski, 2009). Les eaux de surface sont plus vulnérables à cette pollution due à une quantité excessive de fumier, mais les niveaux élevés de nitrates se maintiennent généralement peu de temps, car le nitrate est rapidement utilisé par les microorganismes qui consomment l'oxygène dans l'eau, créant alors un environnement anaérobie. Ce processus transforme le nitrate en azote gazeux, qui diffuse ensuite dans l'atmosphère (Olkowski, 2009).

Les animaux tolèrent des concentrations élevées en nitrates (>400 mg/l) dans l'eau de boisson lorsque la teneur de ces derniers est faible dans l'aliment, il faut donc tenir compte de la quantité de nitrates issues de l'aliment mais prendre également en

considération l'âge, l'état physiologique des animaux et la durée d'exposition aux nitrates....(Olkowski, 2009).

Les nitrates sont rapidement absorbés par le tube digestif. Une eau chargée en nitrates a un impact significatif sur les paramètres de production chez des volailles sélectionnées pour leur rendement (Olkowski, 2009). Une étude menée par Stuart et Oehme (1982) révèle que des retards de croissance, et des cas d'infertilité et d'avortement sont causés par l'exposition aux nitrates.

Des concentrations de nitrites > 30mg/l présentent un risque d'effet nocif qui varie suivant plusieurs facteurs tels que la race, le stade de développement, l'âge, l'alimentation, le niveau de production...) et surtout le pouvoir de réduction des nitrites par l'organisme (Olkowski, 2009).

2.4.2.5 Les métaux lourds

L'impact majeur de la contamination de l'eau d'abreuvement par des minéraux, notamment les métaux lourds, est lié surtout à la qualité des produits finaux puisque ces métaux lourds se déposent dans les œufs, la viande et le foie (Halls, 2008; Olkowski, 2009).

Les niveaux élevés de fer dans l'eau d'abreuvement favorisent la croissance bactérienne, ce qui peut conduire à la diarrhée (Halls, 2008). Lorsque le fer est exposé à l'air, il est converti en hydroxyde ferrique, donnant lieu à ce qui est communément connu sous le nom d'eau rouillée. L'hydroxyde ferrique peut obstruer les systèmes d'eau (Halls, 2008). La teneur en fer doit être inférieure à 0,2 mg/l. Lorsqu'elle est supérieure à 5 mg/l, elle entraîne une diminution de l'appétit chez les animaux ainsi qu'une inactivation des vaccins vivants et une inhibition du chlore suite à la formation de complexes (Travel, 2007). Les développements des biofilms, des ferrobactéries et de bactéries pathogènes sont aussi accentués (Pecelunas et coll., 1999; Olkowski, 2009).

Vodela et coll. (1997a, b) se sont intéressés aux interactions entre les contaminants de l'eau et les états nutritionnels relatifs au rendement et aux fonctions immunitaires chez les poulets. Ils ont choisi des contaminants souvent présents dans les eaux souterraines qui se situent à proximité des sites contenant des déchets dangereux. Ils ont comparé une eau normale avec une eau faiblement concentrée et une autre hautement concentrée

en métaux lourds (arsenic, cadmium et plomb). Contrairement aux poulets buvant une eau normale, ceux ayant ingurgité aussi bien le mélange à forte concentration en métaux lourds que celui à faible concentration, ont montré une diminution de leur consommation alimentaire, de leur poids et de leur fonctions immunitaires. Ainsi, une eau même faiblement concentrée en métaux lourds provoque une baisse de la production des œufs, du poids des animaux et une augmentation de mort embryonnaire.

Malgré ces données, il y a un réel manque de données expérimentales sur l'eau d'abreuvement et son impact sur la physiologie, la nutrition et la toxicologie. Les valeurs de substances chimiques maximales recommandées dans l'eau des volailles varient considérablement.

2.4.3 Normes et valeurs des paramètres physico-chimiques de l'eau préconisées en élevage de volaille

Dans le tableau 4, sont répertoriées les valeurs des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau préconisées en élevages avicoles. Ces valeurs ne sont pas normalisées et sont issues de conseils vétérinaires et de constats de terrain français.

Tableau 4. Teneurs préconisées des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau
(D'après Travel, 2007)

<i>Paramètres</i>	<i>Teneurs préconisées</i>
<i>Ph</i>	6 à 7
<i>Dureté</i>	10 à 15 °f *
<i>Nitrates</i>	<50 mg/l
<i>Fer</i>	< 0,2 mg/l

*°f: degré français équivaut à 4 mg de calcium ou à 2,4 mg de magnésium par litre.

2.4.4 Traitements physico-chimiques de l'eau

Lorsque les paramètres physico-chimiques de l'eau ne répondent pas aux valeurs préconisées en élevage, des traitements sont mis en œuvre pour retrouver des teneurs acceptables. Le tableau 5 représente les caractéristiques des différents traitements utilisés.

Tableau 5: Caractéristiques des différents traitements de l'eau utilisés en élevage avicole (Travel, 2007; Halls, 2008 ; Olkowski, 2009)

Traitements	Caractéristiques
<i>L'acidification minérale</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Abaissement du pH de l'eau par l'ajout d'acides aux systèmes d'abreuvement . - L'acide minéral fort (acide chlorhydrique ou sulfurique), même à des faibles quantités augmente l'acidité de l'eau, assure l'effet désinfectant du chlore et réduit l'accumulation de calcaire dans les lignes d'eau. - Acidification par carbonatation (l'ajout de CO₂ dans l'eau entraîne la formation de H₂CO₃ et la libération des ions H⁺).
<i>La neutralisation</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Elle est assurée par le passage de l'eau à travers un substrat calcique où elle se charge en ions calcium Ca²⁺ et en ions carbonate CO₃²⁻ - Elle est utilisée pour augmenter la dureté et le pH d'une eau dite très douce (dureté < 10°f).
<i>L'adoucissement</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Réduction de la dureté de l'eau en remplaçant le calcium et le magnésium par du sodium.
<i>La filtration</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation des filtres pour éliminer les matières en suspension et la matière organique.
<i>La dénitrification</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Permet de capter les ions nitrates grâce à une solution saumurée et une résine anionique.
<i>La déferrisation</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Elle assure une réduction de la teneur en fer total. L'eau est oxygénée puis mise en contact avec une solution déferrisante. Les oxydes de fer rendus insolubles sont ensuite filtrés.

2.4.5 Paramètres microbiologiques de l'eau

Certains germes retrouvés dans l'eau d'abreuvement sont des germes pathogènes responsables de troubles digestifs. Les facteurs favorisant la présence de ces agents pathogènes sont multiples: l'origine de l'eau, les biofilms des canalisations, l'absence ou la mauvaise désinfection.

2.4.5.1 Germes pathogènes responsables de troubles digestifs chez la volaille

Les principaux germes pathogènes responsables de troubles digestifs sont représentés sur le tableau 6. Des protozoaires peuvent se retrouver dans l'eau de boisson des animaux en plus des microorganismes cités dans le tableau 6. Certains protozoaires entériques (*Giardia* et *Cryptosporidium*) sont pathogènes et causent des infections. On les retrouve dans l'eau à la suite d'une contamination directe ou indirecte par les matières fécales d'humains ou d'animaux (Olson et coll., 1997 et 2004; Pond et coll., 2004; Thompson, 2004; Thompson et Monis, 2004 ; Castro-Hermida, 2009). Par ailleurs, les coccidies responsables des coccidioses, une maladie de volaille fréquemment rencontrée en aviculture, survivent très facilement dans l'environnement, même après une désinfection méticuleuse. Les principales sources de contamination par des oocystes de coccidies sont les épandages d'effluents proches des sources d'eau (Le Du et Reperant, 2003).

Tableau 6. Les principaux germes pathogènes responsables de troubles digestifs chez la volaille (Chaveerach et coll., 2004; Puterflam, 2005; Travel, 2007; Van Bunnik, 2012)

Germes	Description	Impact	Facteurs favorisant la multiplication	Moyens de limitation du développement
<i>C. perfringens</i>	<ul style="list-style-type: none"> - bacille à Gram⁺, - sulfite réductrice (ASR), anaérobie stricte, - pH optimal 6- 7, - détruit les matières organiques mortes 	Entérites nécrotiques et non spécifiques	<ul style="list-style-type: none"> - Caractéristiques bactériologiques et chimiques de l'eau : - présence de matières organiques - absence d'oxygène - pH alcalin 	<ul style="list-style-type: none"> - Désinfection des canalisations au vide sanitaire avec un produit bactéricide et sporicide - Chloration et acidification de l'eau en cours de lot
<i>Campylobacter sp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Bacille à Gram⁻, - commensal de la flore intestinale avicole, - microaérophile, - thermophile, - pH optimal 6,5-7,5 - s'adapte en devenant sphérique ou coccoïde 	entérites non spécifiques	<ul style="list-style-type: none"> - Concentration en O₂ entre 3 et 15% dans l'eau, CO₂ entre 3 et 5% - température entre 37°C à 42°C - l'acidification de l'eau favoriserait l'infection en modifiant la flore intestinale des volailles 	<ul style="list-style-type: none"> - Ajout des acides organiques (formique, acétique, propionique et/ou hydrochlorique) pour obtenir un pH proche de 4 ; - Désinfection des circuits de distribution d'eau et chloration en cours de lot
<i>Salmonella sp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Entérobactérie à Gram- - pH optimal 6,5-7,5 	entérites non spécifiques	<ul style="list-style-type: none"> - Température entre 7 et 46°C 	<ul style="list-style-type: none"> - Destruction par la chaleur > 60°C) - utilisation des désinfectants de surface durant le vide sanitaire (formol, chlore) et chloration en cours de lot
<i>Listeria monocytogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Bacille à Gram⁺, , - pH optimal 7,1 ; - aéro-anaérobie, - survit des semaines dans les sols épandus et contaminés 	Maladie émergente	<ul style="list-style-type: none"> - Température entre 30 et 37°C, - eau contaminée lors d'épandages 	<ul style="list-style-type: none"> - Destruction à 60°C - Limitation de la présence de rongeurs/arthropodes
<i>E.coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Colibacille à Gram⁻, - hôte commensal du tube digestif des volailles. - pH optimal 6,5. 	10 à 15% de la population est pathogène pour les volailles	<ul style="list-style-type: none"> - Eau souillée par des matières fécales, - Poussière 	<ul style="list-style-type: none"> - Désinfection des canalisations au vide sanitaire, - Nettoyage du matériel d'abreuvement, - acidification, - ajout des probiotiques

2.4.5.2 Flore indicatrice de contaminations bactériologique de l'eau

a- Les germes totaux

Le comptage de la flore aérobie revivifiable à 22°C en 72h et à 37°C en 24h, d'origine humaine, animale ou tellurique permet le dénombrement des bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture (Robert, 1999). Ces bactéries sont des indicateurs de pollution soit des eaux de très bonne qualité microbiologique dont on veut éprouver la protection vis-à-vis de toute contamination (eaux souterraines, de nappes profondes ou alluviales), ou bien des eaux de surface (lacs loin des rives). Leur présence en faible nombre est témoin d'une désinfection et d'un bon état du système de distribution. Les germes totaux sont utilisés aussi pour évaluer l'efficacité de la filtration de l'eau (Rodier et coll, 2009).

b- Les coliformes totaux et fécaux

Les coliformes totaux font partie de la famille des entérobactéries de la flore intestinale. Ils sont présents également dans l'environnement (sols, végétation et eau). Généralement, ils sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé (Edberg et coll., 2000), à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* et de quelques rares bactéries pathogènes opportunistes.

Les coliformes fécaux, appelés aussi thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à 44,5°C avec production de gaz. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe est *Escherichia coli*. Ils sont proportionnels au degré de pollution de l'eau par les matières fécales. L'intérêt porté à l'utilisation des ces microorganismes dans les analyses microbiologiques de l'eau est justifié par la similitude de leur comportement dans la nature avec celui des microorganismes entéropathogènes (World Health Organization, 2008).

c- Les entérocoques (Streptocoques fécaux)

On retrouve les entérocoques dans le tractus gastro-intestinal des humains et de plusieurs animaux. Ils sont témoins d'une contamination fécale plus ou moins récente (Clausen et coll., 1977, Gleeson et Gray, 1997). Leur détection en grand nombre laisse supposer la présence de microorganismes entéropathogènes. Ils sont caractérisés par une résistance aux agents désinfectants supérieure aux autres microorganismes indicateurs (Clausen et coll., 1977; Edberg et coll., 2000). Ceci fait d'eux des

indicateurs privilégiés pour l'évaluation de l'efficacité du traitement de l'eau. Les entérocoques résistent aussi à des conditions environnementales difficiles et persistent plus longtemps dans l'eau (Gleeson et Gray, 1997).

d- Les bactéries Anaérobies Sulfito-réductrices (ASR) et spores

Les ASR sont des organismes anaérobies. Dans cette famille, les *Clostridium* sont les plus fréquentes et les plus faciles à mettre en évidence (Rodier et coll, 2009). Elles sont présentes dans les matières fécales (Robert, 1999), mais en plus petite quantité que *E.coli*, et aussi dans le sol et les rivières (Faby et Célérier, 1998). Elles sont très résistantes et leur présence est un bon indicateur de la vulnérabilité des aquifères, des puits, ou d'un mauvais entretien des réseaux.

Les spores des ASR constituent un bon indicateur pour ces micro-organismes et se caractérisent par leur résistance à la chloration (Faby et Célérier, 1998, Robert, 1999). Ce ne sont pas les bactéries elles-mêmes qui sont recherchées mais leurs spores.

2.4.6 Normes de la qualité bactériologique de l'eau requise en élevage avicole

Comme pour le cas de la qualité physico-chimique, aucune norme n'existe au niveau de la qualité bactériologique de l'eau en élevage. Les normes de l'eau potable servent donc de référence mais sont difficilement atteignables en bout de ligne des bâtiments. Des valeurs préconisées en élevage sont présentées dans le tableau 7.

Tableau 7. Normes bactériologiques humaines et valeurs préconisées en élevage avicole de l'eau (Travel, 2007)

Paramètres bactériologiques	Normes humaines (germes par quantité d'eau)	Préconisations élevage (germes par quantité d'eau)
Germes totaux à 22°C	<100 (dans 100 ml)	<100 (dans 100 ml)
Germes totaux à 37°C	<20 (dans 100 ml)	<20 (dans 100 ml)
Coliformes totaux	0 (dans 100 ml)	< 5 (dans 100 ml)
Coliformes thermotolérants	0 (dans 100 ml)	< 5 (dans 100 ml)
Entérocoques	0 (dans 100 ml)	< 5 (dans 100 ml)
Anaérobies sulfito-réducteurs	0 (dans 20 ml)	< 10 (dans 20 ml)

2.4.7 Les désinfectants de l'eau de boisson

Afin de corriger la qualité bactériologique non satisfaisante des eaux de boisson en élevage avicole, des traitements de désinfection sont appliqués tout en utilisant des biocides qui permettent la destruction ou rendre inoffensif les organismes nuisibles soit par l'action chimique ou biologique. Les biocides se caractérisent par leurs propriétés bactéricides, virucide, fongicide et sporicide. En élevage avicole, en plus de la désinfection de l'eau d'abreuvement, les biocides sont utilisés pour aseptiser le matériel et le circuit d'abreuvement durant le vide sanitaire. En général, ils sont composés d'une ou de plusieurs substances actives et des adjuvants. Ces derniers permettent d'avoir un large spectre d'efficacité contre les microorganismes, une stabilité chimique et un faible effet corrosif. Les propriétés de ces substances sont présentées dans le tableau 8:

Tableau 8. Propriétés des substances utilisées comme désinfectants de l'eau de boisson (Travel, 2007; Halls, 2008; Olkowski, 2009).

Biocides	Caractéristiques
<i>Chlore (Cl) :</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Le pH optimum du Cl est inférieur à 7. Il a des propriétés bactéricides à pH acide, virucides (à des concentrations plus élevées), fongicides, sporicides et algicides - Une partie du Cl se complexe aux ions réducteurs (Fe^{2+}, Mn^{2+}, NH_4^+, NO_2^-) ou aux composés organiques. Son efficacité est réduite ou inhibée en présence de niveaux élevés de matière organique et lorsque les complexes avec les ions métalliques (Fe, Mg) ou avec l'ammonium sont formés. L'autre partie du Cl (Cl libre ou résiduel) agit sur les bactéries. - Le Cl se caractérise par un faible coût, une manipulation facile et une faible toxicité par rapport aux autres biocides. Il nécessite un temps de contact avec l'eau pour agir (20 min pour l'effet bactéricide et 45 min pour l'effet virucide)
<i>Peroxyde d'hydrogène : H₂O₂</i>	<ul style="list-style-type: none"> - En s'associant aux agents tensio actifs, l' H₂O₂ permet le décollement et la mise en suspension de la matière organique et aussi la fixation des Ca^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+}. - L' H₂O₂ possède un fort pouvoir oxydant, bactéricide, fongicide, virucide, sporicide et aussi acidifiant. - H₂O₂ a un large spectre d'activité (contre les ASR et <i>Mycobacterium tuberculosis</i>), quels que soient le pH et la dureté de l'eau, sans altérer le goût et la couleur de l'eau. - Plus cher que le chlore, il a un fort pouvoir corrosif
<i>Dioxyde de Chlore : ClO₂</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Réagit avec des composés sulfurés réduits, les amines II^{aires} et III^{aires}, quelques produits organiques fortement réduits et l'Oxyde de fer et de manganèse. - Résultat plus stable qu'avec le chlore ou l'ozone à faible dose. Il est plus efficace que le chlore pour la destruction de tous les organismes pathogènes. - Préviend et détruit les biofilms, - Il possède une rémanence importante (environ 72 h) et nécessite un temps de contact inférieur à celui du chlore. - Les pH entre 4 et 10 n'affectent pas son efficacité - Coût de fonctionnement supérieur à celui du chlore
<i>Ozone (O₃) et UV :</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Coût élevé - Capables de stériliser l'eau ponctuellement mais doivent être associés à un biocide rémanent pour un traitement efficace

A côté de la désinfection de l'eau d'abreuvement, il faut également désinfecter les circuits de distribution de l'eau (bac, pompe, canalisations, abreuvoirs) au cours du vide sanitaire afin de prévenir l'accumulation au fil du temps de dépôts d'écailles, de rouille, d'algues ou de saleté dans les conduits d'eau. Divers substances sont utilisées à cet égard : les aldéhydes (formol, glutaraldéhyde,...), les phénols et dérivés, les ammoniums quaternaires, les halogénés (ion hypochlorite, chlore organique, iodophore), les amphotères, les minéraux (soude, chaux), les peroxydes (d'hydrogène, acide péracétique) et les HE (Travel, 2007).

2.5 Traitements thérapeutiques et prophylactiques via l'eau de boisson

2.5.1 Les antibiotiques et les vitamines

Pour réussir un traitement antibiotique ou vitaminique via l'eau de boisson, il faut tout d'abord arrêter les traitements de désinfection de l'eau au moins 24 h avant l'administration des médicaments. Ensuite il faut procéder à la neutralisation du chlore par du thiosulfate de sodium et utiliser des filtres à charbon pour fixer le chlore restant. Une pré-dilution doit être effectuée pour une bonne solubilité des antibiotiques. La température de l'eau contribue aussi à une solubilisation maximale des antibiotiques et des vitamines. A la fin du traitement, les résidus du produit administré doivent être chassés par rinçage des canalisations par de l'eau (Vermeulen et coll, 2002; Puybasset, 2005).

2.5.2 Les vaccins

La vaccination par l'eau de boisson est l'une des méthodes utilisées pour l'administration des vaccins en élevage avicole. Les vaccins varient en fonction de l'espèce (poulet de chair, poule pondeuse, dindon, etc.) et aussi en fonction de la maladie (Gumboro, Marek, Entérite *Salmonella* + *S.typhimurium*, Tremblante, Coccidiose, etc.). Le système d'abreuvement (réservoir et canalisations) doit être nettoyé au préalable à l'eau propre, sans ajout de détergent ou de désinfectant. La qualité chimique de l'eau utilisée comme solution pour le vaccin doit être bonne (Vermeulen et coll, 2002, Bengoumi, 2004).

2.5.3 Les acides organiques

Les acides organiques sont utilisés en élevage avicole par l'eau de boisson pour diminuer le pH intestinal/caecal des volailles et aussi pour leur action bactéricide (Le Douarin, 1999). Cependant, ils servent de nutriments pour les micro-organismes car ils favorisent le

développement des biofilms dans les canalisations lorsqu'ils sont utilisés en continu et à faible dose (Puterflam, 2005). Parmi ces acides, on trouve: l'acide formique, l'acide lactique, l'acide propionique et l'acide peracétique (mélange d'acide acétique et de peroxyde d'hydrogène).

2.5.4 Les traitements alternatifs

Des traitements alternatifs aux antibiotiques sont administrés via l'eau de boisson en élevage avicole pour réguler la flore tels que les probiotiques qui sont des bactéries lactobacilles et bifidobactéries qui, en se multipliant dans l'intestin, réduisent la population bactérienne potentiellement pathogène par une simple compétition (Dorman et Deans, 2000; Travel, 2007). On cite aussi les prébiotiques qui sont des molécules d'origine glucidique qui stimulent la croissance et la colonisation des bactéries de la flore digestive commensale: lactobacilles et bifidobactéries.

On trouve aussi des compositions avec des principes actifs d'origine végétale. Les HE des plantes sont les plus sollicités dans cette catégorie grâce à leur fort pouvoir antimicrobien, même à des concentrations extrêmement faibles (Dorman et Deans, 2000 ; Travel, 2007 ; Windisch et coll., 2008).

3. Problématique de la formation des biofilms sur les parois des installations d'abreuvement en élevage avicole

L'adhérence des micro-organismes aux parois des systèmes de distribution de l'eau d'abreuvement des volailles favorise la formation des biofilms, ce qui influe considérablement sur la qualité de l'eau et induit la diminution des performances des animaux. Ces biofilms évoluent plus rapidement et plus fortement lorsqu'ils trouvent les conditions d'implantation et de vie avantageuses.

3.1 Généralités sur les biofilms

Un biofilm est une population microbienne variée composée de bactéries, de protozoaires, de virus ou de champignons, qui se développe en couche mince et adhérente sur une surface en contact avec l'eau. Le biofilm peut coloniser toutes les surfaces humides (réservoirs, bacs, canalisations d'eau, puits, murs, sols, etc). Il est invisible, mais détectable au toucher avec une sensation de gras. Une fois établi, le biofilm se multiplie rapidement et les organismes morts peuvent servir de nutriments aux organismes secondaires ou même neutraliser les assainisseurs utilisés dans l'eau (Venne, 2009). La nocivité du biofilm se manifeste par la pénétration de substances pathogènes dans un biofilm déjà présent (Enkiri et coll., 2006). Le biofilm peut aussi produire des substances toxiques qui sont relarguées dans l'eau et absorbées par les animaux.

3.1.1 Étapes de la formation d'un biofilm

La formation d'un biofilm se fait en quatre étapes (Figure 6). L'étape initiale de la formation du biofilm est l'attachement de micro-organismes planctoniques ou libres à la surface en faisant intervenir leurs générateurs de mouvement ; les pilis pour les bactéries et les flagelles pour les protozoaires (O'Toole & Kolter, 1998; Stoodley et coll. 2002). Ils se fixent ensuite à la surface des tuyauteries de manière temporaire (adsorption réversible) ou définitive (adsorption irréversible), en formant des structures permettant une adhésion permanente à la surface ou avec d'autres micro-organismes déjà présents (Öner, 2013).

La colonisation est ensuite facilitée par la sécrétion par les micro-organismes de substances extracellulaires polymériques glycoalyx constitué de polysaccharides, glycoprotéines chargées et neutres qui maintiennent le biofilm et le cimentent à la paroi (Wang, Vinogradov et coll, 2013; Murphy et coll, 2014).

L'étape qui suit la colonisation de la surface par les micro-organismes est la maturation. Ces derniers établissent ainsi une architecture complexe, stratifiée et hétérogène typique d'un biofilm majeur. L'apport de nutriments et l'oxygénation sont assurés par la présence des substances extracellulaires polymériques (Smith et Iglewski, 2003 ; Novick et Geisinger, 2008). La dernière étape est la phase de détachement ou de dispersion qui suit différentes stratégies:

- Le détachement d'un fragment ;
- La libération d'amas algiforme (ou floc bactérien);
- La migration de bactéries flagellées vers de nouvelles portions de canalisation.

Une fois le biofilm installé, il peut croître et se détacher afin de contaminer d'autres sections du système d'abreuvement (Kaplan, 2010).

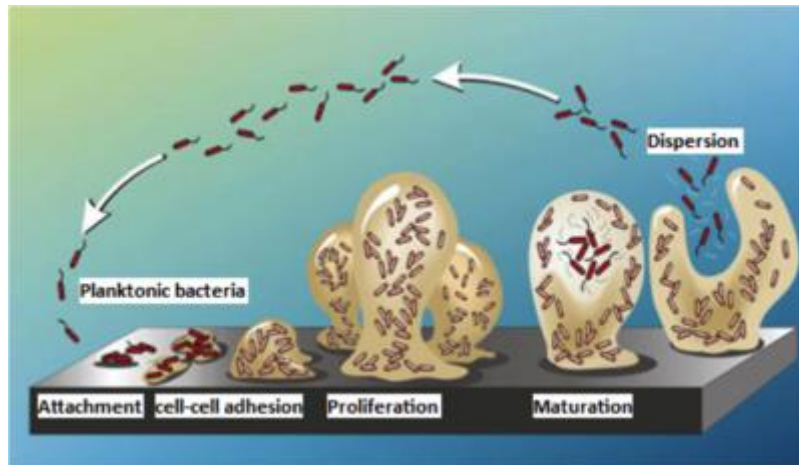


Figure 6. Etapes de colonisation des canalisations par le biofilm (Center for Biofilm Engineering at Montana State University MSU)

3.1.2 Facteurs favorisant la formation des biofilms

La formation et le développement des biofilms dans les conduites est influencée par l'apport initial de germes, les paramètres physiques de l'eau (température, pH, concentration en minéraux, etc.), la concentration en éléments nutritifs et le mode de fonctionnement du réseau d'eau (puits, réservoirs, flux d'eau ou stagnation). Tous ces facteurs peuvent avoir un effet négatif sur les performances des animaux en réduisant le débit d'eau disponible quand il s'agit de la volaille.

3.1.2.1 La composition de l'eau

La composition de l'eau joue un rôle important dans le développement d'une couche de micro-organismes. Certaines bactéries combinent le fer et le manganèse en une matrice protectrice. Une eau dure (riche en calcium et en magnésium) agit dans le même sens. La présence des éléments azotés (les nitrites et l'ammonium) favorise aussi la prolifération des micro-organismes (Venne, 2009).

3.1.2.2 Le pH de l'eau

Les micro-organismes se développent différemment selon le pH de l'eau. En élevage, l'acidification de l'eau favorise le développement de la flore du milieu intestinal (Venne, 2009). Lorsqu'il s'agit d'éliminer les micro-organismes, un choc à l'aide de solutions très acides ou très basiques est effectué (Venne, 2009).

3.1.2.3 La température de l'eau

En élevage avicole, la prolifération des micro-organismes dans les conduites est favorisée par l'augmentation de la température de l'eau due au chauffage des bâtiments. Cet effet est accru surtout durant les 10 premiers jours d'élevage, puisque les poussins ont besoin d'une température ambiante élevée et un faible débit d'eau (Stoodley et coll., 2002 ; Venne, 2009 ; Briandet et coll., 2012).

3.1.2.4 Le système d'abreuvement et le débit d'écoulement de l'eau

Le système d'abreuvement influence largement la prolifération des germes à l'intérieur du circuit. L'utilisation de pipettes, de godets ou de coupelles réduit généralement le risque de contamination de l'eau, mais une fois le dépôt des micro-organismes formé, il peut obstruer les pipettes sous lesquelles l'égouttement favorise l'humidification des litières (Venne, 2009).

Un système d'abreuvement sans retour au bac, où l'eau sous basse pression stagne en bout de ligne, favorise le développement des micro-organismes. La nature des parois des canalisations joue aussi un rôle important dans l'adhésion des micro-organismes. Les canalisations métalliques, contrairement aux canalisations en PVC ou en inox, favorisent cette adhésion.

Par ailleurs, un écoulement lent de l'eau surtout pendant les dix premiers jours de la présence des animaux, qui sont marqués par une faible consommation d'eau, favorise l'adhésion de bactéries aux parois (Travel, 2007).

3.1.2.5 L'apport des molécules prophylactiques

L'administration des substances médicamenteuses, de vitamines, des oligoéléments et des acides organiques via le dispositif d'abreuvement peut avoir un impact sur la prolifération des micro-organismes. Ces substances vont servir de nutriments. Les solutions vitaminées utilisent habituellement le glucose comme base et les interventions médicamenteuses s'accompagnent souvent de l'utilisation de poudre de lait. Ces substances organiques se retrouvent sur la paroi du système d'abreuvement, fournissant aux bactéries des nutriments dont elles ont besoin (Stoodley et coll. 2002; Venne, 2009; Briandet et coll. 2012).

Les couches de micro-organismes adhérents aux surfaces peuvent aussi cacher des germes pathogènes, des germes susceptibles de transmettre des gènes de résistance aux antibiotiques ou de réduire l'efficacité des produits désinfectants utilisés (Venne, 2009).

3.1.3 Effets de la formation des biofilms en aviculture

En aviculture, le développement biofilms, sur la paroi interne des conduites d'eau, en présence de la matière organique véhiculée par l'eau sous une basse pression, favorise l'apparition des espèces pathogènes que l'animal va absorber par la suite. Ces germes pathogènes pénètrent le tractus digestif des animaux et nuisent à leurs performances. La prolifération de ces derniers est favorisée par la température du tractus digestif (Jacquet, 2007).

Ces biofilms perturbent aussi le fonctionnement du système d'abreuvement et engendrent des pertes d'eau (augmenter l'humidité de la litière et le dégagement d'ammoniac) (Jacquet, 2007).

3.2 Les traitements des biofilms

3.2.1 Traitement par les désinfectants et décapants

L'action des désinfectants sur le biofilm dépend de la surface de contact. La désinfection est limitée dans les canalisations d'eau contrairement aux surfaces planes. Généralement, les désinfectants agissent sur les micro-organismes situés en surface, alors que ceux situés en profondeur survivent (DeBeer et coll, 1994). Les opérations de nettoyage en élevage avicole

dans les périodes de vide sanitaire entre les bandes sont effectuées pour détacher dans un premier temps les micro-organismes, sous l'action d'un produit décapant (ex : peroxyde d'hydrogène), puis les éliminer par rinçage avec de l'eau propre envoyée sous pression. Une désinfection des conduites d'eau est effectuée par la suite. L'effet chimique du produit décapant et l'effet mécanique de l'eau circulant sous pression permettent de décoller en grande partie les germes présents (Venne, 2009).

Il existe plusieurs produits sur le marché. Le choix dépend du type du biofilm, de la présence ou non des volailles et de la nature des produits utilisés en continu pendant l'élevage. Cependant, en plus des traitements dans les périodes entre les bandes d'animaux, il faut vieillir à minimiser les facteurs de contamination (Travel, 2007; Venne, 2009).

3.2.2 Traitement enzymatiques

Le traitement enzymatique est une méthode utilisée pour l'élimination des biofilms. Elle est basée sur la dégradation de la matrice qui protège le biofilm sous l'action des enzymes tels que la β -1,6-N- acétylglucosaminidase. Le traitement enzymatique est ensuite complété par une désinfection afin de détruire les bactéries devenues planctoniques et donc sensibles aux biocides (Briandet et coll., 2012).

3.3 Résistance des biofilms aux biocides

Les biofilms sont protégés par une couche de polysaccharides difficile à détruire avec les moyens classiques de désinfection (Briandet et coll, 2012). Le biofilm représente le mode de vie majoritaire des micro-organismes qui grandissent et résistent 1000 à 10 000 fois plus en se regroupant comme cellules planctoniques (Costerton et coll, 1999; Roux et Chigo, 2006).

L'étude menée par Bridier et coll. (2011), révèle la résistance des biofilms aux désinfectants. Elkins et coll. (1999), Leung et coll. (2012) et Khakimova et coll. (2013), ont démontré dans leurs études la résistance des biofilm au peroxyde d'hydrogène. *Pseudomonas aeruginosa* est capable de se protéger contre le peroxyde d'hydrogène par la libération de deux enzymes: KatA et KatB qui ont comme rôle de neutraliser ce biocide.

4. L'utilisation des huiles essentielles en élevage avicole

Les éleveurs de volaille ont recours à des préparations à base de plantes ou d'extraits de plantes pour traiter les différents problèmes retrouvés en élevage avicole. Ces dernières sont généralement incorporées dans l'aliment. Elles regroupent les herbes, les épices, ainsi que les HE et les oléorésines, sous formes d'extraits aqueux et non-aqueux, de composés volatils odorants (Windisch et coll., 2008). L'action de ces extraits de plantes sur les performances de croissance des volailles correspond à leurs propriétés antimicrobiennes, leurs propriétés de stimulation de la digestion (Katschinski, 2000; Teff, 2000; Platel et Srinivasan, 2004), leurs propriétés anti oxydantes (Cazarolli et coll., 2008; Hounsoume et coll., 2008 ; Serrano et coll., 2009), et leurs propriétés anti-inflammatoires (Hounsoume et coll., 2008; Gautam et Jachak, 2009 ; Serrano et coll., 2009). La distillation de ces plantes est pratiquée pour l'obtention de solutions enrichies en HE. L'extraction de ces dernières nécessite quelque fois l'utilisation de solvants couplée avec l'utilisation de la chaleur et/ou une agitation. Les principales méthodes utilisées sont l'hydro-distillation, la distillation à partir de solvants organiques, et la macération dans des solutions éthanol/eau ou huile chaude. Le choix du solvant joue un rôle important dans le rendement d'extraction et la composition des extraits (Cowan, 1999; Baydar et coll., 2004; Wang et Weller, 2006).

4.1 Généralités sur les huiles essentielles

Une huile essentielle est définie comme étant, un liquide concentré en substances végétales, obtenu par extraction ou distillation de molécules volatiles de la plante d'origine ou d'organe de cette plante (fleurs, feuilles, bois, racine, écorce, fruit,...). Une huile essentielle est l'essence distillée de la plante aromatique. Elle est composée de molécules terpéniques et aromatiques. Les domaines d'application des HE sont divers: la parfumerie, la cosmétologie, la conservation, la pâtisserie, la fabrication des insecticides, l'industrie pharmaceutique, le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire. En aviculture, la présence d'une importante variété d'HE et leurs nombreuses propriétés antibactériennes en ont fait des candidats potentiels pour remplacer les antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance dans l'alimentation animale et dont l'interdiction est entrée en vigueur en Europe depuis 2006 (Alloui, 2011 ; Alleman et coll, 2013).

4.1.1 Rôle de certains composés d'HE

L'activité biologique des HE dépend de leur composition chimique, en particulier de la nature des groupes fonctionnels de leur composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques), ainsi que des doses appliquées. De nombreux mécanismes d'action pourraient entrer en jeu, selon la structure et les propriétés chimiques de la molécule utilisée (Cowan, 1999; Ceylan et Fung, 2004; Wink, 2008). L'activité d'une huile essentielle est souvent due à l'activité de ses composés majoritaires.

4.1.2 Rôle de certaines molécules odorantes des huiles essentielles

Chez les oiseaux, il existe des récepteurs au niveau des neurones olfactifs qui assurent la détection des molécules odorantes (Gomez et Celi, 2008). Les molécules odorantes composant les HE sont détectées aussi au niveau de la cavité buccale des oiseaux par des récepteurs gustatifs (Brenes et Roura, 2010). Au niveau de l'épithélium digestif, principalement au niveau de l'intestin grêle, les cellules entérochromaffines ont des récepteurs olfactifs qui sont stimulés par les molécules odorantes comme le thymol. Ceci entraîne la libération de la sérotonine qui exerce différentes actions sur le tractus digestif (Kidd et coll., 2008).

4.1.3 Propriétés biologiques des huiles essentielles

4.1.3.1 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les HE sont des molécules qui possèdent les mêmes propriétés antibactériennes que les antibiotiques. Elles agissent en évitant la propagation du microbiote et en réduisant le développement des espèces pathogènes. L'intensité de l'effet antibactérien dépend à la fois du type de l'huile essentielle utilisée, de la dose d'application de cette huile essentielle et aussi de la bactérie ciblée (Cowan, 1999; Francis et coll., 2002 ; Ceylan et Fung, 2004; Westendrap, 2005 ; Hounsoume et coll., 2008 ; Wink, 2008 ; Bakkali et coll., 2008).

Les terpènes et les terpénoïdes des HE sont capables de perméabiliser les membranes bactériennes et de se lier à l'hydrogène et limiter par la suite la croissance bactérienne (Cowan, 1999; Griffin et coll., 1999; Ceylan et Fung, 2004; Bakkali et coll., 2008). En ce qui concerne les composés phénoliques, leurs propriétés sont liées à leur capacité à se complexer de manière spécifique avec de nombreuses protéines, entraînant leur inactivation et souvent leur précipitation (Ceylan et Fung, 2004). Les activités antimicrobiennes des HE semblent plus importantes dans les molécules les plus oxydées (Ceylan et Fung, 2004).

L'utilisation de ces HE dans l'alimentation de la volaille est due essentiellement à leur contribution à conserver l'aliment destiné à l'élevage, par la réduction des risques de contamination par des pathogènes (Windisch et coll., 2008).

L'action des HE sur les espèces fongiques a été également rapportée par plusieurs travaux (Arras et Usai, 2001; Gulluce et coll., 2003; Gören et coll., 2004). Concernant, les propriétés antivirales, de nombreuses pathologies virales ont été traitées par des HE (Siddiqui et coll., 1996; Schuhmacher et Reichling, 2003). Quant à l'action sur les parasites, un travail mené dans notre laboratoire par Remmal et coll. (2011) ainsi que d'autres travaux (Hatimi et coll., 2001; Santoro et coll., 2007) ont décrit les propriétés antiparasitaires des HE et la possibilité de leur emploi pour le traitement des maladies parasitaires chez le poulet de chair.

4.1.3.2 Propriétés antioxydantes

Les HE de thym, d'origan et de romarin se caractérisent par des activités antioxydantes (Chemat et coll 2007; Viuda-Martos et coll, 2010) qui varient en fonction des caractéristiques structurales des molécules (Ciz et coll, 2010). Les molécules qui présentent les activités antioxydantes les plus fortes sont les composés phénoliques comme le thymol ($C_{10}H_{14}O$), le carvacrol ($C_{10}H_{14}O$), et l'eugénol ($C_{10}H_{12}O_2$) avec une supériorité de l'action du thymol (Gabriel et coll, 2013).

4.2 Utilisation des huiles essentielles dans l'alimentation animale

Chez les volailles, des préparations à base de plantes ou de leurs extraits sont généralement incorporés dans l'aliment et dans l'eau de boisson. Ils sont couramment employés chez les poulets de chair pour améliorer les performances de croissance et la qualité et la conservation de la viande (Windisch et coll., 2008; Brenes et Roura, 2010). Ils sont aussi utilisés en production de ponte pour améliorer les performances zootechniques des animaux et la qualité des œufs.

4.2.1 Effets sur le microbiote digestif

Les travaux de Jamroz et coll. (2005) et ceux de Tekeli et coll, 2006 ont révélé qu'un mélange de produits végétaux (contenant des composants des HE) entraîne la modification du microbiote dans l'intestin grêle de la volaille. Cependant, des modifications plus importantes sont retrouvées en utilisant un mélange d'HE (Guardia, 2011) ou un mélange de composés

majoritaires d'HE, comme le thymol et le cinnamaldéhyde (C₉H₈O) (Tiihonen et coll, 2010). Les différences d'effets varient en fonction de la variation de la composition du microbiote des segments digestifs (Gabriel et coll, 2005) et aussi les sensibilités différentes des microorganismes aux HE. L'huile essentielle de thym a permis de diminuer la charge en coliformes (Cross et coll., (2003 ; 2011)). En utilisant l'huile essentielle d'origan, Kirkpinar et coll (2011), ont remarqué une importante réduction de la charge de *Clostridium perfringens*. Un mélange d'huiles essentielles d'origan et de thym a permis une baisse de colonisation par des salmonelles dans le jabot et les caeca (Koscova et coll, 2006). Concernant les parasites digestifs, un effet anticoccidien de l'huile essentielle d'origan a été noté contre l'espèce *Eimeria tenella* ciblant les caeca digestifs (Silva et coll, 2009; Brenes et Roura, 2010).

4.2.2 Effet sur les performances de croissance

Dans le but d'améliorer les performances de croissance en élevage avicole, les éleveurs ont recours à l'utilisation des produits contenant des HE (Alleman et coll, 2013). Dans ce cadre, Putnam et coll, (2007) ont rapporté que l'utilisation des huiles essentielles de romarin et de thym exerce des effets positifs sur le métabolisme osseux, ce qui permettra une amélioration de l'état général des volailles. L'étude menée par Tekeli et coll. (2006) concernant l'effet de l'huile essentielle de thym, montre une amélioration de la croissance et de l'indice de consommation. D'autres travaux utilisant l'huile essentielle de thym, n'ont pas conclu à un effet significatif (Lee et coll, 2003; Najafi et Torki, 2010), alors que d'autres encore ont permis de noter une augmentation de la consommation alimentaire et une dégradation de l'indice de consommation (Bolukbasi et coll, 2006; Cross et coll, 2007).

4.2.3 Effet sur la qualité de la viande

L'amélioration des caractéristiques de la viande de la volaille correspond à l'amélioration des caractéristiques des carcasses (état d'engraissement et développement des muscles), à la susceptibilité de la viande à s'oxyder durant sa conservation, à ses caractéristiques organoleptiques et à sa qualité bactériologique. Les études concernant l'effet des HE sur la qualité des carcasses, montre que cet effet varie également selon la nature des substances utilisées. Garcia et coll., (2007) n'ont pas remarqué d'effet en utilisant deux mélanges contenant des HE d'origan, de cannelle et de poivre ou des extraits hydro-alcooliques de sauge, romarin et thym. De même, les HE de thym, d'origan et de curcuma n'auraient pas d'effet sur la qualité des carcasses et de la viande de poule (Radwan et coll., 2008). En revanche, El-Ghousein et Al-

Beitawi (2009) ont observé une augmentation du rendement des carcasses des femelles de 3,2% et des mâles de 3,8% après l'ajout du thym séché aux rations de base. Cette augmentation est traduite par une augmentation du rendement en cuisses, ailes et filets. D'après Bolukbasi et coll. (2006) et Brenes et Roura (2010), l'utilisation des HE de thym, d'origan ou de romarin chez le poulet exerce des propriétés antioxydantes dans la viande et le gras abdominal.

4.2.4 Effet sur la production et la qualité des œufs

Radwan et coll. (2008) ont rapporté que les HE de thym, d'origan et de curcuma augmentent la production et le poids des œufs de poule. Ils permettent aussi l'amélioration du statut oxydant des œufs durant des conservations de plus de 15 jours. Cependant, les propriétés antioxydants du thym se retrouvent aussi dans l'œuf chez la poule pondeuse (Lee et coll, 2004).

4.2.5 Effet sur l'immunité

Les HE exercent des effets anti-inflammatoires (Gabriel et coll., 2005) et stimulent le système immunitaire spécifique. Najafi et Torki (2010) ont rapporté que chez des poulets de chair ayant reçu des rations enrichies en huile essentielle de thym, une baisse du nombre des hétérophiles et une augmentation de celui des lymphocytes sanguins a été notée. L'effet anti-inflammatoire a été également remarqué en utilisant l'huile essentielle d'origan *in vitro* (Ocana-Fuentes et coll, 2010). Marsik et coll. (2005) et Landa et coll. (2009) ont montré que la production de la prostaglandine E2, responsable de la réaction inflammatoire, est inhibée par le carvacrol et le thymol.

4.3 Utilisation des huiles essentielles et des composés majoritaires pour le détachement des biofilms

Plusieurs études ont porté sur l'activité antimicrobienne des HE sur des biofilms (Knowles et coll., 2005; Niu et coll., 2006; De Carvalho et Da Fonseca, 2007; Braga et coll., 2008; Sandasi et coll., 2008; Gallucci et coll., 2010). Dalleau et coll. (2008) ont testé l'activité de 10 terpènes *in vitro* contre trois espèces de *Candida* par un traitement de 24 heures de la couche microbienne formée au bout de 1 à 5 jours. Les résultats ont montré une inhibition de plus de 80% avec du carvacrol (C₁₀H₁₄O), du géraniol (C₁₀H₁₈O) ou du thymol (C₁₀H₁₄O) (0,06%). Barchan et coll. (2016), ont testé l'effet antibactérien des extraits de trois espèces de *Mentha* sur six souches bactériennes pathogènes (trois bactéries à Gram négatif et trois bactéries Gram positif). Les

extraits apolaires (hexaniques et dichlorométhaniques) sont beaucoup plus actifs contre les bactéries testées que les extraits polaire (méthanoliques et aqueux). Ensuite, ils ont testé l'effet des ces extraits apolaires sur un biofilm de *Staphylococcus aureus* et *E. coli*. Tous les extraits ont montré une efficacité après 30 min du traitement.

Selon Abdoune (2014), les HE riches en thymol, en carvacrol et en eucalyptol(C₁₀H₁₈O) montrent une activité inhibitrice de certaines souches fongiques (*C. albicans*) et bactériennes à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*) qui forment des biofilms.

Partie 1 :

Evaluation *in vitro* de l'action du NP Boisson[®] et NP Boisson plus[®] sur l'amélioration de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau

Introduction

Dans la filière avicole, la volaille consomme une quantité d'eau deux fois supérieure à la quantité de nourriture (Olkowski, 2009 ; Dennery et coll. ,2012). L'eau favorise le transport et l'absorption des nutriments. Elle assure aussi le transport de l'oxygène nécessaire aux réactions d'oxydation cellulaire et du gaz carbonique produit par ces réactions (Olkowski, 2009 ; Dennery et coll. ,2012). La consommation de l'eau assure également le rejet de la chaleur et le refroidissement du corps de l'animal et participe ainsi au maintien de l'homéostasie. L'eau est aussi un vecteur thérapeutique et prophylactique utilisée lors de l'administration des vitamines ou des vaccins (Dennery et coll. ,2012). Donc, la disponibilité d'une eau propre et en quantité suffisante pour les animaux est nécessaire pour assurer le confort et la viabilité des animaux et pour éviter la déshydratation due aux pertes en eau via la respiration, la transpiration, les urines et les fèces (Dennery et coll. ,2012).

Les eaux utilisées en abreuvement, quelles que soit leurs origines, peuvent contenir différents éléments indésirables et même pathogènes. Ainsi, une eau de mauvaise qualité entraîne des pathologies chez les animaux, provoquant une réduction des performances zootechniques et une inefficacité des médicaments et des vaccins (Bengoumi et coll., 2004 ; Travel, 2007).

Pour améliorer la qualité d'eau d'abreuvement, plusieurs traitements sont utilisés tels que les biocides, les acidifiants, les agents neutralisants ainsi que la filtration. Ces méthodes présentent plusieurs inconvénients dont l'instabilité, la toxicité et le coût relativement élevé.

L'action antimicrobienne des HE des plantes aromatiques sur les micro-organismes a été décrite dans plusieurs travaux (Juven et coll., 1994 ; Manohar et coll., 2001 ; Rhayour et coll., 2003 ; Bennis et coll., 2004a, 2004b ; Chami F. et coll., 2004; 2005; Chami N. 2004; 2005; Remmal et coll., 2011). L'effet inhibiteur de croissance des micro-organismes, dû à l'action des HE s'explique par la présence des composés majoritaires (CM), notamment les composés phénoliques (Lee et coll, 2004, Broudiscou et coll, 2007, Ouwehand et coll, 2010). Ainsi, ces études ont rapporté que le thymol, composé majoritaire de l'huile essentielle de thym, permet l'inhibition de la croissance de plusieurs espèces bactériennes.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer *in vitro* l'effet de l'ajout d'un produit, le NP Boisson[®], à base du composé majoritaire du thym, le thymol, sur la réduction de la charge des micro-organismes et d'évaluer l'effet de NP boisson plus[®], qui est une variante de NP Boisson[®]

adaptée aux eaux chargées en polluants chimiques, sur l'amélioration de la qualité physico-chimique de quelques échantillons d'eau que nous avons choisis.

Matériel et méthodes

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet du traitement de certains échantillons d'eau sur l'amélioration de leurs qualités microbiologiques, parasitologiques et physico-chimiques. Ces eaux sont utilisées en abreuvement dans des élevages avicoles qui se situent dans des communes rurales en différentes régions.

1. Préparation des compositions

Afin d'obtenir des produits performants qui répondent aux exigences en terme de réduction de la pollution microbiologique et chimique, deux produits à base de thymol (Figure 7) ont été préparés et testés. Des additifs ont été ajoutés pour assurer la solubilité et la stabilité des produits. Les produits utilisés sont le NP Boisson[®] et le NP Boisson plus[®], inventés et brevetés par notre laboratoire (numéro de la demande FR 1670691) (annexe 2). Le NP Boisson plus[®] est une variante du produit NP Boisson[®] qui a été utilisée pour réduire les concentrations des substances chimiques des échantillons testés.

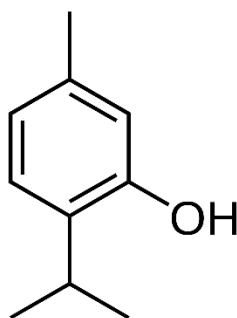


Figure 7 : Structure chimique du thymol

Après avoir effectué des tests préliminaires (résultats non montrés) pour déterminer les concentrations optimales, trois concentrations des deux produits (1g/l ; 2g/l ; 4g/l) ont été préparées dans l'eau. Un échantillon d'eau seule constitue le témoin négatif.

2. Echantillonnage

Des échantillons d'eau prélevés de différentes régions ont été testés (eaux de surface et eaux souterraines) (Figure 8):

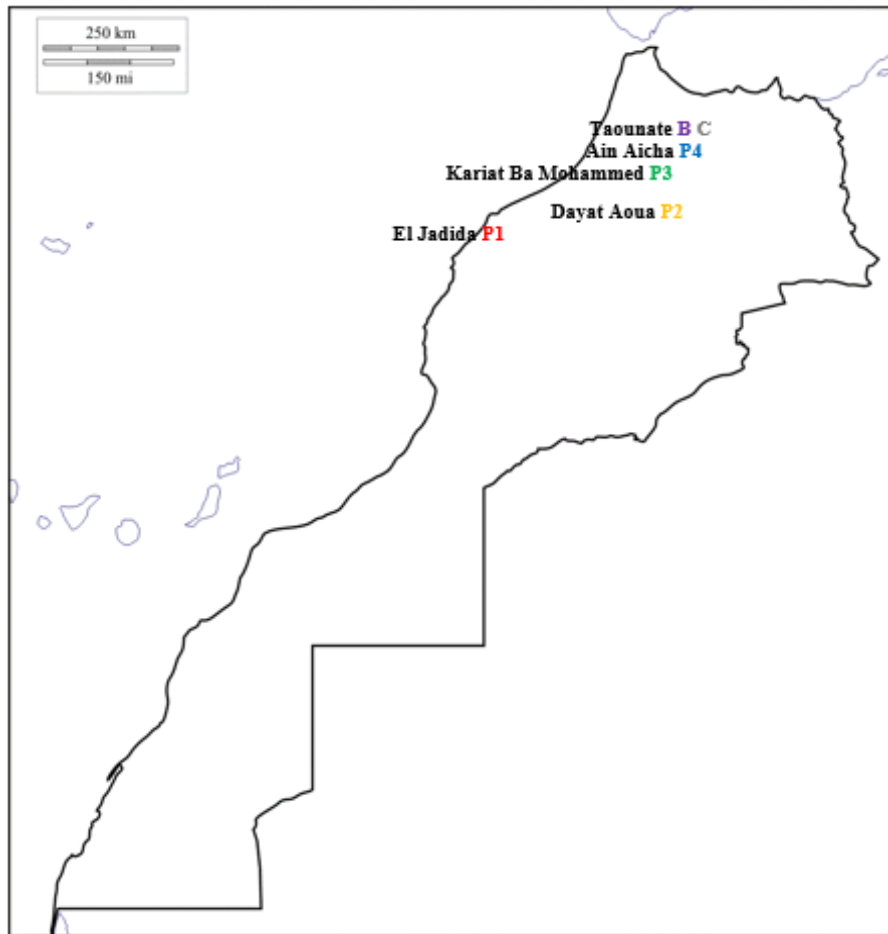


Figure 8: Carte de la situation géographique des points de prélèvement

- Echantillon P1 : Eau d'un puits situé dans un élevage avicole (province d'El Jadida)
- Echantillon P2 : Eau d'un puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua
- Echantillon P3 : Eau d'un puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed
- Echantillon P4 : Eau d'un puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha
- Echantillon B : Eau d'un bassin d'eau, alimenté depuis l'Oued Sebou, situé dans un élevage avicole (province de Taounate).
- Echantillon C : Eau d'un château d'eau, alimenté depuis l'Oued Sebou situé dans un élevage avicole (province de Taounate).

Les échantillons d'eau ont été prélevés dans des flacons stériles et transportés dans une glacière (4°C) directement au laboratoire. Les analyses microbiologiques et physico-chimiques ont été effectuées dans les 24 heures qui suivent les prélèvements.

3. Analyses microbiologiques

La flore totale, les coliformes totaux et fécaux, les staphylocoques, les salmonelles, les bactéries anaérobies et la charge fongique, ont été dénombrés sur milieu gélosé. Chaque essai est réalisé en triplicate.

3.1 La flore totale (FMAT)

Le milieu utilisé pour la culture et le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) est le milieu PCA (Plate Count Agar) (Biokar) (annexe 1). Un millilitre de l'échantillon d'eau à analyser est transféré dans les boîtes de Petri stériles. Le milieu est ensuite coulé dans les boîtes (environ 20 ml par boîte) et homogénéisé et les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

3.2 Les coliformes totaux et fécaux

Le milieu utilisé pour la culture et le dénombrement des coliformes est la gélose lactosée au désoxycholate (Biokar) (annexe 1). Un millilitre de l'échantillon d'eau à analyser est déposé dans les boîtes de Petri stériles. Le milieu est ensuite coulé dans les boîtes (environ 20 ml par boîte) et homogénéisé. Les boîtesensemencées sont ensuite incubées à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux. Les colonies rouges de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm après 24 d'incubation sont considérées comme caractéristiques.

3.3 Les staphylocoques

Pour la culture et le dénombrement des staphylocoques, le milieu CHAPMAN au mannitol (Biokar) (annexe 1) a été utilisé. Un millilitre de l'échantillon d'eau est déposé dans les boîtes de Petri stériles. Le milieu est ensuite coulé dans les boîtes (environ 20 ml par boîtes) et homogénéisé et les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 44 heures. Les colonies jaunes entourées d'une auréole jaune sont considérées comme caractéristiques

3.4 Les salmonelles

Pour le dénombrement et la culture des salmonelles, le milieu utilisé est le Wilson-Blair agar (Biokar) (annexe 1). Un millilitre de l'échantillon d'eau à analyser est déposé dans des boîtes de Petri stériles. Le milieu est ensuite coulé dans les boîtes (environ 20 ml par boîte). Après homogénéisation, les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les

colonies noires à reflets métalliques et verdâtres à brunâtres sont considérées comme caractéristiques.

3.5 Les Bactéries sulfito-réductrices (*Clostridium perfringens*)

Pour la culture des bactéries anaérobies (*C. perfringens*), le milieu TSC (Tryptone Sulfite Cycloserine Agar) (Biokar) (annexe 1) a été utilisé. Un millilitre de l'échantillon d'eau est déposé dans les boîtes de Petri stériles. Le milieu TSC est ensuite coulé dans les boîtes et homogénéisé. Les boîtesensemencées sont incubées en jarre d'anaérobiose pendant 24 heures à 37°C en présence d'un mélange gazeux d'hydrogène (H₂) et de dioxyde de carbone (CO₂). Les colonies noires sont considérées comme caractéristiques.

3.6. Analyses parasitaires

Concernant le test de l'activité antiparasitaire, le comptage des cellules parasites se fait sous microscope à l'aide d'une cellule de Malassez. Une microgoutte de l'échantillon (10µl) d'eau est déposée entre lame et lamelle et le nombre de cellules dans 10 rectangles est compté. L'essai est réalisé en triplicate.

3.7. La charge fongique

Le milieu utilisé pour la culture et le dénombrement des levures et des moisissures est le milieu Sabouraud additionné de Chloramphénicol (Biokar) (annexe 1). Il est coulé dans les boîtes de Petri stériles (environ 20 ml par boîte). 100 µl de l'échantillon d'eau à analyser sont transférés sur le milieu Sabouraud gélifié puis étalés en surface à l'aide d'un étaleur en verre stérile. Les boîtesensemencées sont ensuite incubées à 27°C pendant 3 à 5 jours.

4. Etude statistique

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sont exprimés par la moyenne et l'écart type. La significativité des résultats est vérifiée par le test de STUDENT en utilisant le SigmaStat 4.0. Le seuil de signification choisi est de 5 % à $P < 0,05$.

5. Analyses physico-chimiques des échantillons d'eau

Les analyses physico-chimiques effectuées sont : le pH, la dureté de l'eau, le dosage des nitrates et des nitrites et le dosage des métaux lourds.

5.1 Le pH

Le pH de l'échantillon aqueux a été mesuré juste après ajout du NP Boisson® à l'aide d'un pH-mètre (HANNA instruments). Un étalonnage de l'appareil par le biais d'une solution tampon précède la mesure.

5.2 Dosage des nitrates et nitrites

Les nitrates et les nitrites ont été déterminés par la méthode colorimétrique juste après ajout du NP Boisson® en utilisant un spectrophotomètre (J.P.SELECTA, s.a).

5.3 Dureté de l'eau

La dureté de l'eau définie par la concentration en calcium et en magnésium a été déterminée par la technique de la spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS).

5.4 Dosage des métaux lourds

Le dosage des métaux lourds (aluminium, arsenic, cadmium, chrome, cuivre, fer, nickel, plomb, sélénium et zinc) a été effectué par la technique de la spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS) (Cité d'innovation et transfert technologique de Fes).

Résultats

1. Analyses microbiologiques

1.1 La flore totale

La figure 9 représente la variation de la charge de la flore mésophile aérobies totale (FMAT) des différents échantillons des eaux testés (P1, P2, P3, P4, B et C) en fonction de la concentration du NP Boisson[®] utilisé pour le traitement.

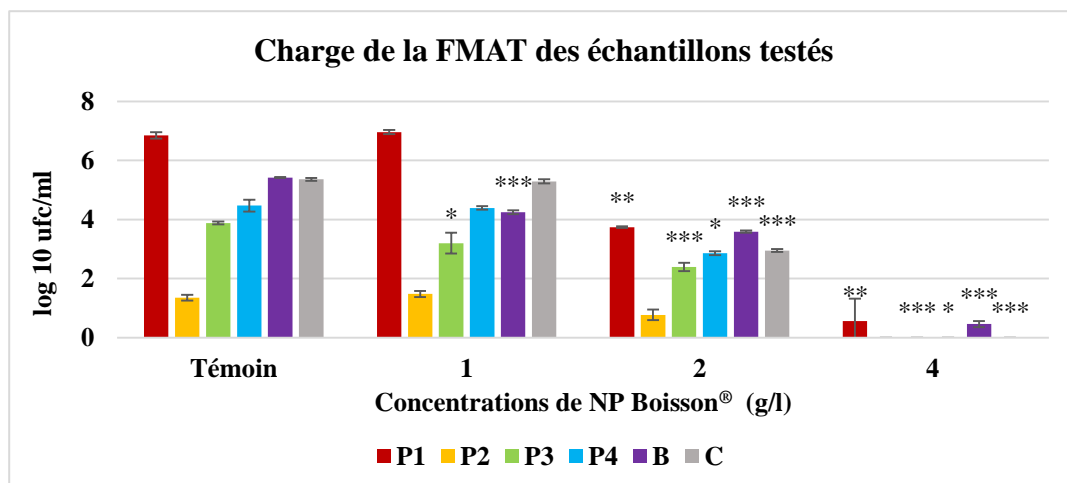


Figure 9 : Variation de la charge de la FMAT en fonction de la concentration du NP Boisson[®]

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; *P2* : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; *P3* : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; *P4* : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; *B* : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; *C* : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ par rapport au témoin)

Concernant l'échantillon P1, nous avons noté une réduction significative ($p < 0,05$) de la FMAT en utilisant la concentration de 2g/l. Une baisse plus importante de la charge de la FMAT a été constatée après traitement par la concentration de 4g/l, et ce d'une manière significative ($p < 0,05$).

Pour l'échantillon P2, une diminution de la charge a été obtenue suite au traitement par la concentration 2g/l. Tandis que, le traitement par 4g/l a permis une destruction totale de la flore. Un faible abattement a été obtenu après traitement de l'échantillon P3 par 1g/l, mais les traitements par 2g/l et 4g/l ont permis l'obtention d'une réduction significative ($p < 0,05$) de la FMAT.

Le traitement de l'échantillon P4 par la concentration de 2g/l a permis l'obtention d'une réduction de la charge FMAT. La concentration 4g/l a provoqué la disparition totale de la FMAT.

Concernant l'échantillon B, le traitement par la concentration de 1g/l a permis d'enregistrer une diminution de la FMAT. Une réduction plus significative ($p < 0,05$) a été notée pour la concentration de 2g/l. Cependant, la plus importante baisse de la charge FMAT a été constatée après traitement par 4g/l d'une façon toujours significative ($p < 0,05$).

Pour l'échantillon C, un abattement significatif de la charge ($p < 0,05$) a été observé pour 2g/l. La concentration 4g/l a permis d'obtenir une destruction complète de la FMAT.

1.2 Les coliformes totaux

La figure 10 montre les résultats de l'effet de NP Boisson® sur la charge en coliformes totaux des différents échantillons d'eaux testées. Les échantillons P1, P3 et P4 se caractérisaient initialement par l'absence des coliformes totaux.

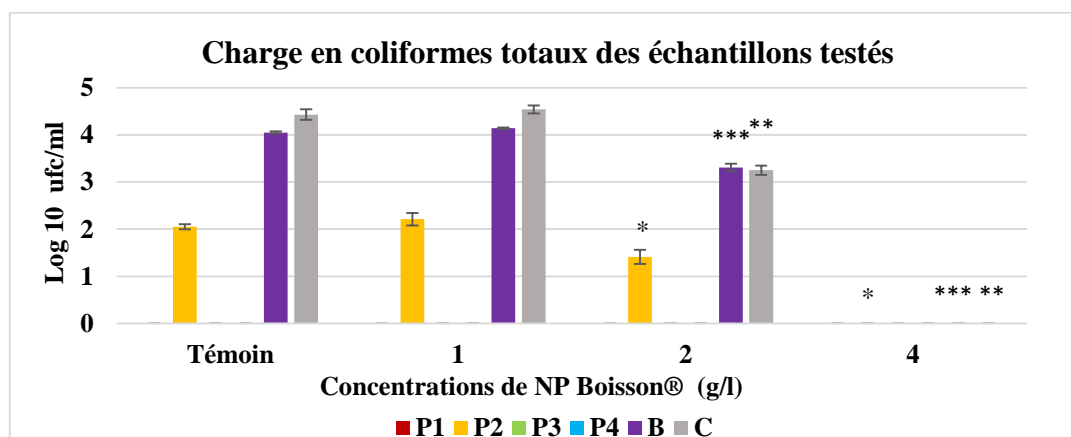


Figure 10 : Variation de la charge de coliformes totaux en fonction de la concentration du NP Boisson®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; ($p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ par rapport au témoin)*

Pour l'échantillon P2, on note une réduction significative pour la concentration de 2g/l et une inhibition à 4g/l.

Les deux échantillons B et C se caractérisent par la présence initiale d'une forte charge en coliformes totaux. Pour l'échantillon B, un abattement significatif ($p < 0,05$) des coliformes totaux a été noté pour la concentration de 2g/l et une disparition totale pour la concentration de 4g/l.

De même pour l'échantillon C, une réduction significative ($p < 0,05$) de la charge en coliformes totaux a été constatée pour la concentration de 2g/l. Le traitement par 4g/l a été capable de détruire totalement les coliformes présents.

1.3 Les coliformes fécaux

La figure 11 présente la variation de la charge en coliformes fécaux des différents échantillons d'eau testés en fonction de la concentration du traitement. Les échantillons P1, P3 et P4 se sont distingués par l'absence initiale d'une contamination fécale.

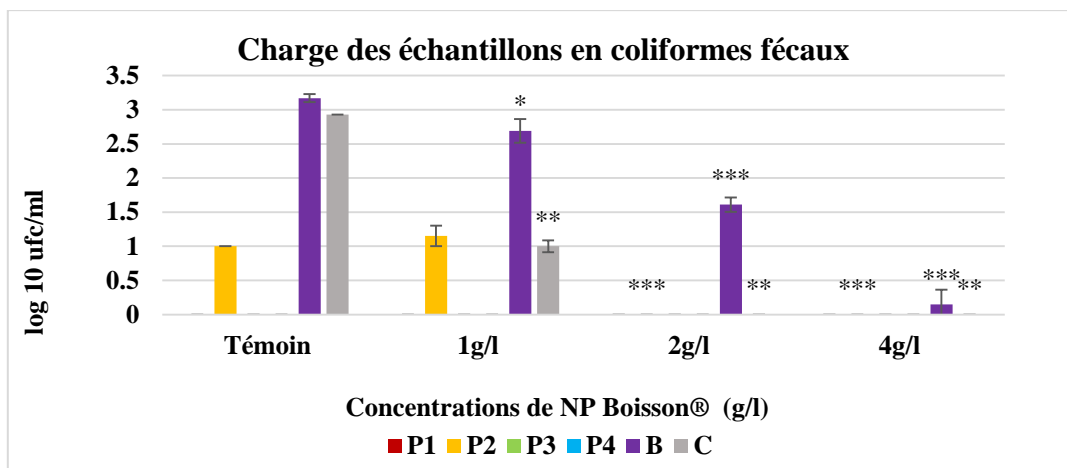


Figure 11 : Variation de la charge de coliformes fécaux en fonction de la concentration du NP Boisson®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; ($p < 0,05$; ** $p < 0,01$ par rapport au témoin)*

Pour l'échantillon P2, une destruction totale de coliformes fécaux a été remarquée pour les concentrations 2 g/l et 4 g/l de NP Boisson®.

L'échantillon B se caractérise par la présence d'une importante charge en coliformes fécaux. Cette dernière diminue d'une manière significative ($p < 0,05$) en fonction de l'augmentation de la concentration du NP Boisson®.

Pour l'échantillon C, la charge est réduite en fonction de la concentration. Une disparition totale a été constatée après traitement par 2 g/l et par 4 g/l.

1.4 Les staphylocoques

La figure 12 représente la variation de la charge en staphylocoques des différents échantillons testés.

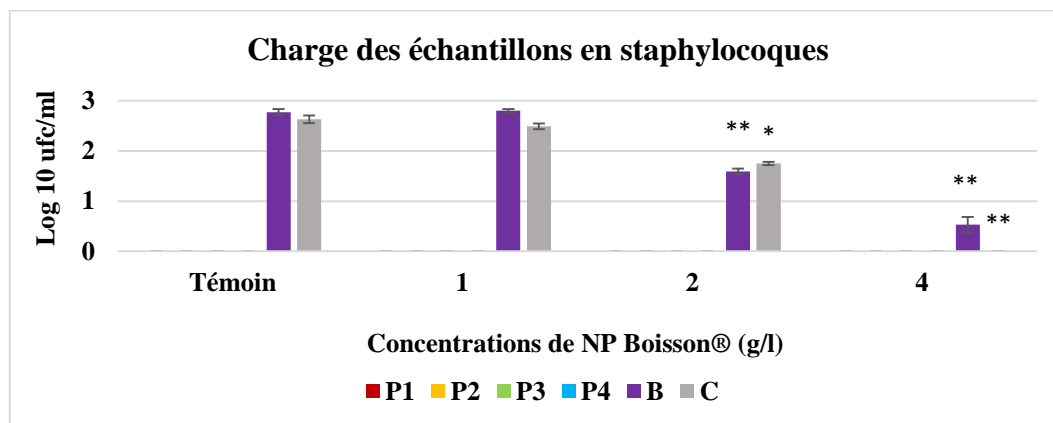


Figure 12 : Variation de la charge en staphylocoques en fonction de la concentration du NP Boisson®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; ($p < 0,05$; ** $p < 0,01$ par rapport au témoin)*

Les échantillons P1, P2, P3 et P4 se caractérisaient par l'absence totale initiale des staphylocoques. On remarque pour les deux échantillons B et C, une réduction de la charge en staphylocoques en fonction de la dose du traitement utilisé. Cette diminution est significative ($p < 0,05$) pour la concentration 2 g/l et elle est totale pour la concentration de 4 g/l en NP Boisson® pour l'échantillon C.

1.5 Les salmonelles

L'effet du traitement sur les différents échantillons est représenté sur la figure 13.

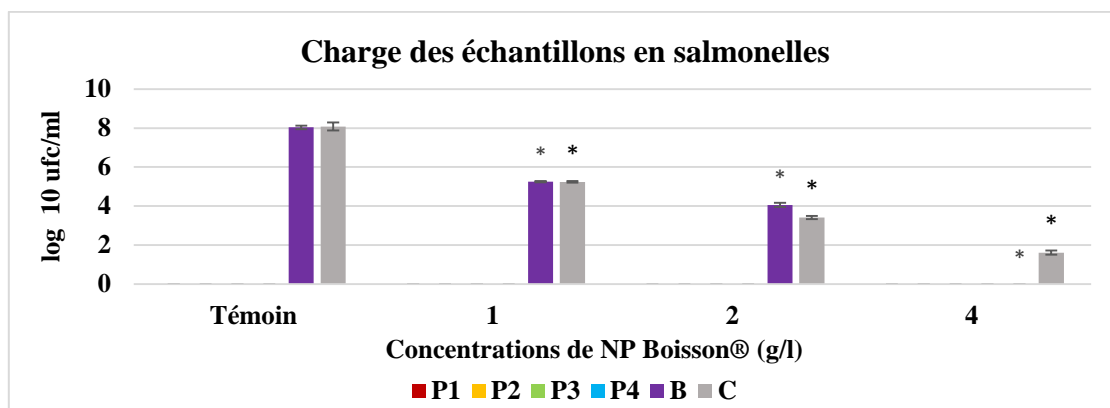


Figure 13 : Variation de la charge en salmonelles en fonction de la concentration NP Boisson®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; ($p < 0,05$ par rapport au témoin)*

La présence de salmonelles n'a été détectée que dans les deux échantillons B et C. Une réduction significative ($p < 0,05$) de la charge de l'échantillon B est obtenue en fonction de l'augmentation de la concentration du traitement. A 4g/l on assiste aussi à une disparition totale des salmonelles. De même pour l'échantillon C, la charge a été réduite d'une manière significative ($p < 0,05$) en fonction de la dose appliquée. La concentration de 4g/l a permis également l'obtention d'une baisse de la charge encore plus importante par rapport au témoin, mais n'a pas éliminé complètement les salmonelles.

1.6 Les Bactéries sulfito-réductrices (*Clostridium perfringens*):

La figure 14 représente la variation de la charge en *C. perfringens* des différents échantillons d'eau testés en fonction de la concentration du traitement par le NP Boisson® utilisé.

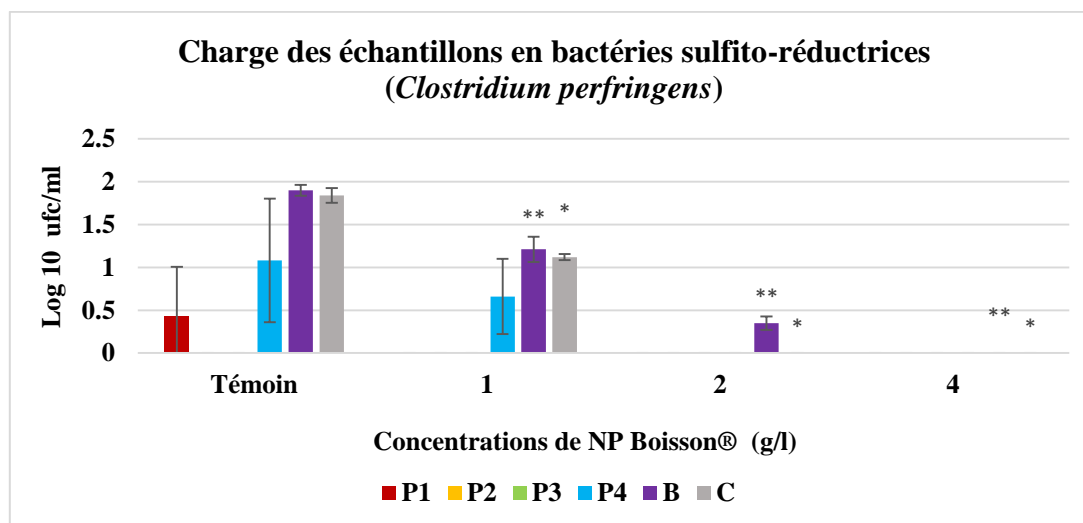


Figure 14: Variation de la charge en bactéries sulfito-réductrices (*Clostridium perfringens*) en fonction de la concentration du NP Boisson®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; *P2* : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; *P3* : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; *P4* : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; *B* : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; *C* : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ par rapport au témoin)

On note dès le début, une absence totale du *C. perfringens* pour les échantillons P2 et P3. L'échantillon P1 se caractérise par une faible charge de *C. perfringens*. Le traitement par le NP Boisson® à 1g/l seulement était suffisant pour éliminer complètement *C. perfringens* dans cette eau.

Le traitement de l'échantillon P4 par la concentration 1g/l a permis également l'obtention d'une réduction de la charge bactérienne, alors qu'une destruction totale a été constatée pour les concentrations 2 et 4g/l.

En ce qui concerne les échantillons B et C, on note une réduction significative ($p < 0,05$) de la charge en *C. perfringens*. Cette réduction s'accroît au fur et à mesure que la concentration du NP Boisson® augmente. La concentration avec laquelle la disparition totale est obtenue est de 4g/l de NP Boisson® pour l'échantillon B et de 2g/l NP Boisson® pour l'échantillon C.

1.7 La charge en protozoaires

La variation de la charge en protozoaires des différents échantillons analysés (P1, P2, P3, P4, B et C) est représentée sur la figure 15.

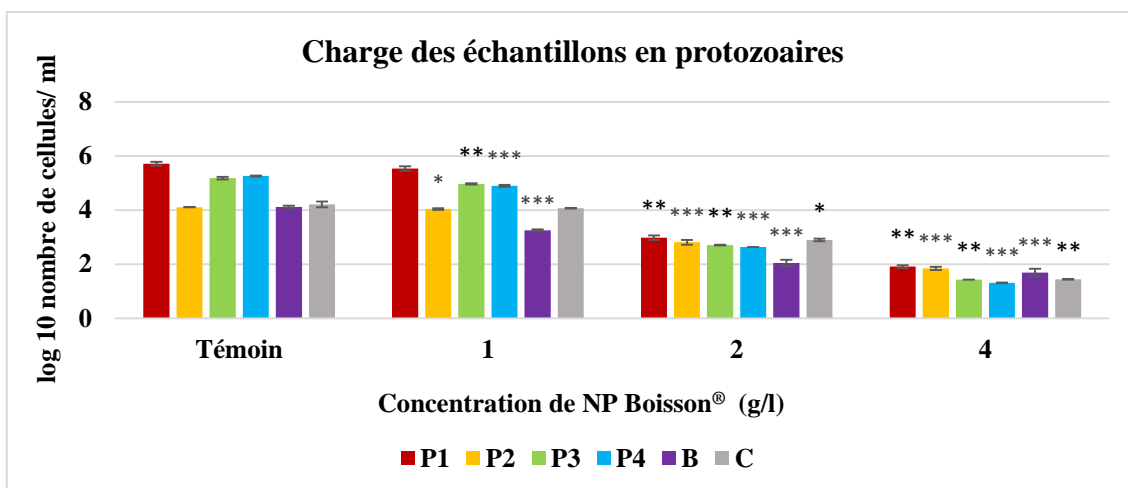


Figure 15 : Variation de la charge en protozoaires en fonction de la concentration du NP Boisson®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; *P2* : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; *P3* : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; *P4* : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; *B* : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; *C* : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ par rapport au témoin)

Dans les échantillons P2, P3, P4 et B, on note une réduction significative ($p < 0,05$) de la charge parasitaire après traitement avec la concentration 1 g/l. Le traitement par les deux concentrations 2 et 4 g/l a permis d'obtenir une réduction plus importante. Une réduction significative de la charge en protozoaires des deux échantillons P1 et C a été constatée après traitement par 2 g/l et 4g/l.

1.8 La charge fongique

La figure 16 représente la variation de la charge fongique des différents échantillons en fonction de la concentration utilisée.

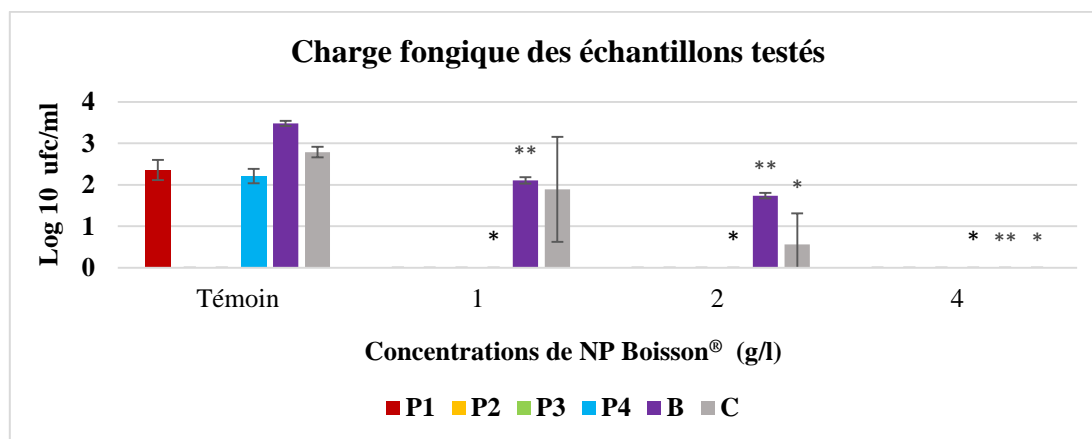


Figure 16 : Variation de la charge fongique en fonction de la concentration du NP Boisson®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; *P2* : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; *P3* : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; *P4* : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; *B* : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; *C* : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$)

Les échantillons P1, P4, B et C se caractérisent par une importante charge fongique, tandis que les échantillons P2 et P3 en sont exempts. Le traitement des deux échantillons P1 et P4 par le NP Boisson® à la concentration 1 g/l seulement a provoqué une destruction complète de la microflore fongique.

Un abattement significatif ($p < 0,05$) de la charge fongique de l'échantillon B a été obtenu également avec la concentration 1 g/l. Une réduction encore plus significative ($p < 0,05$) a été notée après traitement par 2 g/l et la disparition de la charge fongique est totale après traitement par 4 g/l.

Le traitement de l'échantillon C par les concentrations de 1 g/l et 2 g/l a permis d'obtenir une réduction de la charge, mais de façon non significative ($p > 0,05$) pour la concentration de 1 g/l. Une destruction totale de la charge fongique de l'échantillon C a été constatée après traitement par 4 g/l.

2. Analyses physico-chimiques

2.1 pH

La variation du pH des différents échantillons analysés est représentée sur la figure 17.

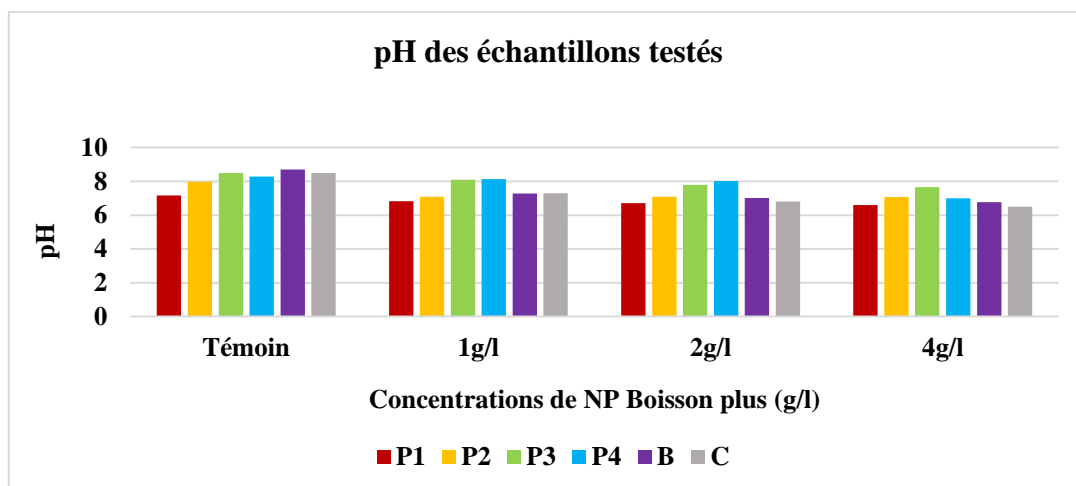


Figure 17 : Variation du pH des différents échantillons en fonction de la concentration du NP Boisson plus®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate

Le pH des différents échantillons d'eau avant tout traitement est légèrement alcalin; la valeur maximale du pH a été enregistrée pour l'échantillon B (8,7) et la valeur minimale pour l'échantillon P1 (7,16).

Pour la totalité des échantillons, les pH ne diminuent que faiblement lorsque la concentration du NP Boisson plus® augmente.

2.2 Les nitrite et les nitrates

La variation de la teneur en nitrates et nitrites des différents échantillons analysés est représentée sur les figures 18 et 19.

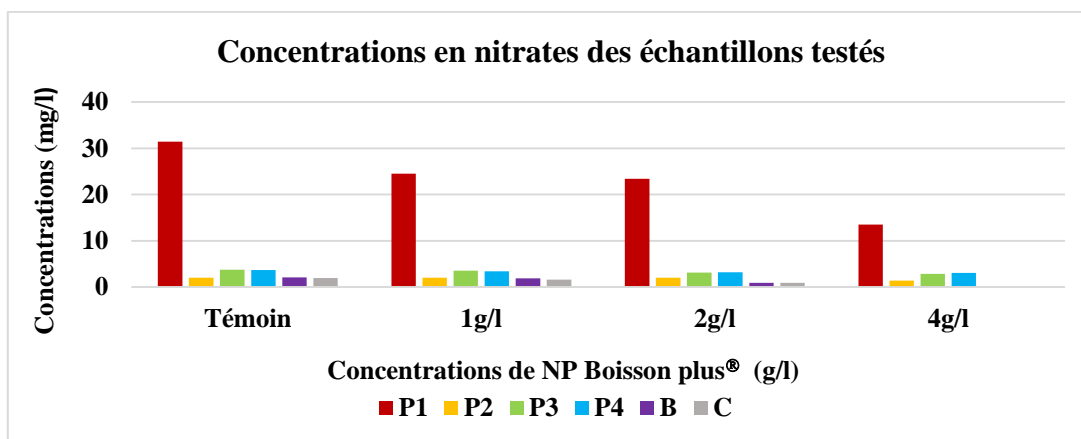


Figure 18 : Variation de la concentration des nitrates en fonction de la concentration du NP Boisson plus®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate

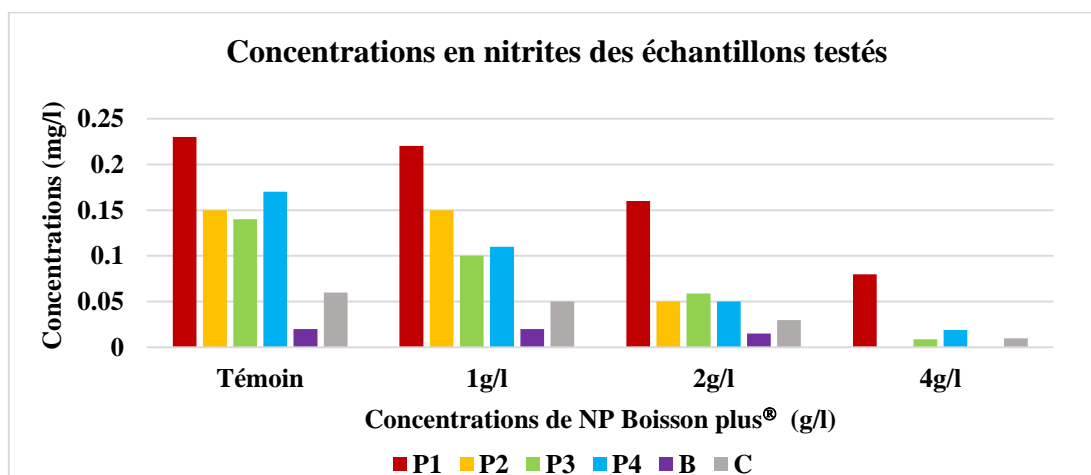


Figure 19: Variation de la concentration des nitrites en fonction de la concentration du NP Boisson plus®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate;

Avant tout traitement le taux des nitrates est faible sauf pour l'échantillon P1 où le traitement par le NP Boisson plus® a permis de réduire la concentration des nitrates d'une manière dose dépendante.

Pour les teneurs en nitrites, les valeurs sont beaucoup plus faibles et varient entre 0,02 mg/l pour l'échantillon B et 0,23 mg/l pour l'échantillon P1. L'application du NP Boisson plus®, a permis d'obtenir une réduction des nitrites qui s'accroît en fonction de la concentration du NP Boisson plus®. Les meilleurs taux de réduction en nitrites sont obtenus avec la concentration 4g/l.

2.3 Dureté totale de l'eau

La dureté totale d'une eau correspond à la somme de sa dureté calcique et de sa dureté magnésienne. Les variations de la dureté de l'eau, exprimée en concentrations de calcium et de magnésium, après traitement des différents échantillons, sont représentées sur les figures 20 et 21.

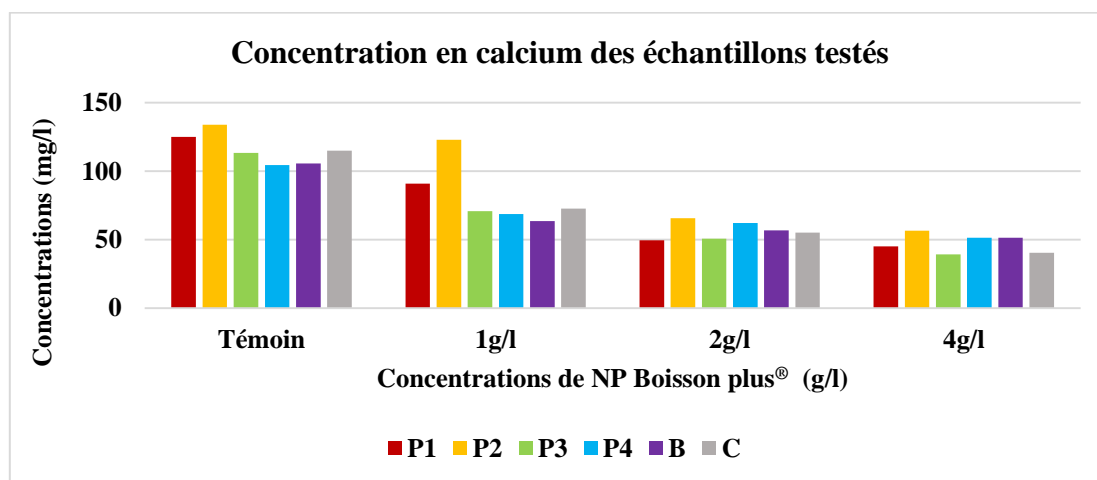


Figure 20 : Variation de la concentration du calcium en fonction de la concentration du NP Boisson Plus®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate ; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate

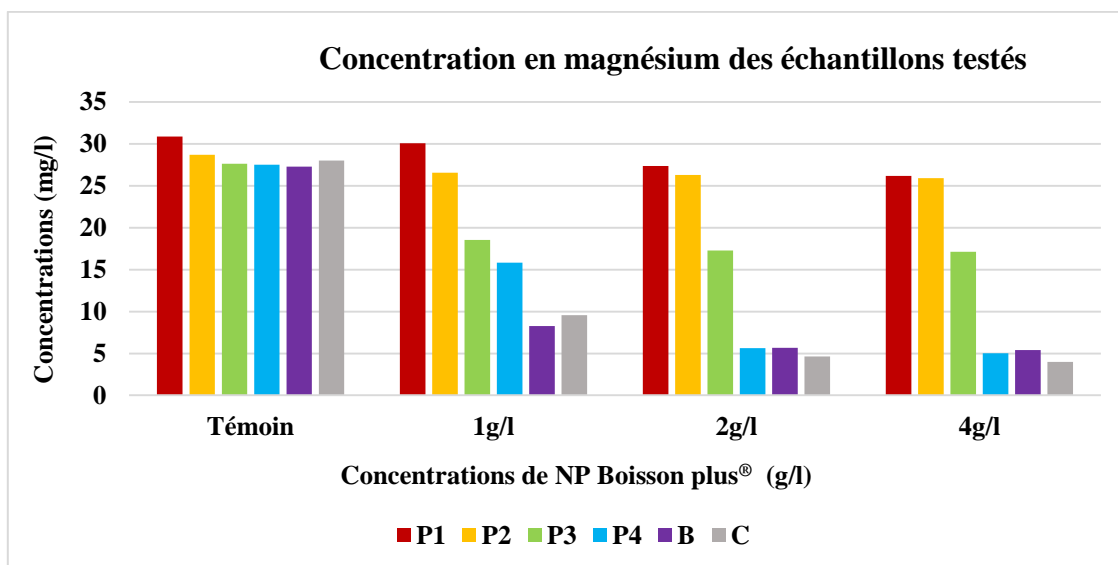


Figure 21 : Variation de la concentration du magnésium en fonction de la concentration du NP Boisson plus®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate ; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate

Avant tout traitement, la concentration en calcium (Ca) chez les témoins varie entre (104,49 mg/l) pour l'échantillon P4 et (133,92 mg/l) pour l'échantillon P2. L'application du traitement a permis d'obtenir une réduction très importante du taux de Ca. Cette réduction est d'autant plus importante que de la concentration du NP Boisson plus® est grande. Les meilleurs taux de réduction sont obtenus avec la concentration de 4g/l.

La variation de la concentration en magnésium (Mg) des différents échantillons avant tout traitement montre que les teneurs varient entre 27,27 mg/l pour l'échantillon B et 30,87 mg/l pour l'échantillon P1. L'application du traitement a permis également l'obtention d'une réduction du taux de Mg d'une manière dose dépendante.

2.4 Les métaux lourds :

L'analyse par spectrométrie de masse à plasma couplé à un plasma inductif (ICP-MS) des échantillons hydriques analysés a révélé la présence de certains métaux lourds dans les échantillons d'eaux analysés à de très faibles concentrations (inférieures au seuil de détection

(<0,01 mg/l)). Ces derniers sont : l'aluminium, l'arsenic, le cadmium, le cuivre, le nickel, le plomb et le sélénium.

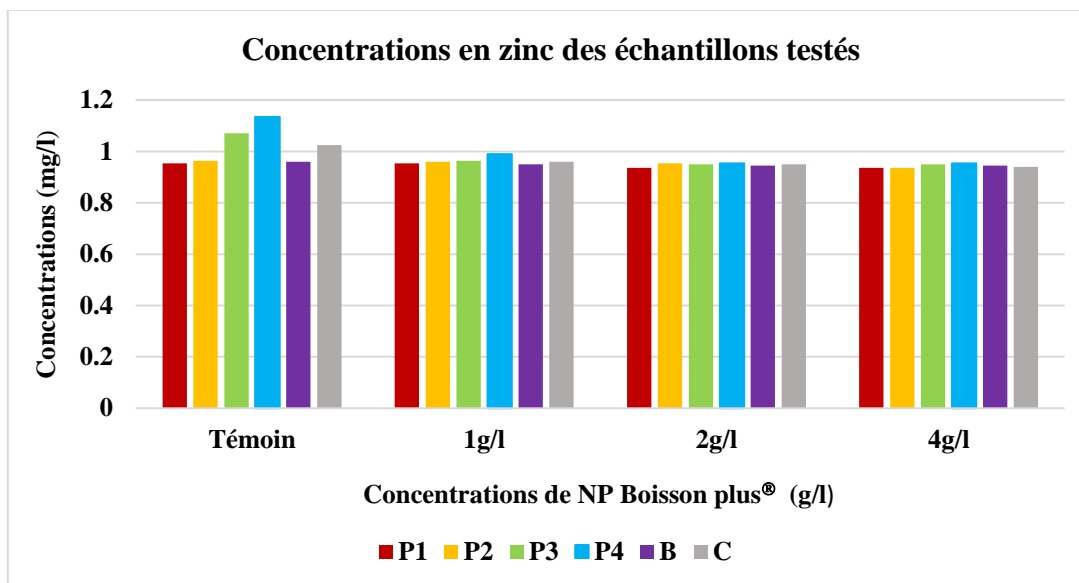


Figure 22: Variation de la concentration du zinc en fonction de la concentration du NP Boisson plus®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ;

P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate ; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate

Avant tout traitement, la concentration initiale en zinc (Zn) des différents échantillons hydriques varie très peu d'un échantillon à l'autre (entre 0,954 mg/l et 1,134 mg/l). Après application du NP Boisson plus®, une très légère diminution de la teneur en Zn a été notée pour les échantillons P3 et P4.

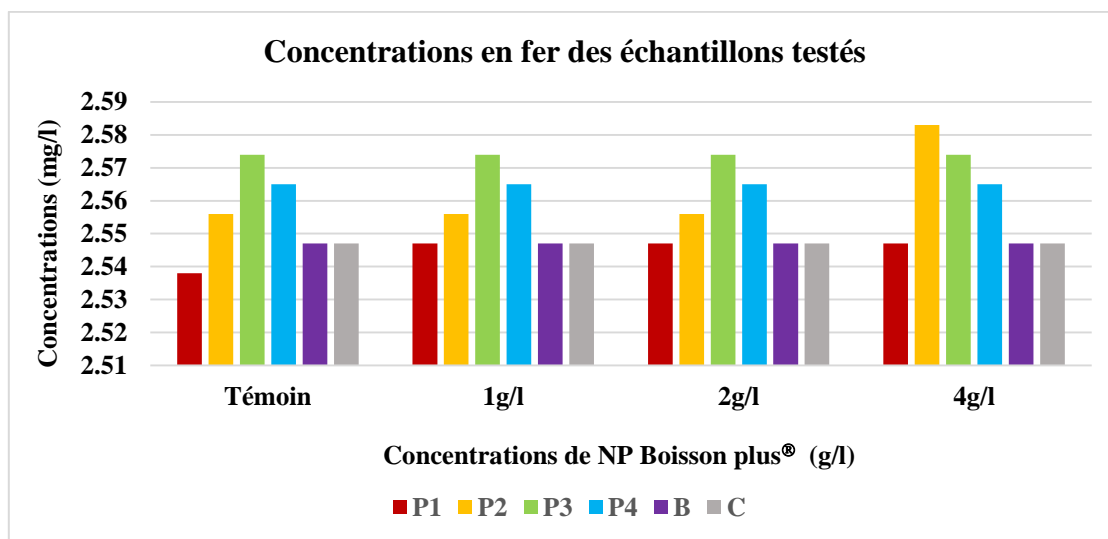


Figure 23 : Variation de la concentration du fer en fonction de la concentration du NP Boisson plus®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate ; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate

Les teneurs en Fer (Fe) des différents échantillons varient entre 2,537 mg/l (P1) et 2,574 mg/l (P3). Aucune réduction n'a été remarquée après l'application des différentes concentrations du NP Boisson plus®. Cependant, une faible augmentation de la concentration en Fe a été notée pour l'échantillon P2 après traitement par 4 g/l.

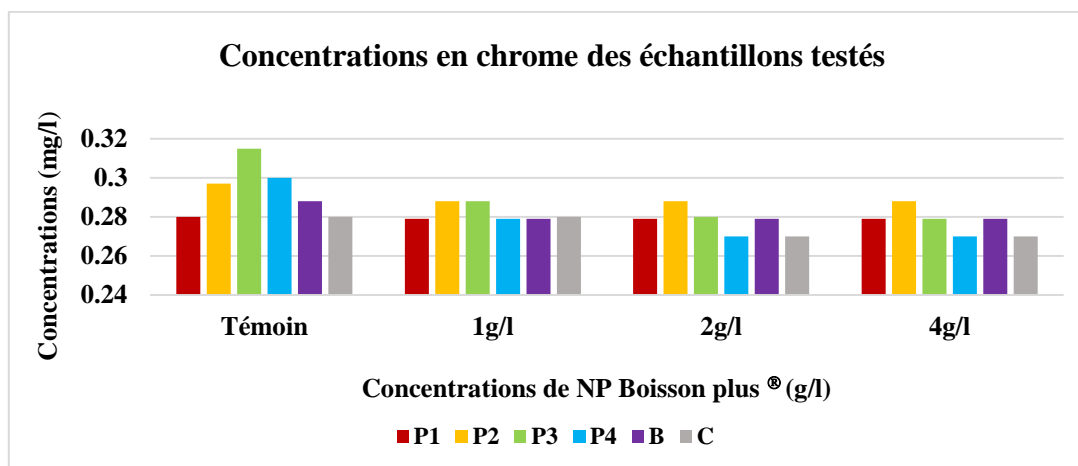


Figure 24 : Variation de la concentration du chrome en fonction de la concentration du NP Boisson plus®

P1 : Puits situé dans un élevage avicole dans la province d'El Jadida ; P2 : Puits situé dans la commune rurale de Dayat Aoua ; P3 : Puits situé dans la commune rurale de Kariat Ba Mohammed ; P4 : Puits situé dans la commune rurale d'Ain Aicha ; B : Bassin d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate; C : Château d'eau alimenté depuis l'Oued de Sebou situé dans un élevage avicole dans la province de Taounate

La concentration maximale initiale en Chrome (Cr) varie de 0,28 mg/l pour les échantillons P1 et C à 0,315 mg/l pour l'échantillon P3. Le traitement par le NP Boisson plus® des échantillons P2, P3, P4 et B à la concentration de 1 g/l a conduit à une réduction de la teneur en Cr.

Discussion

Généralement, les élevages avicoles sont localisés en milieu rural et sont alimentés en eau depuis les sources d'eau, les puits et les ruisseaux. Ces eaux sont souvent chargées en polluants microbiologiques (bactéries, champignons, parasites) et chimiques (nitrates, nitrites, métaux lourds...). Des traitements sont appliqués pour améliorer la qualité de l'eau en utilisant des biocides (chlore, peroxyde d'hydrogène, dioxyde de chlore..), des acides et des agents neutralisants. Ces traitements présentent plusieurs inconvénients dont l'instabilité, la toxicité pour les animaux et le coût relativement élevé.

Le thème principal de notre laboratoire étant l'étude de l'activité antimicrobienne des HE et de leurs composés majoritaires (Rhayour et coll, 2003; Chami F. et coll., 2004; 2005; Chami N. 2004; 2005; 2005), nous avons été sollicité pour trouver une solution alternative aux biocides chimiques utilisés en traitement des eaux d'abreuvement. L'utilisation des HE pour la désinfection d'une eau reste limitée en raison de leur insolubilité, leur volatilité et l'oxydation de leurs constituants dans l'eau (Moretti et coll. 2002). Il existe des agents de dispersion des HE en milieu liquide, tels que les détergents et les solvants (Allegrini et coll, 1973; Benouda, 1982). Remmal et coll. (1993) ont montré par la suite un effet dépréciateur de l'efficacité des HE en utilisant ces détergents (tween 80 et 20 et le triton X 100), et ces solvants (l'éthanol). Notre invention, le NP Boisson[®] qui a fait l'objet d'un dépôt de brevet en France le 18 novembre 2016 (FR 1670691) est une composition sans détergents ni solvants qui se présente sous forme de poudre effervescente et soluble dans l'eau. Le composé majoritaire utilisé dans cette composition est stable par la présence des agents texturants, stabilisants et d'autres composés facilitant sa dispersion une fois en solution. Lorsque l'eau est chargée en polluants chimiques non désirables, des additifs sont rajoutés pour fixer et précipiter ces derniers. Le composé ainsi développé est nommé le NP Boisson plus[®].

Dans cette partie de travail, l'approche expérimentale s'est caractérisée par la réalisation des prélèvements d'eau dans des élevages avicoles qui souffrent d'une détérioration de la qualité de l'eau d'abreuvement. Les eaux testées ont été prélevées depuis quatre puits différents, un château d'eau et un bassin de distribution de l'eau dans les bâtiments d'élevage avicole. Les analyses microbiologiques de ces eaux ont révélé leur contamination par différents micro-organismes (coliformes, anaérobies sulfite-réducteurs, staphylocoques, salmonelles, champignons et protozoaires) avec des charges qui varient d'un échantillon à l'autre. Les

proportions des contaminants chimiques (nitrates, nitrites, dureté, métaux lourds) varient en fonction de la source d'eau.

Les différents échantillons d'eau ont été traités *in vitro* par des doses croissantes de NP Boisson® à 1, 2 et 4 g/l. Dans un premier temps nous avons testé l'effet du produit sur la réduction de la FMAT, qui est un indicateur fiable de la qualité microbiologique d'une eau d'abreuvement. Il s'est avéré que les échantillons d'eaux souterraines comme les eaux de surfaces, présentent une charge importante en FMAT qui varie entre **10² et 10⁷** UFC/ml. Le traitement de ces eaux par le NP Boisson® a permis de diminuer cette charge d'une manière significative à partir de la concentration de 1g/l. Cette réduction permet de passer d'une charge **de 10⁵ à 10⁴** (réduction de 99% à 99,9%). Les résultats montrent aussi qu'après traitement de ces eaux à la concentration de 4g/l de NP Boisson®, la flore bactérienne aérobie est presque indétectable. L'effet inhibiteur s'explique par le fait que le thymol appartient à l'un des terpènes les plus efficaces contre les bactéries (Broudiscou et al., 2007, Lee et al., 2004, Ouwehand et al., 2010).

L'efficacité du traitement par le NP Boisson® observée sur la charge FMAT est confirmée sur les différents groupes bactériens d'intérêt hygiéniques: coliformes totaux et fécaux, staphylocoques et salmonelles. Ainsi, sur toutes ces flores, le NP Boisson®, produit à base du thymol, provoque une réduction significative de la charge à partir de la concentration de 1g/l et une inhibition presque totale à la concentration de 4g/l. Ouwehand et al. (2010) ont testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de thym sur *E. coli* à des doses relativement faibles (5 and 50 mg/l), et ils ont noté une réduction de la charge d'*E.coli*. La sensibilité des staphylocoques au thymol a été démontrée dans les travaux de Burt, 2004 et Nostro et al., 2007.

Les analyses microbiologiques de l'eau de boisson effectuées par les éleveurs se limitent à la flore aérobie. Nous nous sommes demandés si les maladies de la volaille dont se plaignaient les éleveurs n'étaient pas dues également aux bactéries anaérobies comme l'entérite nécrotique provoquée par *C. perfringens*, ou des parasites qui provoquent la coccidiose et la cryptosporiose. Une autre analyse de ces eaux à la recherche de ces pathogènes anaérobies et parasitaires montre qu'au moins trois échantillons sur les six testés étaient chargés en *C. perfringens*, avec une charge qui varie entre 30 et 81 UFC/ml. Ce qui représente un risque important pour les animaux selon les normes, qui fixe 10 UFC dans 20 ml comme charge maximale tolérée dans l'eau (Travel, 2007). Les résultats montrent que le NP Boisson® est aussi

efficace sur *C. perfringens* que sur les bactéries aérobies. Une réduction de 90% a été obtenue à la dose de 1g/l et, à la dose de 2g/l de NP Boisson[®], les germes deviennent quasiment indétectables. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Broudiscou et al., 2007 et Ouwehand et al., 2010), qui ont montré que le thymol inhibe le développement de nombreuses bactéries pathogènes responsables d'entérites nécrotiques, dont *C. perfringens*.

Le comptage au microscope des différents échantillons d'eaux testées a montré aussi une très forte charge en *oocystes* de protozoaires de différentes tailles avec une dominance de petits *oocystes* de la taille de *Cryptosporidium*. Cette charge est de l'ordre de 10^4 à 10^5 *oocystes*/ml. Le traitement de ces eaux au NP Boisson[®] montre qu'à partir de la concentration de 1g/l, on assiste à une réduction significative de ces *oocystes*. Cette réduction est plus importante à la dose de 2g/l de NP Boisson[®]. Elle est de l'ordre de 3 à 4 unités logarithmiques.

A côté de la charge bactérienne et celle en protozoaires, nous avons jugé utile d'étudier aussi la charge fongique totale sachant que les champignons (levures et moisissures) peuvent aussi être transmis par l'eau d'abreuvement et affecter la santé des animaux à cause des mycotoxines élaborées par divers espèces de champignons (Al-Gabr et coll, 2014). Les résultats obtenus montrent que sur les six échantillons d'eaux testés, quatre présentent une charge fongique non négligeable d'environ 10^2 à 10^3 UFC/ml. Le traitement de ces eaux par le NP Boisson[®] a provoqué une réduction significative de la charge fongique à partir de la concentration de 1g/l. La réduction de la charge fongique est fonction de la concentration du traitement. La flore fongique est totalement détruite à 4g/l.

Les résultats des analyses microbiologiques des eaux d'abreuvement avicole montrent que les éleveurs utilisent une eau fortement chargée en bactéries, aérobies et anaérobies, en parasites protozoaires et en champignons. Cette charge microbienne de l'eau contribue sûrement au développement des maladies qui attaquent la volaille. La présence simultanée de ces différents germes pathogènes exerce forcément une forme de stress continu sur le système immunitaire des animaux d'élevage comme l'a démontré Olkowski en 2009 et Dennery et coll. en 2012. Nos résultats montrent que le NP Boisson[®] à la dose de 1g/l permet une réduction significative de la charge de tous les germes analysés. Cette importante diminution permettrait probablement de maintenir la charge des eaux testées à un niveau faible, ce qui limiterait par conséquent l'apparition d'infections subcliniques. De plus, avec une charge intestinale plus faible, le système immunitaire de ces animaux peut mieux combattre ces germes.

Puisque les caractéristiques physico-chimiques font partie des critères de qualité de l'eau, nous avons analysé certains paramètres physico-chimiques de ces eaux avant et après traitement au NP Boisson plus[®]. Ces paramètres sont le pH, la concentration en nitrites et en nitrates, la dureté et les teneurs en métaux lourds. Les résultats relatifs aux caractéristiques physico-chimiques montrent que les différents échantillons testés sont plus ou moins conformes aux normes. Cependant, nous avons quant même essayé de voir l'effet du NP Boisson plus[®] sur les paramètres physico-chimiques de ces eaux.

D'après les résultats obtenus, le NP Boisson plus[®] ne modifie que très peu le pH et la teneur en fer des eaux traitées, alors qu'il provoque une réduction de la teneur en nitrates et nitrites et en zinc et chrome à partir de la concentration de 1g/l. D'après Olkowski (2009), une eau chargée en nitrates et nitrites présente des effets nocifs sur les performances de production de la volaille. Les résultats montrent aussi une diminution de la dureté des eaux analysées, qui se traduit par une diminution du taux de calcium et de magnésium, ce qui limitera l'apparition des problèmes de colmatage des installations d'abreuvement en élevage avicole (Halls, 2008; Olkowski, 2009). Ces dépôts de calcium et de magnésium favorisent aussi la fixation de micro-organismes sur les parois des tuyauteries et la formation des biofilms (Venne, 2009). La réduction obtenue à partir de la concentration de 1g/l, pour la teneur en nitrites, en zinc et en chrome pourrait s'expliquer par la présence d'un composant, dans la formulation du NP Boisson plus[®], utilisé pour ses propriétés réductrices de pollution chimique de l'eau. Ainsi, sur le plan physico-chimique, l'action du NP Boisson plus[®] se répercute positivement sur la qualité physico-chimique de l'eau d'abreuvement et par conséquent sur la santé des animaux.

Partie 2 :

Evaluation *in vivo* de l'effet de NP Boisson[®] sur l'amélioration des performances zootechniques et le contrôle de la flore intestinale du poulet de chair

Introduction

Dans les élevages avicoles, on a recours à des produits chimiques pour améliorer la qualité de l'eau utilisée en abreuvement. Ces derniers permettent le traitement de l'eau mais n'apportent pas d'amélioration aux performances zootechniques des animaux.

L'utilisation des produits naturels comme alternative aux substances chimiques pour le traitement des eaux d'abreuvement est une nouvelle pratique. Ces produits naturels sont aussi utilisés pour leurs pouvoirs antimicrobien, anti-oxydant et régulateur de la flore intestinale des volailles (Windisch et coll., 2008; Brenes et Roura, 2010).

Les traitements par le NP Boisson[®] expérimentés dans la première partie de ce travail ont permis d'améliorer la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau *in vitro*. L'effet de NP Boisson[®] a été testé sur différents échantillons d'eau de provenances différentes (stagnante et non stagnante) et les résultats étaient satisfaisants. Nous avons pensé que ce produit pourrait être utilisé comme alternative naturelle aux produits chimiques rajoutés habituellement à l'eau en élevage avicole. L'objectif de cette partie consiste à évaluer l'efficacité *in vivo* du traitement de l'eau par le NP Boisson[®] sur la régulation de la charge intestinale du poulet de chair et, par conséquent, l'amélioration des performances zootechniques.

Le présent travail consiste à:

- Faire une comparaison *in vivo* entre l'effet de la consommation de l'eau du robinet (eau de ville), de l'eau d'un réservoir non traitée (élevage avicole) et de la même eau traitée par le NP Boisson[®] à la concentration de (1g/l).
- Evaluer l'effet d'une eau utilisée en abreuvement dans un élevage avant et après traitement par deux concentrations différentes de NP Boisson[®] à 1g/l et 2g/l.
- Mettre en évidence l'effet d'une eau d'abreuvement stagnante non traitée sur les performances zootechniques des poulets de chair et le comparer à celui des eaux stagnantes traitées par le NP Boisson[®] aux deux concentrations 1g/l et 2g/l.

Matériel et méthodes

1. Animaux et conditions d'élevage

1.1 Animaux d'expérience

Les poussins utilisés dans ces expériences sont âgés d'un jour. Ils proviennent d'un couvoir partenaire situé dans la province de Taounate. A leur arrivée, les poussins ont été pesés individuellement, répartis en lots expérimentaux et placés dans des cages séparées.

1.2 Conditions d'élevage

Un nettoyage et une désinfection de l'animalerie et des cages ont précédé l'arrivée des poussins. L'aération a été assurée par un ventilateur qui permet une bonne diffusion de l'air en fournissant l'oxygène nécessaire et le maintien d'un débit constant d'air permettant son renouvellement, tout en éliminant les gaz dégagés par la litière et la vapeur d'eau (respiration des animaux). Au début de l'expérience, la température a été ajustée entre 30 et 33°C, ensuite elle a été réduite de 2 à 3°C chaque semaine pour atteindre 23°C vers la fin de l'expérience. La lumière est assurée par une lampe placée au plafond au centre de l'animalerie. La photopériode est de 12 heures d'obscurité et 12 heures de lumière. Afin d'assurer l'isolement des poussins du contact avec le sol et l'absorption de l'humidité des déjections, des litières formées par un lit d'argile ont été placées dans chaque cage. Au dessus de l'argile, des moustiquaires ont été posées pour faciliter la récupération des fientes. Des mangeoires et des abreuvoirs ont été mis à la disposition des poussins *Ad libitum*. Les animaux sont nourris avec un aliment dit blanc ne contenant ni antibiotiques, ni antiparasitaires. Il a été fourni par la société ALF AL-MAGHRIB. Pendant la phase du démarrage, l'aliment administré était sous forme de miettes. Ensuite au cours des phases de croissance et de finition, il était sous forme de granulés. L'eau d'abreuvement, qu'elle soit traitée ou non, provenait du réservoir de distribution d'eau dans le même élevage partenaire.

2. Analyses microbiologiques de l'eau d'abreuvement

Les méthodes utilisées pour la détermination de la charge microbienne de l'eau d'abreuvement sont détaillées dans la partie précédente. Les charges en bactéries aérobies et anaérobies des

eaux utilisées en abreuvement ont été dénombrées sur milieu gélosé. Le comptage des cellules parasites a été effectué sous microscope à l'aide d'une cellule de Malassez.

3. L'évaluation de la charge intestinale en microorganismes

3.1 La charge bactérienne

L'effet du traitement de l'eau de boisson par le NP Boisson[®] sur la réduction de la charge intestinale de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) et des anaérobies (*C. perfringens*) des animaux a été testé sur les fientes pendant toute la période d'élevage. Tous les sept jours, des échantillons de fientes des différents lots ont été ramassés et solubilisés dans du sérum physiologique NaCl à 9% (à raison de 1g de fientes dans 9 ml de sérum physiologique). Des dilutions sont ensuite préparées à partir de la solution mère.

3.1.1 Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés sont :

- Le milieu Plate Count Agar (PCA) (Biokar) (annexe 1) pour la culture de la FMAT. Ce milieu de culture a été préparé, ensuite coulé dans des boîtes de Petri (90 × 16 mm), puis inoculé avec un volume de 100 µl de l'échantillon de fiente dilué. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. Chaque essai est réalisé en triplicate.
- Le milieu Tryptone Sulfite Cycloserine Agar (TSC) (Biokar) (annexe 1) a été utilisé pour la culture et le test de l'activité antibactérienne des bactéries anaérobies. Un millilitre de l'échantillon de fiente dilué est transféré dans les boîtes de Petri stériles (90×16 mm). Le milieu est ensuite coulé puis parfaitement homogénéisé dans les boîtes. Une fois solidifié, une deuxième couche du milieu est coulée. Les boîtesensemencées sont ensuite incubées en jarre d'anaérobiose pendant 24 heures à 37°C en présence d'un mélange gazeux d'hydrogène et de dioxyde de carbone. Chaque essai est réalisé en triplicate.

3.2 La charge parasitaire

Le comptage des cellules parasites s'est fait sous microscope à l'aide d'une cellule Malassez. Tous les sept jours, des échantillons de fientes des différents lots ont été ramassés et solubilisés dans du sérum physiologique (NaCl à 9%) (1g de fiente dans 9ml du sérum physiologique). Un

volume de 10µl d'échantillon de fiente dilué est déposé entre lame et lamelle. La chambre est laissée reposer quelques minutes, pour que les cellules sédimentent, avant d'être placée sous le microscope. Le nombre de cellules est ensuite compté dans 10 rectangles. L'essai est réalisé en triplicate.

4. Détermination des paramètres zootechniques

L'effet du traitement de l'eau d'abreuvement par le NP Boisson® sur la flore intestinale des animaux, a été évalué en vérifiant les paramètres zootechniques des animaux. Les paramètres étudiés dans cette expérience sont :

4.1 Le poids vif moyen

Les pesées sont effectuées le premier jour, puis à la fin de chaque phase (Démarrage (14jours), croissance (21 jours) et finition (7 jours)). Le poids vif est déterminé comme suit :

$$\text{Poids vif moyen (g)} = \frac{\text{poids de la totalité des poussins d'un lot}}{\text{nombre de poussins de ce lot}}$$

4.2 Le gain du poids vif

Le gain du poids vif est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Gain de poids vif (g)} = P2 - P1$$

P2 = poids moyen final d'une phase d'élevage

P1 = poids moyen initial de cette phase d'élevage

4.3 La consommation alimentaire

L'aliment est pesé et distribué chaque jour. Le reste de l'aliment contenu dans les mangeoires est pesé quotidiennement pour chaque lot. Les quantités d'aliment consommées par lot, ont été enregistrées à la fin de chaque phase d'élevage. La consommation alimentaire a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Consommation alimentaire (g)} = \frac{(\text{quantité d'aliment distribuée} - \text{quantité d'aliment restante})}{\text{nombre de poussins}}$$

4.4 L'indice de consommation

C'est la quantité d'aliment nécessaire pour produire 1kg de poids vif. L'IC est déterminé pour chaque phase d'élevage par la formule suivante :

$$IC = \frac{\text{quantité d'aliment consommée pendant une phase}}{\text{gain de poids moyen de cette phase}}$$

4.5 Le taux de mortalité :

Le taux de mortalité est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité (\%)} = \frac{\text{Effectif des poussins morts au cours d'une phase}}{\text{Effectif total des poussins durant cette phase}} \times 100$$

5. Etude statistique

Les résultats sont exprimés par la moyenne des valeurs obtenues et l'écart type. Les données ont été analysées par le test de STUDENT en utilisant le SigmaStat 4.0. La significativité a été vérifiée pour les résultats des paramètres zootechniques aux jours J1, J7, J21, J35 et la charge intestinale des animaux aux jours J1, J7, J14, J21, J28, J35. Le seuil de signification choisi est de 5 % à $P < 0,05$.

6. Protocole expérimental

6.1 Première expérience

La première expérience est un test préliminaire qui consiste à comparer l'effet de la consommation de trois types d'eau sur la charge intestinale des animaux et sur les paramètres zootechniques déjà cités. Les animaux sont répartis, dans des cages séparées, en trois lots de 10 poussins chacun.

Lot 1 : Animaux consommant une eau du robinet (eau de ville) (n=10)

Lot 2 : Animaux consommant une eau du réservoir de distribution non traitée (n=10)

Lot 3 : Animaux consommant une eau du réservoir de distribution traitée avec le NP Boisson® à la concentration de 1g/l (n=10).

6.2 Deuxième expérience

La deuxième expérience consistait en la comparaison de l'effet de la consommation d'une eau non traitée à celle d'une eau traitée par le NP Boisson® sur la charge intestinale des animaux et sur les paramètres zootechniques et ce, en utilisant deux concentrations différentes : 1g/l et 2g/l. Cette eau non traitée a été prélevée dans le réservoir de distribution. Elle a été transportée au laboratoire, conservée au frais et homogénéisée en permanence pour éviter sa stagnation.

Les animaux ont été répartis en 3 lots de 12 poussins :

Lot 1 : Animaux qui ont consommé une eau témoin non traitée (n = 12)

Lot 2 : Animaux qui ont consommé une eau traitée à 1g/l (n = 12)

Lot 3 : Animaux qui ont consommé une eau traitée à 2 g/l (n = 12)

6.3 Troisième expérience

Cette expérience consiste à comparer l'effet obtenu après la consommation d'une eau stagnante à celui obtenu après avoir ajouté deux concentrations différentes du NP Boisson® (1g/l ou 2g/l). Comme pour l'expérience précédente, l'eau d'abreuvement a été prélevée dans le réservoir de distribution de l'élevage. Elle a été ramenée au laboratoire et laissée en stagnation afin d'évaluer la variation de la charge microbienne d'une eau stagnante.

Les animaux sont répartis, dans des cages séparées, en 3 lots de 12 poussins chacun :

Lot 1 : Animaux abreuvés à une eau stagnante (n= 12) (lot témoin).

Lot 2 : Animaux recevant une eau stagnante traitée par le NP Boisson® à la concentration de 1g/l (n= 12)

Lot 3 : Animaux recevant une eau stagnante traitée par le NP Boisson® à la concentration de 2 g/l (n= 12)

Résultats

1. Première expérience

1.1 Analyse microbiologique de l'eau utilisée en abreuvement

La charge FMAT de l'eau provenant du réservoir de distribution (élevage dans la province de Taounate) était de l'ordre de $2,7 \cdot 10^5$ ufc/ml. Après traitement par le NP Boisson[®], à la concentration de 1g/l, la valeur de la charge de l'eau en FMAT a été réduite à $1,7 \cdot 10^4$. L'eau de ville (eau du robinet) n'a pas montré de charge détectable puisqu'elle était déjà traitée au chlore.

1.2 L'évaluation de la charge intestinale en microorganismes

1.2.1 La charge de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

La figure 25 représente la variation de la charge intestinale en FMAT des différents lots.

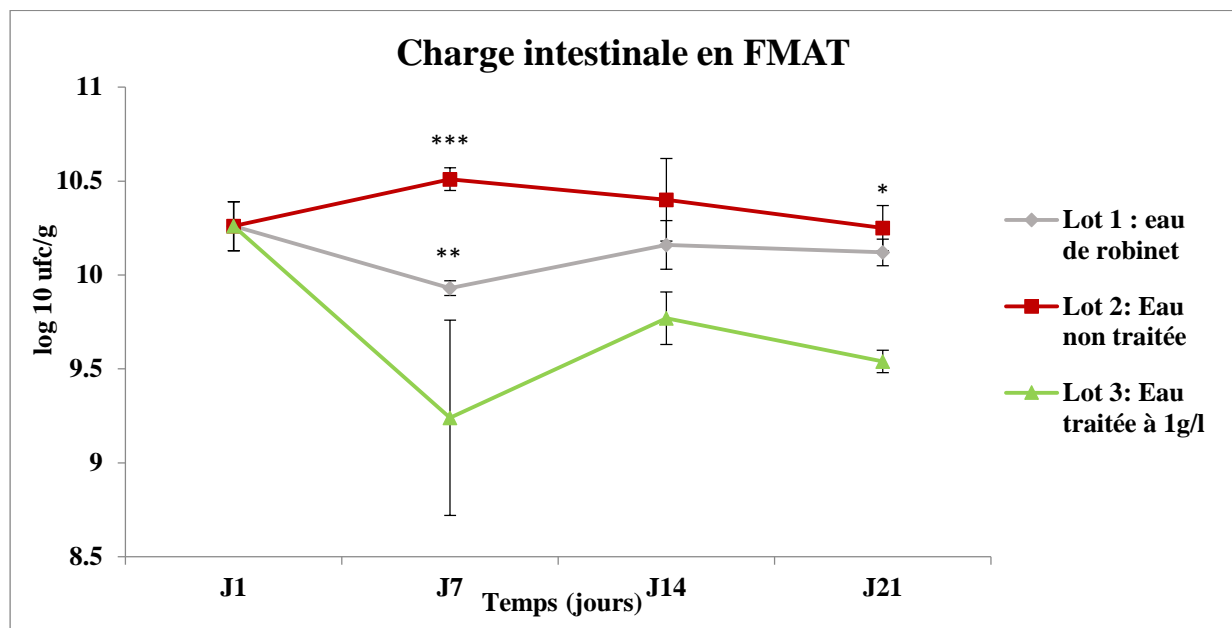


Figure 25 : Evolution de la charge intestinale en FMAT (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparé avec le lot 3 traité à 1g/l)

Au début de l'expérience (J1), la charge intestinale initiale des animaux était de $1,8 \cdot 10^{10}$ ufc/g (valeur en log₁₀ ufc/g = 10,26). Le jour J7, une réduction significative ($p < 0,05$) de la charge a été notée chez les animaux du lot 3 ayant reçu l'eau traitée par le NP Boisson[®].

à 1g/l, par rapport aux deux lots 1 et 2. Aux jours J14 et J21, la charge en FMAT du lot 3 reste toujours inférieure par rapport aux autres lots.

1.3 L'évolution des paramètres zootechniques

1.3.1 Evolution du poids vif des poussins

L'évolution du poids vif moyen des animaux est représentée sur la figure 26.

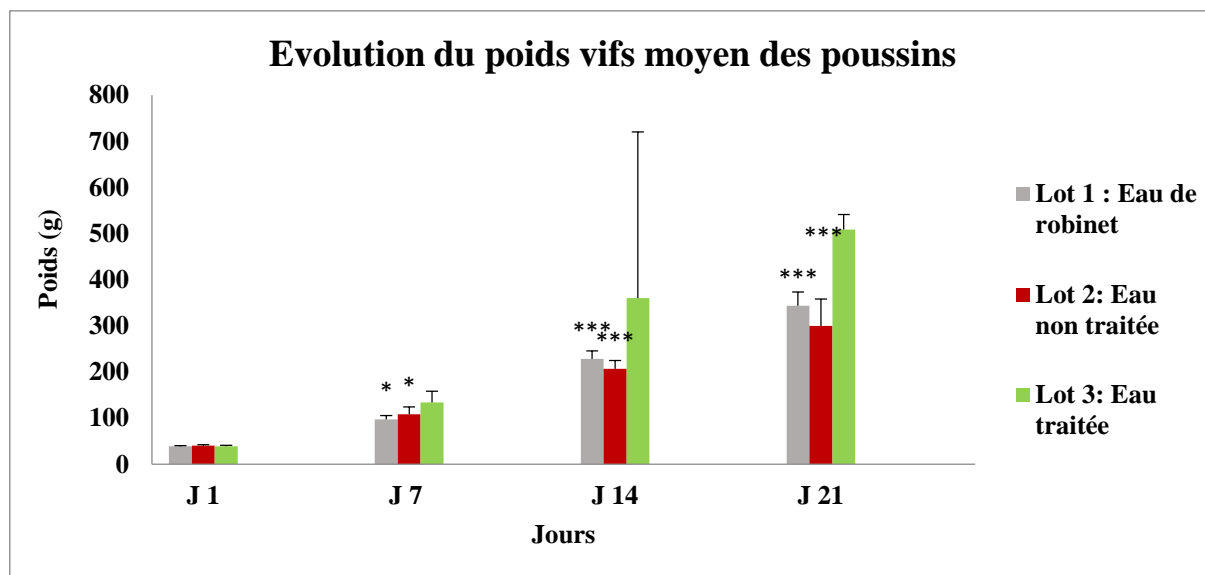


Figure 26 : Evaluation du poids vif des poussins (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ comparé avec le lot 3 traité à 1g/l)

Aux J14 et J21, les résultats montrent des poids vifs moyens significativement plus élevés pour le lot traité par le NP Boisson® à la concentration de 1g/l par rapport aux deux autres lots. Les animaux du lot recevant l'eau non traitée présentent les poids les plus faibles.

1.3.2 Evolution du gain de poids moyen

L'évolution du gain du poids vif moyen des différents lots durant toute la période d'élevage est représentée dans le tableau 9 (partie gauche du tableau 9).

Le gain du poids moyen du lot 3 est significativement supérieur ($p < 0,05$) à celui des autres lots.

Tableau 9: Evolution du poids vif moyen et du gain de poids moyen (*p<0,05; *p<0,001 comparés au lot 3 traité à 1g/l)**

	Poids vif moyen (g)				Gain de poids moyen (g)			Total du gain du poids (g)
	J1	J7	J14	J21	J 1-7	J 7-14	J 14-21	
Lot 1 : Eau de robinet	39,3 ± 0,9	97,6 ± 8*	228,3 ± 17,7***	343,3 ± 30***	58,3 ± 8,2*	130,7 ± 22***	115 ± 21,6*	304
Lot 2 : Eau non traitée	40,62 ± 1,7	108,8 ± 15,8*	207 ± 31***	300 ± 58***	68,18 ± 14,6*	98,2 ± 23,2***	93 ± 56,2*	259,38
Lot 3 : Eau traitée à 1g/l	39,46 ± 1,5	134,4 ± 23	360 ± 18	508,8 ± 32,3	95 ± 24,5	225,6 ± 23,9	148,8 ± 36,7	469,4

1.3.3 Evolution de la consommation alimentaire et indice de consommation (IC)

La consommation alimentaire et les indices de consommation (IC) des trois lots sont représentés sur le tableau 10.

Tableau 10: Evolution de la consommation alimentaire et de l'indice de consommation (IC)

	Consommation alimentaire (g)			Indice de consommation		
	J 1-7	J 7-14	J 14-21	J 1-7	J7-14	J 14-21
Lot 1 (eau de robinet)	153,8	267,1	581,9	2,63	2,04	5,06
Lot 2 (eau non traitée)	111	188	372	1,62	1,91	4
Lot 3 (eau traitée à 1g/l)	116,6	200	462,2	1,22	0,88	3,1

La consommation du lot 3 est inférieure à celle du lot 1. L'indice de consommation (IC) le moins élevé a été enregistré chez les animaux du lot 3 tout au long de l'expérience. A la fin de l'expérience, on note que l'IC le plus élevé a été obtenu chez le lot 1 ayant consommé l'eau du robinet alors que le plus faible a été enregistré pour le lot 3 eau traitée par NP Boisson® à 1g/l.

2. Deuxième expérience

2.1 Analyse microbiologique de l'eau utilisée en abreuvement

Tableau 11. Analyse microbiologique de l'eau utilisée en abreuvement

	Charge en FMAT (ufc/ml)	Charge en <i>C. perfringens</i> (ufc/ml)	Charge parasitaire (nombre de cellules/ml)
Eau non traitée	$2,3 \cdot 10^5$	90	$1,7 \cdot 10^4$
Eau traitée à 1g/l	$1,6 \cdot 10^4$	27	$1,8 \cdot 10^3$
Eau traitée à 2g/l	$3 \cdot 10^3$	2	10^2

La charge en FMAT de l'eau provenant du réservoir de distribution (élevage dans la province de Taounate) était de l'ordre de $2,3 \cdot 10^5$ ufc/ml. Cette charge a été réduite à $1,6 \cdot 10^4$ après traitement par le NP Boisson® à la concentration de 1g/l et à $3 \cdot 10^3$ après traitement à la concentration de 2 g/l.

La charge en *C. perfringens*, qui était de l'ordre de 90 ufc/ml, a été réduite à 27 ufc/ml après traitement à la concentration de 1g/l et à 2 ufc/ml avec la concentration de 2g/l.

La charge en parasites protozoaires a été réduite de $1,7 \cdot 10^4$ cellules/ml à $1,8 \cdot 10^3$ cellules/ml après traitement par le NP Boisson® à la concentration de 1g/l et à seulement 10^2 cellules/ml après traitement à la concentration de 2g/l.

2.2 Evaluation de la charge intestinale en microorganismes

2.2.1 La charge intestinale en FMAT

La figure 27 représente la variation de la charge intestinale en FMAT des différents lots d'animaux.

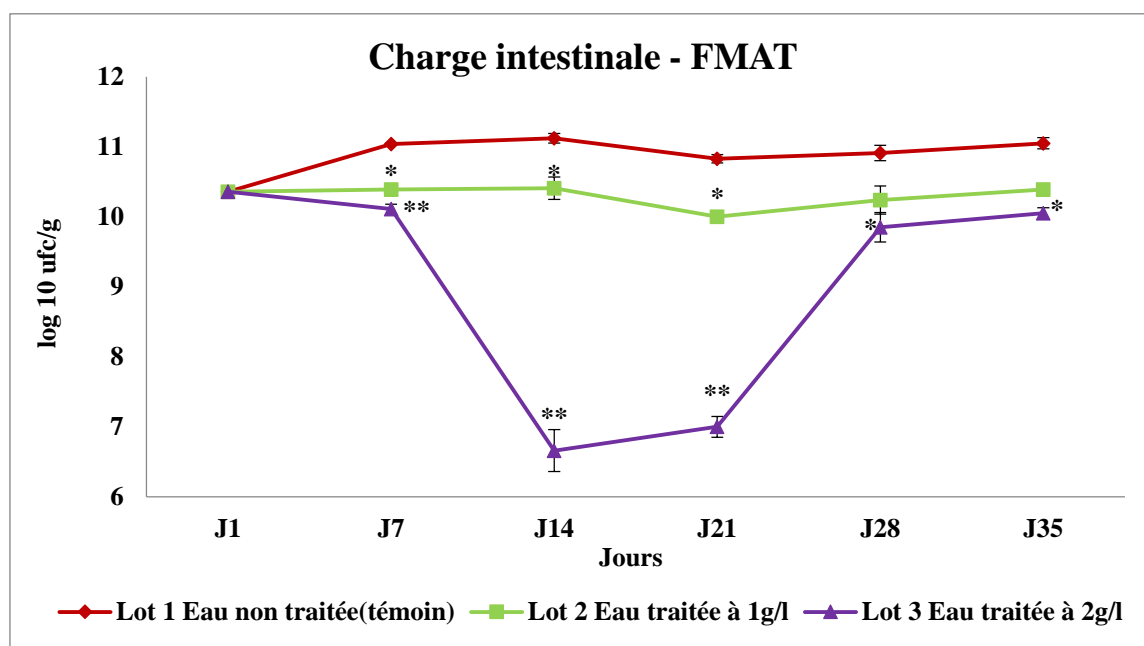


Figure 27 : Evolution de la charge intestinale en FMAT (*p<0,05 ; **p<0,01 comparé avec le lot témoin)

Au jour (J1), la charge intestinale initiale de tous les animaux était de $2,33 \cdot 10^{10}$ ufc/g (valeur en log 10 ufc/g = 10,36). Une augmentation de la charge a été notée chez les animaux du lot témoin au jour J7, tandis que le lot traité à 2g/l a connu une diminution

significative ($p < 0,05$) par rapport au lot témoin. Au 14^{ème} jour, ce même lot traité à 2g/l s'est distingué par une baisse très importante de la charge en FMAT par rapport au lot traité à 1g/l et au lot témoin. Cependant, une augmentation de la charge du lot traité à 2g/l a été constatée au J28, mais qui reste toujours inférieure à celle du lot témoin et du lot traité 1g/l avec une différence significative ($p < 0,05$).

2.2.2 La charge intestinale en *Clostridium perfringens* :

La figure 28 représente la variation de la charge intestinale en *C. perfringens* des différents lots d'animaux.

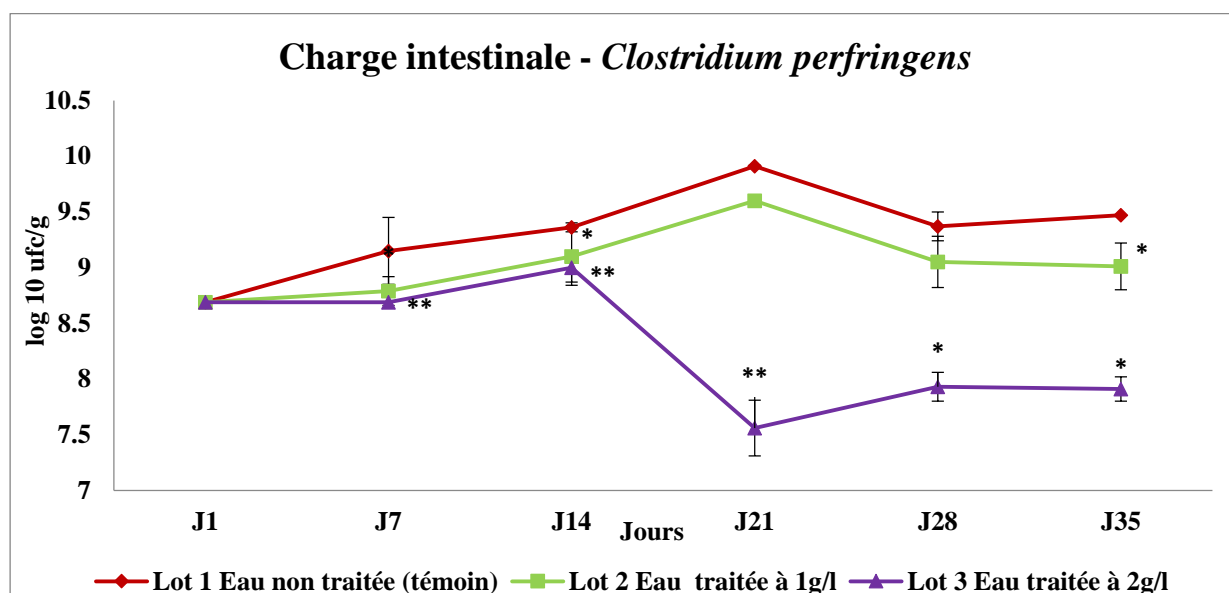


Figure 28: Evolution de la charge intestinale en *Clostridium perfringens* (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ comparé avec le lot témoin)

Au J1, la charge intestinale initiale des animaux était de $5 \cdot 10^8$ ufc/g (valeur en \log_{10} ufc/g = 8,69). Les trois lots d'animaux présentent une charge similaire durant les 14 premiers jours avec une charge légèrement supérieure pour le lot témoin. Le J21 s'est distingué par une importante réduction de la charge intestinale bactérienne du lot traité par 2g/l de manière significative par rapport au lot témoin. Cependant, au J21 on note une augmentation de la charge chez les animaux du lot témoin et du lot traité à 1g/l. A la fin de l'expérience, les prélèvements des fientes des différents lots d'animaux ont montré que la charge bactérienne en *Clostridium perfringens* du lot traité à 2g/l était significativement

($p < 0,05$) plus faible par rapport au lot témoin. La charge du lot traité à 1 g/l est aussi inférieure à celle du témoin d'une manière moins significative ($p < 0,05$).

2.2.3 La charge intestinale parasitaire

La figure 29 représente la variation de la charge intestinale parasitaire des trois lots d'animaux.

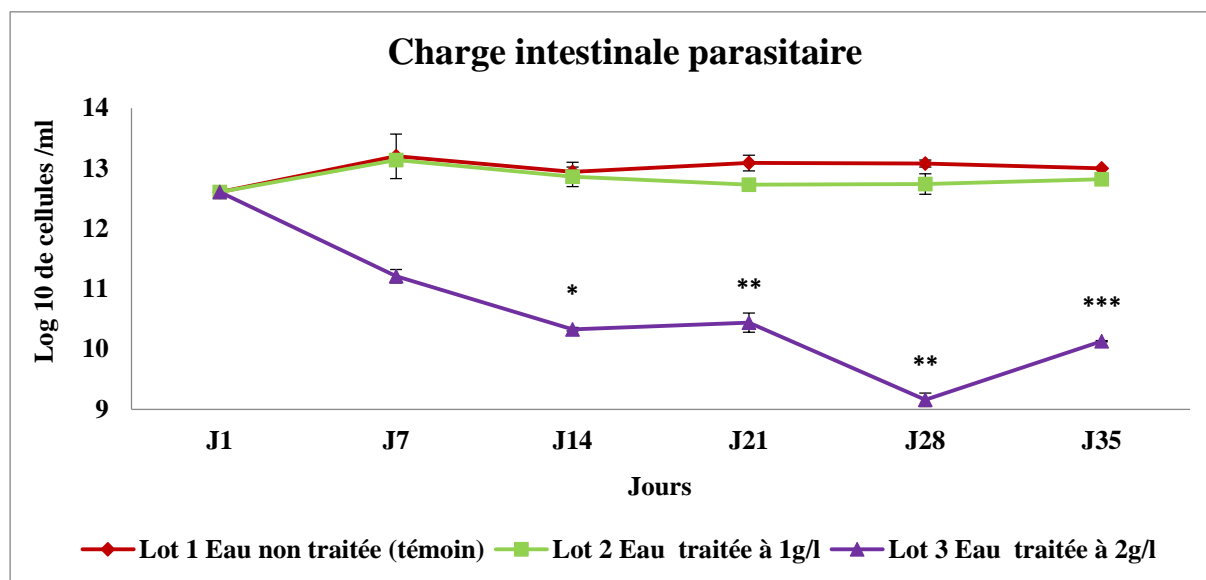


Figure 29: Evolution de la charge intestinale parasitaire (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$;

*** $p < 0,001$ comparé avec le lot témoin)

La valeur de la charge intestinale parasitaire au 1^{er} jour était d'une valeur de l'ordre de $4,15 \times 10^{12}$ cellules/g (valeur en log 10 cellules/g = 12,61). Durant toute l'expérience, le lot des animaux traité à 2g/l présente la charge la plus faible. Pour le lot traité au NP Boisson® à 1g/l, la charge parasitaire était aussi élevée que celle du témoin.

2.3 Evolution des paramètres zootechniques

2.3.1 Evolution du poids vif moyen

Les résultats de l'effet de NP Boisson® sur l'évolution du poids vif moyen des animaux sont représentés sur la figure 30.

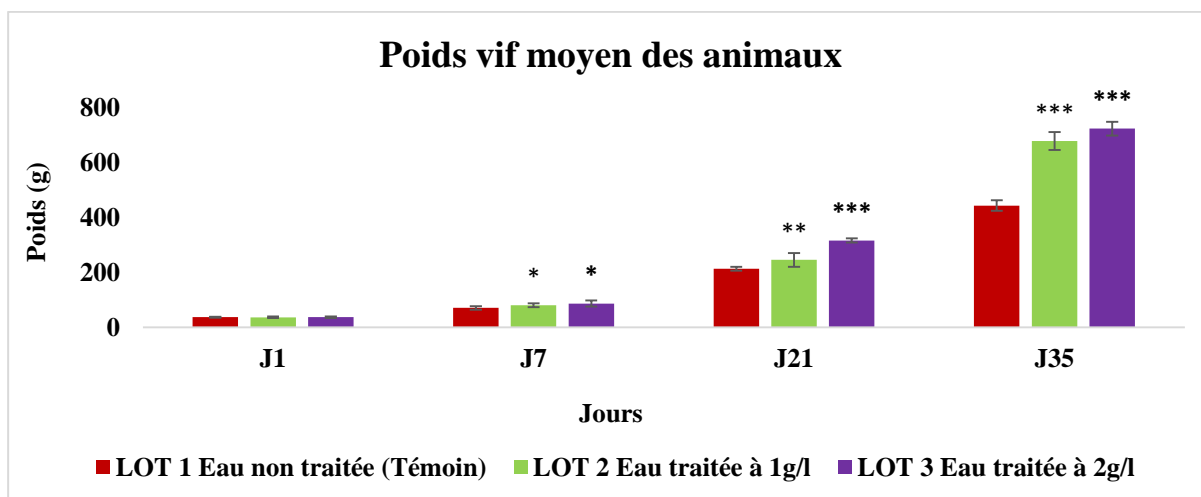


Figure 30: Evolution du poids vif moyen des animaux (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,001$ comparés au lot témoin)**

Cette figure montre une augmentation significative ($p < 0,05$) du poids des animaux du groupe traité par la concentration de 1 g/l durant toute l'expérience par rapport au témoin. Cette augmentation est encore plus nette avec le traitement par la concentration de 2 g/l.

2.3.2 Evolution du gain de poids moyen :

L'évolution du gain du poids vif moyen des différents lots durant toute l'expérience sont représentés sur le tableau 12.

Tableau 12: Effet du produit utilisé pour le traitement de l'eau sur le poids vif moyen et le gain de poids moyen des poulets (*p<0,05; **p<0,01; *p<0,001 comparés au lot témoin)**

	Poids vif moyen (g)				Gain de poids moyen (g)			Total de gain du poids (g)
	J0	J7	J21	J35	Démarrage (J1-J7)	Croissance (J7- J21)	Finition (J21- J35)	
Lot 1 Eau non traitée (témoin)	37,16 ± 2,08	70,83 ± 8,83	214 ± 8,43	444 ± 23,66	33,67 ± 7,04	143,17 ± 3,43	230 ± 16,99	406,84
Lot 2 Eau traitée à 1g/l	36,58 ± 3,84	80,41 ± 7,86*	246,36 ± 32,3**	680 ± 41,47***	43,83 ± 5,04**	165,95 ± 26,39**	433,64 ± 16,89***	643,42
Lot 3 Eau traitée à 2g/l	36,83 ± 3,78	86,63 ± 16,6*	317 ± 9,48***	725 ± 27,98***	49,8 ± 13,5***	230,37 ± 7,3***	408 ± 20,97***	688,17

Durant les trois phases d'élevage, le gain du poids vif moyen des animaux des deux lots traités est significativement ($p < 0,05$) supérieur à celui des poulets du lot témoin, avec un gain de poids plus important pour les animaux du lot 3.

2.3.3 Evolution de la consommation alimentaire et de l'indice de consommation (IC):

La consommation alimentaire et l'IC des trois lots sont représentés sur le tableau 13.

Tableau 13 : Effet du traitement utilisé sur la consommation alimentaire et l'IC

	Consommation alimentaire (g)			Indice de consommation		
	Démarrage (J1-J7)	Croissance (J7-J21)	Finition (J21-J35)	Démarrage (J1-J7)	Croissance (J7-J21)	Finition (J21-J35)
Lot 1 Eau non traitée (témoin)	75	270	914	2,23	1,89	3,97
Lot 2 Eau traitée à 1g/l	61,66	245,45	931,8	1,41	1,48	2,14
Lot 3 Eau traitée à 2g/l	69,09	270	990	1,39	1,17	2,42

Nous avons constaté que l'IC des deux lots traités par le NP Boisson® a été plus faible par rapport au lot témoin. Pour le lot traité à 2g/l nous avons noté un IC supérieur à celui traité à 1g/l et ce, durant la 3^{ème} phase de l'élevage.

3. Troisième expérience

3.1 Analyse microbiologique de l'eau stagnante utilisée en abreuvement

Le traitement par le NP Boisson® à 1g/l réduit faiblement la charge en FMAT, en *C. perfringens* et en protozoaires. Cependant, une réduction de l'ordre de 2 unités logarithmiques a été obtenue pour la charge en FMAT et la charge en protozoaires après traitement par le NP Boisson® à 2 g/l (tableau 14).

Concernant la charge en *C. perfringens*, qui était de l'ordre de 68 ufc/ml, elle a été réduite à 12 ufc/ml après traitement à la concentration de 2g/l.

Tableau 14. Analyse microbiologique de l'eau utilisée en abreuvement

	Charge en FMAT (ufc/ml)	Charge en <i>Clostridium perfringens</i> (ufc/ml)	Charge parasitaire (nombre de cellules /ml)
Eau stagnante non traitée	2 10 ⁵	86	2,1 10 ⁵
Eau stagnante traitée à 1g/l	1,3 10 ⁵	57	2 10 ⁵
Eau stagnante traitée à 2g/l	6 10 ³	12	1,2 10 ³

3.2 L'évaluation de la charge intestinale en microorganismes

3.2.1 La charge FMAT

La figure 31 représente la variation de la flore intestinale en FMAT des trois lots d'animaux ayant été abreuvés par les différents échantillons hydriques.

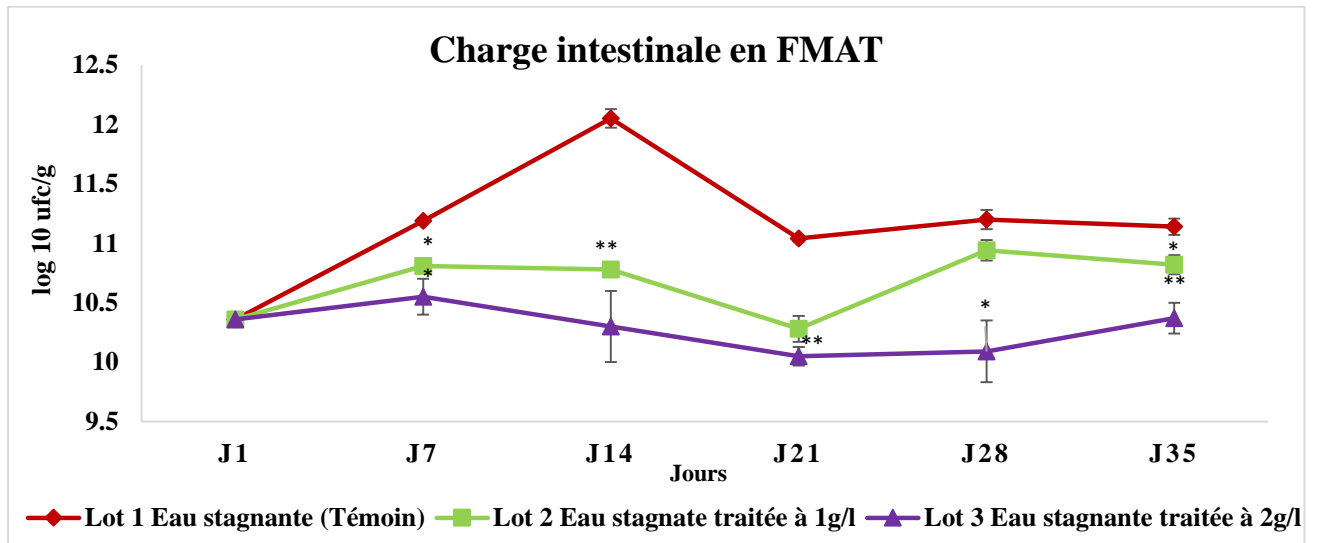


Figure 31 : Evolution de la charge intestinale en FMAT (*p<0,05 ; **p<0,01 comparé avec le lot témoin)

Au jour J1, la charge intestinale moyenne en FMAT des différents lots était de l'ordre de $2,33 \cdot 10^{10}$ ufc/g (valeur en log 10 ufc/g = 10,36). Au 7^{ème} jour, nous avons remarqué une hausse significative (p<0,05) de la charge en FMAT chez le lot témoin par rapport aux deux lots traités. Cette différence s'est accentuée au 14^{ème} jour. Une réduction de la charge a été ensuite notée au J21 pour les différents lots d'animaux. Cependant, pour les deux lots traités, nous avons remarqué une réduction de la charge en FMAT par rapport au lot témoin. A J28, une augmentation de la charge a été remarquée pour le témoin et le lot traité 1g/l, mais la différence n'était pas significative (p>0,05). Au 35^{ème} jour de l'expérience, la charge intestinale en FMAT des lots traités reste toujours significativement inférieure (p<0,05) à celle du lot témoin.

3.2.2 La charge en bactéries anaérobies sulfito-réductrices (*Clostridium perfringens*)

La figure 32 représente la variation de la charge intestinale en bactéries anaérobies des trois lots étudiés.

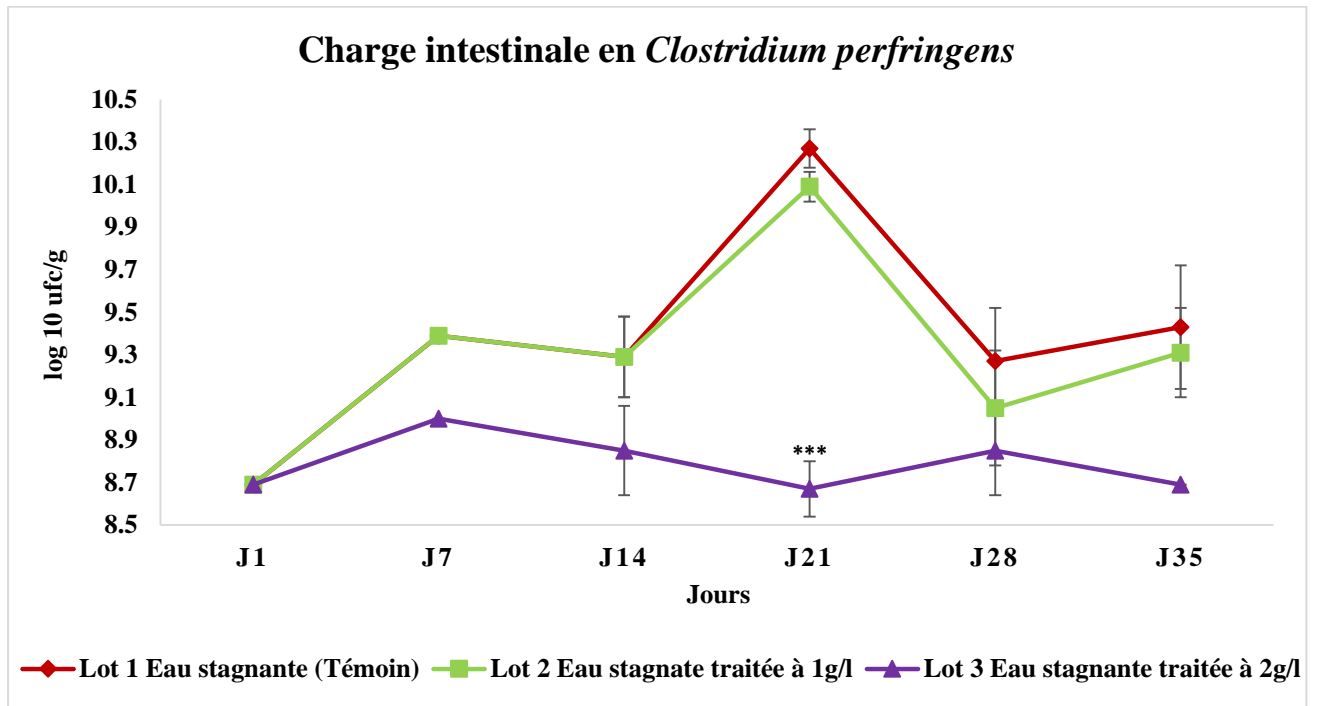


Figure 32: Evolution de la charge intestinale en *Clostridium perfringens*

(***p<0,001 comparé avec le lot témoin)

Au jour J1, la charge moyenne des différents lots était de $5 \cdot 10^8$ ufc/g (valeur en log 10 ufc/g = 8,69). Entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour, la charge du lot traité à 2g/l était inférieure à celle du lot témoin, alors que celle du lot traité à 1g/l a évolué pendant cette période de la même façon que le lot témoin. Entre la période J14 et J35, la charge bactérienne en *C. perfringens* du lot témoin et de celui traité à 1g/l ont également évolué de la même façon. Cependant, le lot traité à 2g/l s'est distingué par une charge bactérienne significativement inférieure à celle des deux autres lots d'animaux (p<0,05).

3.2.3 La charge parasitaire

La figure 33 représente la variation de la charge intestinale parasitaire des trois lots. La valeur de la charge du jour J1 était de $4,15 \cdot 10^{12}$ cellules/g (valeur en log 10 cellules/g = 12,61).

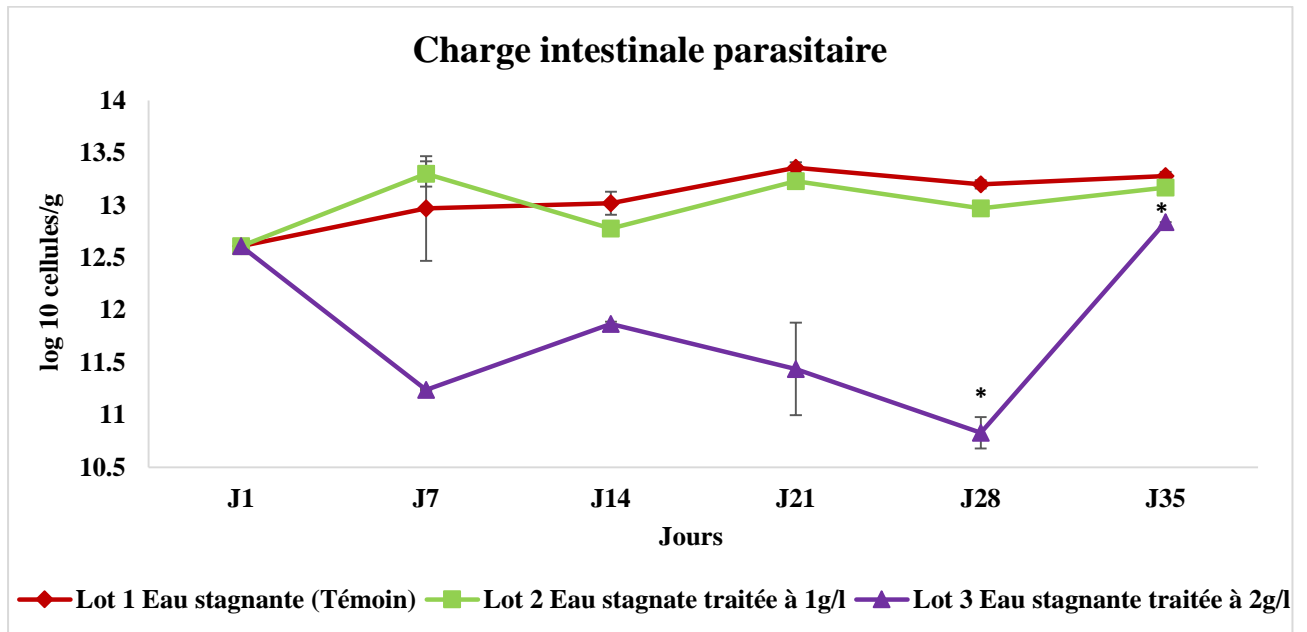


Figure 33 : Evolution de la charge intestinale parasitaire (*p<0,05 comparé avec le lot témoin)

Durant toute l'expérience, la variation des courbes traduisant la charge parasitaire du lot témoin et de celui traité à 1g/l était parallèles. La charge du lot traité à 2g/l a été significativement inférieure par rapport aux deux autres lots jusqu'au J28. Au J35, la charge parasitaire du lot traité à 2g/l a néanmoins augmenté par rapport à la charge notée au J28 mais elle reste toujours significativement inférieure à celle des deux autres lots.

3.3 Evolution des paramètres zootechniques

3.3.1 Evolution du poids vif moyen

Les résultats de l'effet du traitement de l'eau d'abreuvement sur l'évolution du poids vif moyen des animaux sont représentés sur la figure 34.

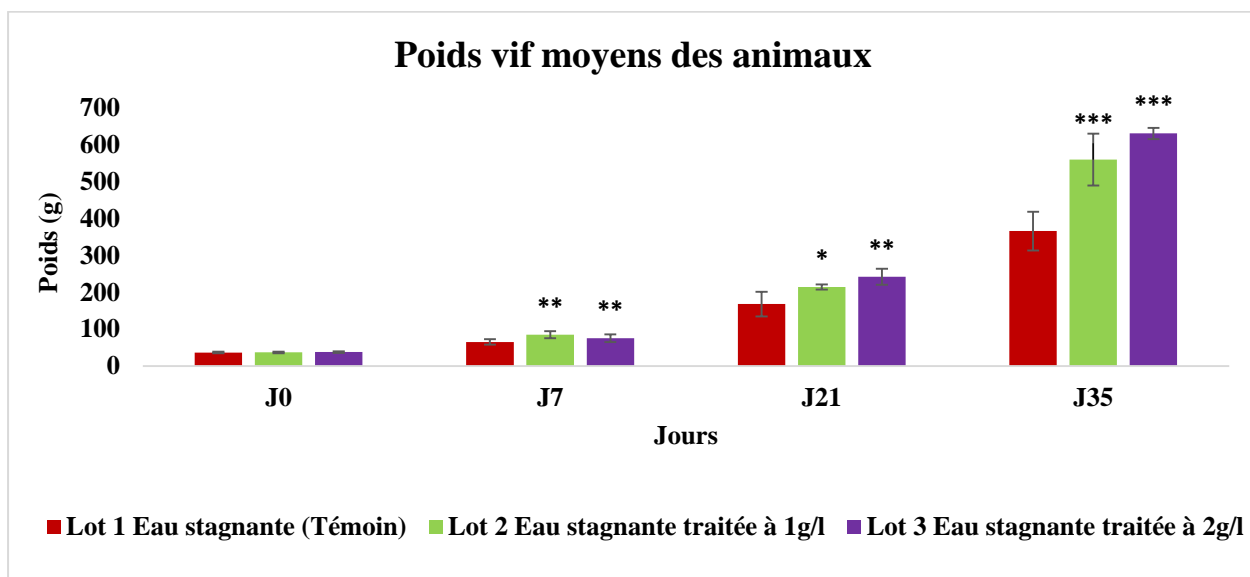


Figure 34 : Evolution du poids vif moyen (*p<0,05 ; **p<0,01 ; *p<0,001)**

Durant toute l'expérience, les poids moyens des deux lots traités par le NP Boisson® à 1g/l et à 2g/l étaient significativement ($p<0,05$) plus importants que ceux du lot témoin. A la fin de l'expérience, le poids moyen du lot traité à 2g/l était presque le double du poids moyen du lot témoin.

3.3.2 : Evolution du gain du poids vif moyen

L'évolution du gain du poids vif moyen des différents lots durant toute la période d'élevage sont représentés sur le tableau 15.

Au jour J7, le gain du poids vif moyen des deux lots traités était supérieur à celui des poulets du lot témoin.

Durant la phase de croissance (J21), le gain du poids moyen reste toujours supérieur pour les lots traités par rapport au lot témoin mais d'une manière non significative pour le lot traité à 1g/l et significative ($p<0,05$) pour le lot traité à 2g/l.

Au J35, une amélioration significative ($p<0,05$) des gains du poids vif moyen a été observée chez les deux lots d'animaux traités. Dans cette phase, le meilleur gain de poids moyen a été noté chez les animaux du lot traité à 2g/l et qui est presque le double par rapport au lot témoin.

Tableau 15 : Effet de NP boisson® sur le poids vif moyen et le gain de poids moyen (*p<0,05 ; **p<0,01 ; *p<0,001 comparés au lot témoin)**

	Poids vif moyen (g)				Gain de poids moyen (g)			Total de gain du poids
	J0	J7	J21	J35	Démarrage (J1 -J7)	Croissance (J7-J21)	Finition (J21-35)	
Lot 1 Eau stagnante (témoin)	36,41 ± 2,67	65,2 ± 10,4	168 ± 40,24	366 ± 60,66	28,79 ± 9,23	102,8 ± 32,82	198 ± 37,01	329,59
Lot 2 eau stagnante traitée à 1g/l	36,66 ± 2,8	84,75±12,3**	214,28 ± 7,86*	560 ± 90,11***	48,09 ± 10,12**	129,53 ± 9,25	345,72 ± 86,17**	572,24
Lot 3 eau stagnante traitée à 2g/l	37,75 ± 2,95	75,09 ± 13**	242 ± 24,85**	631 ± 18,5***	37,34 ± 10,52**	166,91 ± 14,41**	389 ± 11***	593,25

3.3.3 Evolution de la consommation alimentaire et de l'indice de consommation (IC)

La consommation alimentaire et l'indice de consommation (IC) des trois lots sont représentés sur le tableau 16. L'indice de consommation (IC) le moins élevé a été noté chez les animaux du lot traité à 2g/l durant les phases de croissance et de finition.

Durant la phase de démarrage, la consommation alimentaire des poussins du lot témoin était plus importante que celle des lots traités. Ainsi, une augmentation de l'IC a été constatée chez les poussins du lot témoin par rapport aux lots traités.

Durant la phase de croissance, la consommation d'aliment la plus importante a été notée chez les poussins du lot traité à 1g/l.

A la fin de l'expérience, l'IC le plus faible a été obtenu chez le lot traité à 2g/l (2,64) alors que l'IC du lot témoin était deux fois plus élevé (4,79).

3.3.4 Evolution du taux de mortalité :

Le taux de mortalité des différents lots est représenté dans le tableau 16.

Pendant la phase de démarrage, le taux de mortalité des animaux le plus élevé a été constaté chez le lot témoin et le lot traité à 1g/l. Alors que le taux de mortalité chez le lot traité à 2g/l est resté faible durant toute la période d'élevage.

Tableau 16 : Effet de NP boisson® sur la consommation alimentaire, l'indice de consommation et le taux de mortalité

	Consommation alimentaire (g)			Indice de consommation (IC)			Taux de mortalité (%)		
	Démarrage (J0-J7)	Croissance (J7-J21)	Finition (J21-J35)	Démarrage (J0-J7)	Croissance (J7-J21)	Finition (J21-J35)	Démarrage (J0-J7)	Croissance (J7-J21)	Finition (J21-J35)
Lot 1 Eau stagnante (témoin)	208	260	950	7,22	2,53	4,79	7/12 (58,33%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)
Lot 2 eau stagnante traitée à 1g/l	81,25	375,71	1275	1,69	2,90	3,68	4/12 (33,33%)	5/12 (41,6%)	0/12 (0%)
Lot 3 eau stagnante traitée à 2g/l	79,09	270	1030	2,12	1,62	2,64	1/12 (8,3%)	1/12 (8,3%)	0/12 (0%)

Discussion

Après avoir constaté l'effet bénéfique du NP Boisson® *in vitro* sur les qualités microbiologiques et physico-chimiques de l'eau, il était nécessaire de vérifier si cet effet s'exerce aussi sur les animaux. C'est pour cette raison que nous avons effectué une première expérience préliminaire dans laquelle nous avons comparé l'effet de trois types d'eau : une eau prélevée d'un réservoir de distribution d'eau au sein d'un élevage, cette même eau traitée par le NP Boisson® à 1g/l et une eau de ville (eau du robinet). L'eau provenant du réservoir d'élevage présentait une charge bactérienne en FMAT de l'ordre de $2,7 \cdot 10^5$ UFC/ml. Cette eau traitée au NP Boisson® à 1g/l, a montré une charge réduite ($1,7 \cdot 10^4$ UFC/ml), alors que l'eau du robinet ne présentait pas de charge en FMAT détectable puisqu'elle était déjà traitée au chlore.

L'analyse de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) intestinale des poussins âgés d'un jour a été suivie pendant 21 jours. Chez ces animaux abreuvés par les trois types d'eau, les résultats obtenus montrent que la charge intestinale des animaux abreuvés par l'eau d'élevage non traitée ainsi que celle des poussins recevant l'eau du robinet, dépasse 10^{10} UFC/g, alors que l'on note une diminution significative de la charge intestinale des poussins recevant l'eau traitée par le NP Boisson® à 1g/l par rapport aux deux autres lots. Ceci permet de penser que le NP Boisson® est non seulement capable de diminuer la charge en FMAT de l'eau mais agit aussi en provoquant une forte diminution de la flore intestinale de l'ordre de 90% durant les 7 premiers jours. Cependant, cette flore augmente légèrement au 14^{ème} et 21^{ème} jour (85% de réduction).

Ce résultat montre que le NP Boisson® pourrait jouer le rôle des antibiotiques promoteurs de croissance qui sont ajoutés à l'aliment pour diminuer la flore intestinale, afin que l'animal profite mieux des nutriments (Donoghue, 2003; Schwarz et coll. 2001 ; Toghyani et coll. 2010). Pour confirmer cette hypothèse, nous avons évalué durant 21 jours les performances zootechniques des animaux, à savoir le poids, le gain du poids, la consommation alimentaire et l'IC. En effet, les résultats obtenus montrent une différence significative à partir du 7^{ème} jour au niveau du poids et du gain du poids. Le poids des poussins du lot recevant l'eau traitée au NP Boisson® est très significativement plus élevé que celui des poussins des deux autres lots. Cette

différence significative au niveau du poids n'est pas due à une différence de la quantité d'aliment consommée, puisque le lot d'animaux recevant l'eau du robinet a consommé plus d'aliment que celui du lot traitée au NP Boisson®. Ceci apparait aussi au niveau de l'IC qui est plus faible chez le lot ayant reçu le NP Boisson® par rapport aux deux autres lots.

Il faut remarquer que le lot d'animaux recevant l'eau d'élevage chargée en FMAT a consommé une quantité d'aliment nettement plus faible que les deux autres lots. Ceci est probablement dû à une souffrance chez ces animaux, dont l'appétit a diminué. Les résultats de cette première expérience nous ont permis d'émettre les hypothèses suivantes :

- La grande différence de croissance entre le lot abreuvé par l'eau d'élevage non traitée et celui recevant l'eau d'élevage traitée par le NP Boisson® ne peut être due uniquement qu'à la différence observée au niveau de la FMAT intestinale.
- L'affection des performances zootechniques des animaux du lot ayant consommé l'eau du réservoir non traitée serait probablement due à d'autres germes infectieux tels que *C. perfringens* ou bien les parasites provenant de l'eau.

Afin de vérifier ces deux hypothèses, nous avons effectué une nouvelle expérience avec un lot témoin recevant une eau d'élevage non traitée et deux autres lots abreuvés par la même eau traitée à 1g/l ou à 2 g/l de NP Boisson®. Et nous avons évalué en plus de la charge bactérienne FMAT, la charge en *C. perfringens* et la charge parasitaire au niveau intestinale. Les résultats obtenus confirment nos hypothèses, puisque les charges en FMAT, en *C. perfringens* et en protozoaires (surtout les *Cryptosporidium*) étaient significativement plus faibles chez les lots traités au NP Boisson® par rapport au lot témoin avec un effet plus puissant du traitement par 2g/l par rapport à celui traité par 1g/l.

Dans cette même expérience, nous avons constaté que le traitement de l'eau par le NP Boisson® affecte positivement les paramètres zootechniques des animaux puisque ces derniers, tout en ayant consommé la même quantité d'aliment que le lot témoin présentent, une croissance significativement meilleure. Ceci montre que le NP Boisson® joue un rôle important en diminuant la charge en FMAT, en *C. perfringens* et

en *oocystes*. Cette réduction de la charge en micro-organismes se répercute sur l'intégrité intestinale ; les intestins absorbent mieux les aliments ce qui explique la différence de croissance. Ces résultats sont en accord avec ceux décrits par Gabriel et coll. (2013).

Selon le personnel responsable de l'élevage, l'eau séjourne dans le château d'eau (50 m³) avant de passer dans les bâtiments d'élevage pour remplir le réservoir d'environ une tonne d'eau (1 m³) qui distribuera par la suite l'eau aux abreuvoirs. Cette observation nous a permis de constater que l'eau d'abreuvement stagne pendant plusieurs heures dans le château d'eau, puis pendant une durée non négligeable dans le réservoir du bâtiment à une température plus ou moins élevée (T°= 25 à 32°C) favorable au développement des micro-organismes avant d'arriver aux abreuvoirs. Cette stagnation de l'eau serait à l'origine de l'augmentation de la charge microbienne dans l'eau d'abreuvement. Ce risque de stagnation de l'eau affecte les animaux pendant les premières semaines de la vie; leur consommation d'eau étant faible, le renouvellement de l'eau du réservoir se fait moins fréquemment.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons mis l'eau d'élevage en stagnation pendant 24h et nous avons comparé l'effet de cette eau stagnante sur la charge intestinal et les paramètres zootechniques des animaux avant et après traitement de l'eau par le NP Boisson®. Nous avons utilisé pour cela les deux concentrations 1g/l et 2g/l. Les résultats obtenus montrent la même réduction de la charge intestinale en bactéries aérobies, anaérobies et en protozoaire que dans l'expérience précédente. Cependant, nous avons remarqué une forte mortalité des poussins pendant la 1^{ère} semaine chez le lot d'animaux recevant l'eau stagnante non traitée et même chez le lot abreuvé par l'eau stagnante traitée à la concentration de 1g/l. Alors que chez le lot traité par le NP Boisson® à 2g/l, la mortalité était nettement plus faible. Ces résultats confirment notre hypothèse sur l'effet néfaste de la stagnation de l'eau sur la santé des animaux.

L'ensemble des résultats permet de conclure que le NP Boisson® exerce une action antimicrobienne importante sur l'eau avant qu'elle ne soit consommée par les animaux. Cette action se traduit par une diminution de la charge intestinale totale notamment la charge en FMAT, en *C. perfringens* et en *oocystes*. Cette activité antimicrobienne se

répercute positivement et de façon significative sur les performances zootechniques des animaux.

Il serait intéressant d'utiliser le NP Boisson® en élevages avicole à 2g/l pendant les deux premières semaines et à 1g/l jusqu'à la fin de la période d'élevage avec l'installation d'un système qui permet d'acheminer directement l'eau aux animaux.

L'application du traitement par le NP Boisson® dans l'eau d'abreuvement en élevage avicole permet de maintenir le réservoir d'eau toujours propre. Cette observation nous a poussé à tester l'effet du NP Boisson® sur les microbes qui peuvent adhérer au niveau du réservoir d'eau, des tuyauteries et des pipettes. Cette problématique fera l'objet de l'étude effectuée dans la dernière partie de ce travail.

Partie 3:

Evaluation *in vitro* de l'action de NP Boisson[®] sur des biofilms formés sur les parois des tuyaux

Introduction

L'eau en stagnant dans les systèmes d'abreuvement (réservoirs, canalisations, abreuvoirs) favorise la prolifération des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les protozoaires qui s'attachent entre eux et à la surface des parois et forment les biofilms. La présence de ces biofilms dans les systèmes de distribution de l'eau d'abreuvement des volailles entraîne la détérioration de la qualité de l'eau et, par conséquent, la diminution des performances des animaux (Venne, 2009).

Pour arrêter la prolifération des biofilms dans les canalisations d'eau en élevage avicole, il existe sur le marché plusieurs produits dont le choix dépend du type du biofilm, de la présence ou non des animaux dans le bâtiment d'élevage et de la nature des produits utilisés continuellement pendant l'élevage (Travel, 2007 ; Venne, 2009). Cependant, ces biofilms ont la capacité de résister aux biocides puisqu'ils sont protégés par une couche de polysaccharides difficile à détruire avec les moyens classiques de désinfection (Briandet et coll, 2012). Ainsi, les micro-organismes se multiplient et résistent 1000 à 10 000 fois plus dans une communauté adhérente que lorsqu'ils sont planctoniques (Costerton et coll, 1999; Roux et Chigo, 2006).

L'activité antimicrobienne des HE sur les biofilms a été démontrée dans plusieurs travaux (Niu et coll., 2006; De Carvalho et Da Fonseca, 2007; Braga et coll., 2007 et 2008 ; Gallucci et coll., 2010).

Dans le présent travail, nous avons testé l'effet du NP Boisson[®], comme une solution alternative aux biocides utilisés pour le traitement des biofilms formés sur les parois des canalisations dans les élevages avicoles.

Matériel et méthodes

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet du traitement par le NP Boisson® en utilisant deux concentrations différentes (1 g/l et 2 g/l), sur la réduction de quelques micro-organismes qui forment des biofilms sur les canalisations d'eau utilisée en élevage avicole.

1. Protocole expérimental

1.1 Micro-organismes

1.1.1 Les bactéries

Dans cette expérience, les deux souches bactériennes utilisées sont une souche d'*Escherichia coli* et une souche de *C. perfringens* provenant du laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine de Fès. Les deux souches ont été repiquées sur le milieu nutritif Mueller Hinton (Biokar). Une colonie de chaque type bactérien d'une taille moyenne a étéensemencée dans 9 ml du milieu nutritif Mueller Hinton liquide (Biokar) stérile. Les souches d'*E. coli* et *C. perfringens* ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24h. Pour la souche de *C. perfringens*, l'incubation a été réalisée dans une jarre d'anaérobiose en présence d'un mélange gazeux d'hydrogène et de dioxyde de carbone. Les charges bactériennes qui ont été obtenues pour les deux espèces correspondent à 10⁶ UFC/ml.

1.1.2 Les champignons

Les souches de champignons utilisées dans cette expérience ont été isolées dans notre laboratoire.

- *Candida albicans* dont les caractéristiques d'identification résumées dans le tableau 17 a été utilisée. Un volume de 50 µl contenant la souche *C. albicans* conservée dans le glycérol à 20%, a été additionné à 9 ml du milieu nutritif Sabouraud additionné de Chloramphénicol (Biokar) stérile. Le tube a été ensuite incubé à 30°C pendant 48h et le comptage des cellules s'est fait sur 10 rectangles à partir d'une microgoutte (10µl) sous microscope à l'aide d'une cellule de Malassez. La charge fongique obtenue était de 4. 10⁷ cellules/ml.

- *Aspergillus niger* dont les caractéristiques d'identification sont résumées dans le tableau 18 a été utilisée. Un volume de 40 µl provenant d'une culture liquide d'*A.niger* conservée dans du glycérol à 20%, a été additionné à 9ml du milieu de culture Sabouraud additionné de Chloramphénicol (Biokar) stérile. Le tube a été ensuite incubé à 25°C pendant 5 jours et le comptage des conidies s'est fait sur 10 rectangles d'une cellule de Malassez à partir d'une microgoutte de culture (10µl). La charge obtenue était de 10⁶ conidies/ml.

1.1.3 Les protozoaires

Les protozoaires utilisés dans cette expérience ont été récupérés à partir des fientes de volaille. Ils se composent d'oocystes de *Cryptosporidium*. Pour cela, les fientes ont été diluées dans du sérum physiologique stérile afin de récupérer les oocystes. Un volume de 200 ml a été centrifugé pendant 10 min à 7000 tours/min. Le culot récupéré a été dilué dans un volume de 200 ml de sérum physiologique et le nombre de conidies est compté dans 10 rectangles d'une lame Malassez. La charge en protozoaires obtenue était de 6,2 10⁷ cellules/ml.

Tableau 17: Identification de *Candida albicans*

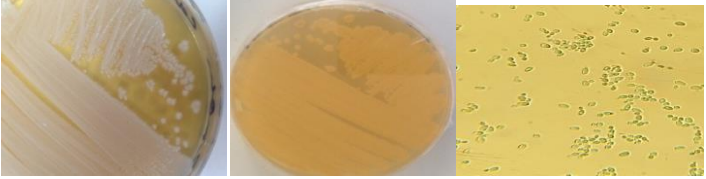

Isolat	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques	Identification
	Colonies couleur crème ; aspect cireux ; humides ; arrondies ; en lentille biconvexe ; de consistance crémeuse	Cellules ovoïdes (9µm) bourgeonnantes	<i>Candida albicans</i>

Tableau 18: Identification d'*Aspergillus niger*

Isolat	Caractères macroscopiques du thalle			Caractères microscopiques			Identification	
	Textures et topologies	Couleurs		Vitesse de croissance	Conidies	Conidiosphores		Taille de spore
		Recto	Verso					
	Plat et granuleux	Blanc puis jaune puis noirâtre	Incolore à jaune pâle	Rapide	Grosse conidies globuleuses	Large : 15-20µm Long : 1,5-3 mm Aspect lisse	5 µm	<i>Aspergillus Niger</i>

1.2 Préparation des biofilms

Pour chaque type de micro-organisme (bactéries, levures, moisissures ou protozoaires), le biofilm se forme expérimentalement sur un tuyau en PVC. La température ambiante de la pièce où l'expérience s'est déroulée est ajustée à 30°C à l'aide d'un chauffage électrique. Le montage se compose du bac 1 contenant l'eau contaminée par une charge déterminée de micro-organismes (bactéries, levures, moisissures ou protozoaires) et du bac 2 de récupération. Un tuyau en serpentin en PVC d'1 cm de diamètre relie les deux bacs. A la base du bac 1, un robinet permet d'assurer le passage d'un faible débit d'eau dans le tuyau. Le tuyau est disposé de telle sorte à ce qu'il favorise la stagnation de l'eau et l'adhésion des micro-organismes sur ses parois (figure 35).

Les 9 ml contenant les souches bactériennes ou fongiques préparées auparavant ont été ajoutés à 2 litres d'eau stérile pour alimenter le bac 1. A ce volume, les milieux nutritifs (Mueller Hinton (Biokar) (5g) pour les bactéries et Sabouraud additionné de Chloramphénicol (Biokar) (5g) pour les champignons) et 18 g de NaCl ont été additionnées à chaque mélange à part de micro-organismes. L'ajout de NaCl permet d'éviter l'éclatement des cellules.

Quant aux protozoaires, les 200 ml d'eau contenant les oocystes ont été complétés par 1,8 l d'eau stérile et versé dans un bac 1. Après 7 jours de circulation, on considère que les micro-organismes ont adhéré aux parois des tuyaux et qu'ils seraient prêts pour un éventuel traitement (figure 35).

1.3 Traitement des biofilms

1.3.1 Traitement par le NP Boisson®

Pour le traitement du biofilm, le NP Boisson® a été utilisé à deux concentrations (1 g/l et 2 g/l) (figure 35) et de deux manières:

- En traitement préventif pour empêcher l'adhésion microbienne aux parois des tuyaux et la formation du biofilm.
- En traitement curatif pour traiter les biofilms formés sur les parois des tuyaux.

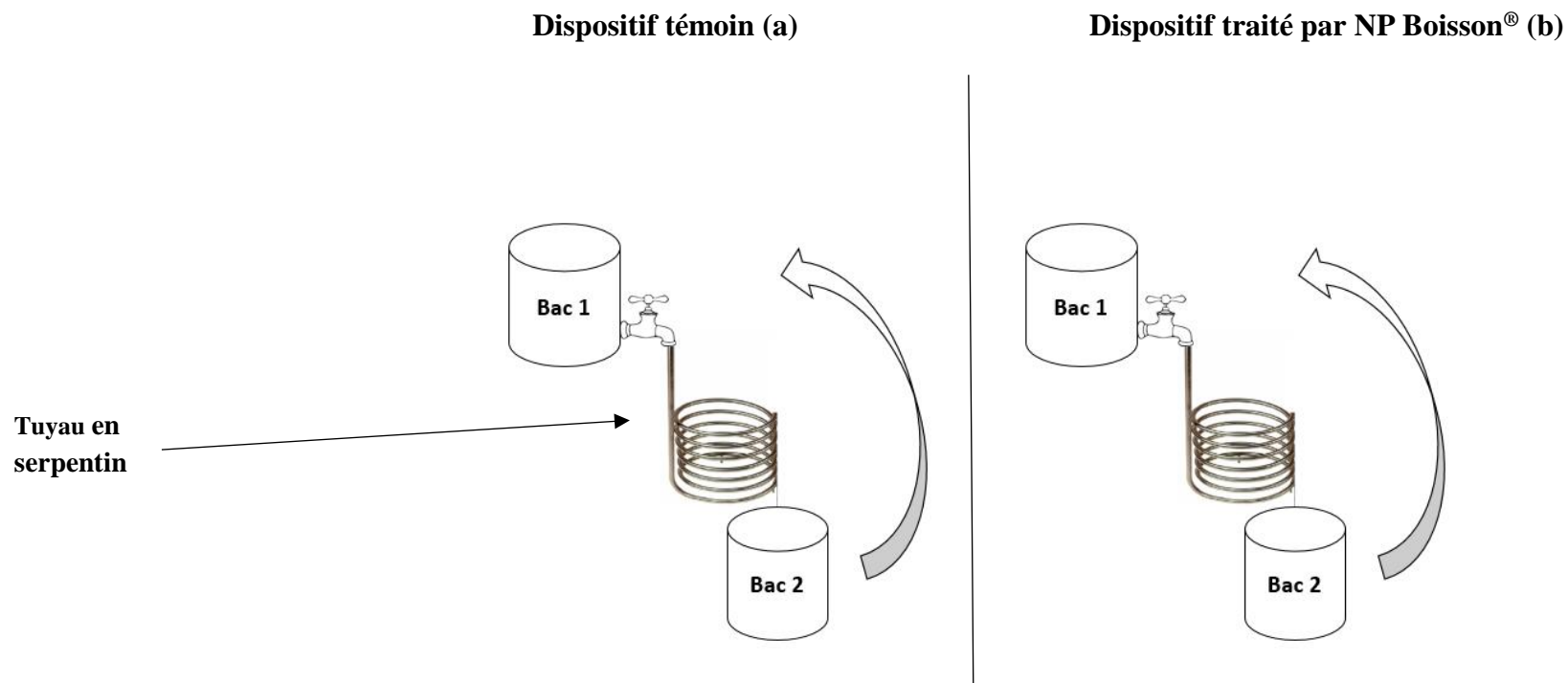


Figure 35: schéma du protocole expérimental

Le bac (1) contient l'eau contaminée par les micro-organismes (*E. coli* ; *C. perfringens* ; *C. albicans* ; *A. niger*; protozoaires)

Le bac (2) sert à récupérer l'eau du bac 1

(a) Bac du dispositif témoin : contiennent seulement l'eau contaminée par les micro-organismes

(b) Bac du dispositif traité : contiennent l'eau contaminée par les micro-organismes (*E.coli*, *C.perfringens* ; *C.albicans* ; *A.niger* ou protozoaires) + le NP Boisson® à 1 g/l ou à 2 g/l

1.3.1.1 Traitement préventif

Le traitement préventif a consisté à essayer d'empêcher l'adhésion et le développement des micro-organismes sur les parois des canalisations, en ajoutant dans le bac 1, le NP Boisson® pendant 3 semaines (21 jours), en présence permanente de chaque type de micro-organismes. Le dispositif témoin contient seulement l'eau chargée en micro-organismes.

1.3.1.2 Traitement curatif

Cette expérience a consisté à traiter les biofilms qui s'étaient déjà développés dans les tuyaux après une semaine (7 jours) de circulation de l'eau contaminée par les micro-organismes (bactéries, levures, moisissures et protozoaire). Après lavage des bacs et des tuyaux par une eau stérile, les bacs n°1 étaient alimentés par deux litres d'eau traitée par le NP Boisson®. Le temps du traitement était d'une semaine pour la concentration 1 g/l et de 24 h pour la concentration 2 g/l. Le dispositif témoin ne contient que l'eau chargée en micro-organismes seule.

1.4 Détection des biofilms résiduels

- Traitement préventif :

Au bout de trois semaines du traitement préventif des tuyaux, deux rinçages par une eau stérile ont été effectués pour éliminer les germes qui n'ont pas adhérents. Un troisième rinçage accompagné d'une agitation afin de décoller et récupérer le biofilm, a été effectué. Un échantillon d'eau du dernier rinçage a été récupéré pour l'analyse microbiologique.

- Traitement curatif :

Au bout de 24h du traitement par la concentration de 2g/l et une semaine par la concentration de 1g/l, deux rinçages par une eau stérile ont été effectués pour éliminer les germes qui n'ont pas adhéré. Un troisième rinçage accompagné d'une agitation afin de décoller et récupérer le biofilm, a été effectué. Un échantillon d'eau du dernier rinçage a été récupéré pour l'analyse microbiologique.

1.5 Analyses microbiologiques

1.5.1 La charge d'*Escherichia coli*

Le milieu utilisé pour la culture et le dénombrement d'*E. coli* est la gélose lactosée au désoxycholate (Biokar). Un millilitre de l'échantillon d'eau ayant traversé le tuyau a été déposé dans des boîtes de Petri stériles. La gélose lactosée a été ensuite coulée dans les boîtes (environ 20 ml par boîte) et homogénéisée parfaitement. Les boîtes ont été ensuite incubées à 44°C pendant 24h. L'essai a été réalisé en triplicate.

1.5.2 La charge de *Clostridium perfringens*

Pour la culture du *C. perfringens*, le milieu TSC (Tryptone Sulfite Cycloserine Agar) (Biokar) a été utilisé. Un millilitre de l'eau ayant traversé le tuyau traité a été déposé dans les boîtes de Petri stériles. Le milieu TSC a été ensuite coulé dans les boîtes et homogénéisé. Les boîtes ont été ensuite incubées en jarre d'anaérobiose pendant 24 heures à 37°C en présence d'un mélange gazeux d'hydrogène et de dioxyde de carbone. L'essai a été réalisé en triplicate.

1.5.3 La charge fongique (*Candida albicans* et *Aspergillus niger*)

Le milieu utilisé pour la culture et le dénombrement de *C. albicans* et d'*A. niger* est le milieu Sabouraud additionné de Chloramphénicol (Biokar). Ce dernier a été coulé dans les boîtes de Petri stériles (environ 20 ml par boîte). 100 µl de l'échantillon à analyser ont été transférés sur le milieu Sabouraud gélosé. L'inoculum a été étalé en surface à l'aide d'un étaleur en verre stérile et les boîtes ont été ensuite incubées à 27°C pendant 3 à 5 jours pour la détection d'*A. niger* et à 30°C durant 48h pour la détection de *C. albicans*. L'essai a été réalisé en triplicate.

1.5.4 Analyse de la charge en protozoaires

Concernant l'effet du produit sur les protozoaires, une microgoutte de l'échantillon d'eau (10µl) ayant traversé le tuyau est déposée entre lame et lamelle d'une cellule de Malassez et le nombre d'oocystes est compté sur 10 rectangles. L'essai a été réalisé en triplicate.

1.6 Etude comparative entre l'effet de NP Boisson® et un produit industriel couramment utilisé

Dans cette expérience, nous avons comparé l'effet du NP Boisson® à 2g/l à celui d'un produit chimique décapant couramment utilisé en élevage avicole, le DECAPACID à 0,5%. Le même protocole expérimental suivi pour l'installation, l'élimination et la détection de la couche microbienne a été suivi. La comparaison du résultat obtenu avec ce produit (DECAPACID 0,5 %) a été faite avec celui de NP Boisson® utilisé à la concentration de 2 g/l au bout de 24h.

1.7 Etude statistique

Les résultats des analyses effectuées sont exprimés par la moyenne et l'écart type. La significativité des résultats a été vérifiée par le test T de STUDENT en utilisant le SigmaStat 4.0. Le seuil de significativité choisi est de 5 % à $P < 0,05$.

Résultats

1. Action du NP Boisson[®] sur la charge bactérienne

1.1 La charge d'*Escherichia coli*

1.1.1 Test préventif de la formation du biofilm d'*Escherichia coli*

Les figures 36 (a) et 36 (b) représentent l'évolution de la charge en *E. coli* des eaux des tuyaux traitées, par les deux concentrations 1 g/l et 2 g/l de NP Boisson[®], par rapport aux eaux des tuyaux témoins non traités.

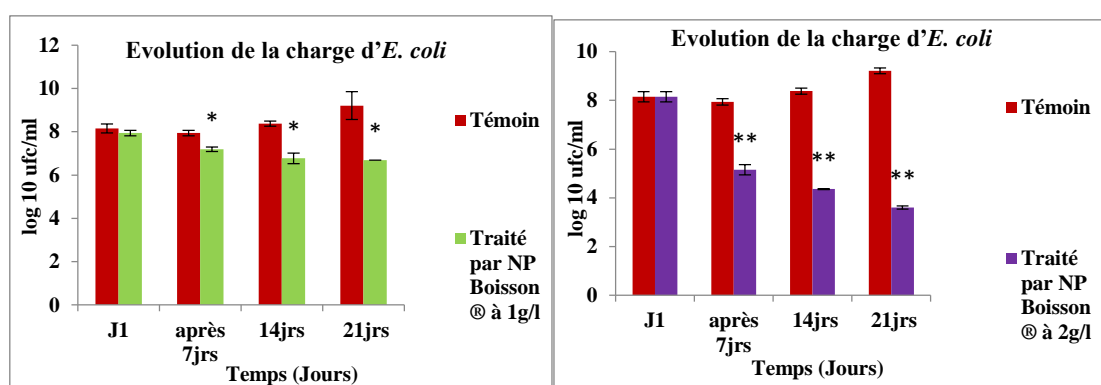


Figure 36 (a): Evolution de la charge d'*E. coli* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 1g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 comparé au témoin)

Figure 36 (b): Evolution de la charge d'*E. coli* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson[®] à 2 g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 ; **p<0,01 comparé au témoin)

Une réduction significative ($p<0,05$ et $p<0,01$) de la charge d'*E. coli* a été constatée pour les eaux qui ont traversé les tuyaux traités à la concentration de 1 g/l et 2 g/l de NP Boisson[®] en fonction du temps par rapport aux eaux des tuyaux témoins non traités. On constate aussi que le traitement par la concentration 2 g/l de NP Boisson[®], a permis d'obtenir une réduction beaucoup plus importante d'environ 6 unités de logarithmiques.

1.1.2 Traitement curatif du biofilm formé par *Escherichia coli*

Les figures 37 (a) et 37 (b) représentent la variation de la charge bactérienne en *E. coli* des eaux traversant les tuyaux infectés après traitement pendant 7 jours à la concentration 1 g/l de NP Boisson[®], et 24 h à la concentration 2 g/l de Boisson[®] par rapport aux eaux des tuyaux témoins non traités.

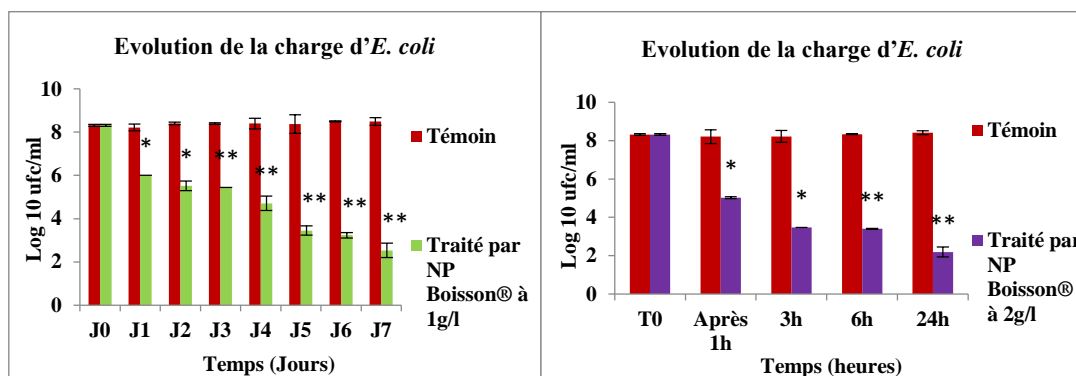


Figure 37 (a): Evolution de la charge d'*E. coli* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ comparé au témoin)

Figure 37 (b) : Evolution de la charge d'*E. coli* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ comparé au témoin)

On constate une importante réduction ($p < 0,05$ et $p < 0,01$) de la charge d'*E. coli* pour l'eau traversant les tuyaux traités par les deux concentrations 1g/l et 2g/l de NP Boisson®, par rapport aux tuyaux témoins non traités. Cependant, le traitement par la concentration de 2g/l durant seulement 24h a montré une réduction de la charge d'*E. coli* plus importante que celle de la concentration 1g/l pendant 7 jours, elle est d'environ 6 unités de log.

1.2 La charge de *Clostridium perfringens*

1.2.1 Test préventif de la formation du biofilm de *Clostridium perfringens*

Les figures 38 (a) et 38 (b) représentent l'évolution de la charge en *C. perfringens* des eaux des tuyaux traitées par les deux concentrations 1 g/l et 2 g/l de NP Boisson®, par rapport aux eaux des tuyaux témoins non traités.

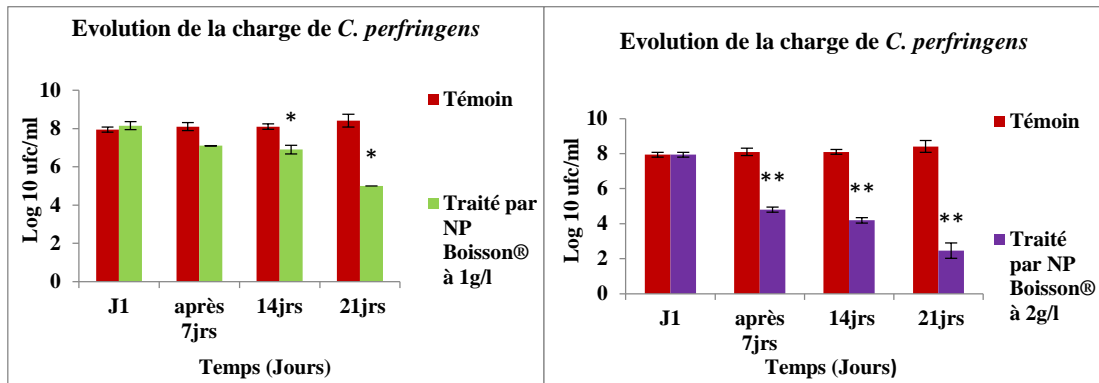


Figure 38 (a) : Evolution de la charge de *C. perfringens* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$ comparé au témoin)

Figure 38 (b) : Evolution de la charge de *C. perfringens* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2g/l par rapport au témoin non traité (** $p < 0,01$ comparé au témoin)

Une réduction significative ($p < 0,05$ et $p < 0,01$) de la charge de *C. perfringens* a été constatée après traitement par les deux concentrations 1g/l et 2g/l de NP Boisson® comparée aux tuyaux témoins non traités. Cependant, la réduction en *C. perfringens* est plus importante pour la concentration de 2g/l. Elle est d'environ 6 unités de logs.

1.2.2 Traitement curatif du biofilm formé par *Clostridium perfringens*

Les figures 39 (a) et 39 (b) représentent la variation de la charge en *C. perfringens* des eaux traversant les tuyaux infectés après traitement pendant une semaine à la concentration 1 g/l de NP Boisson® et 24 h à la concentration de 2 g/l de NP Boisson® par rapport aux tuyaux témoins non traités.

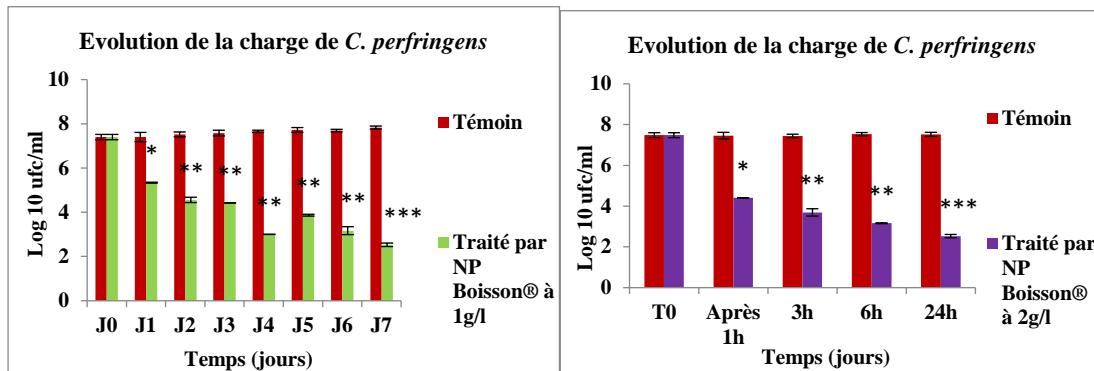


Figure 39 (a) : Evolution de la charge de *C. perfringens* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparé au

Figure 39 (b) : Evolution de la charge de *C. perfringens* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparé au témoin)

Une réduction de la charge en *C. perfringens* en fonction du temps a été constatée dans les eaux ayant traversé les tuyaux traités par rapport à l'eau des tuyaux non traités. La différence est significative ($p < 0,05$, $p < 0,01$ et $p < 0,001$) pour l'ensemble des prélèvements. Le traitement a permis l'obtention d'une réduction d'environ 5 unités de log pour les deux concentrations 1 et 2g/l de NP Boisson®, sachant que le traitement par 2 g/l n'a duré que 24h.

2. Action du NP Boisson® sur la charge fongique

2.1 La charge de *Candida albicans*

2.1.1 Test préventif de la formation du biofilm de *Candida albicans*

Les figures 40 (a) et 40 (b) représentent l'évolution de la charge de *C. albicans*, durant les trois semaines de traitement par le NP Boisson® dans les eaux des tuyaux traitées par rapport aux témoins non traités.

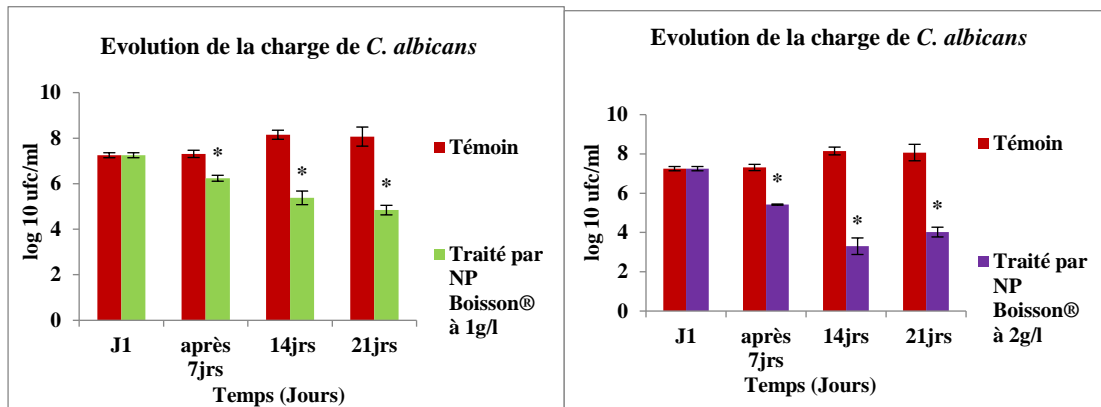


Figure 40 (a) : Evolution de la charge de *C. albicans* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 comparé au témoin)

Figure 40 (b) : Evolution de la charge de *C. albicans* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 comparé au témoin)

Une réduction significative ($p < 0,05$) de la charge de *C. albicans* a été constatée après traitement par les deux concentrations 1g/l et 2g/l de NP Boisson®, contrairement aux tuyaux témoins non traités où la charge de *C. albicans* est restée élevée.

2.1.2 Traitement curatif du biofilm formé par *Candida albicans*

L'évolution de la charge fongique en *C. albicans* des eaux après traitement par le NP Boisson® des tuyaux infectés par rapport aux eaux des tuyaux témoins non traités, est représentée sur les figures 41 (a) et 41 (b).

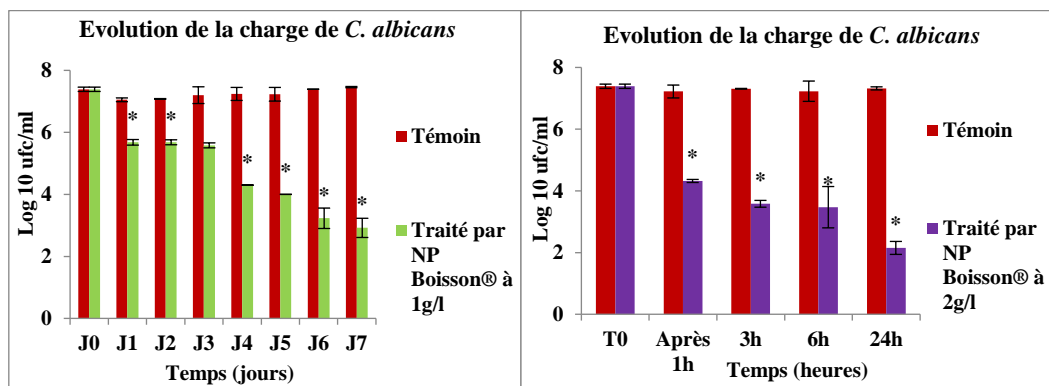


Figure 41 (a) : Evolution de la charge de *C. albicans* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 comparé au témoin)

Figure 41 (b) : Evolution de la charge de *C. albicans* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 ; comparé au témoin)

On assiste après traitement par les deux concentrations de NP Boisson® (1g/l et 2g/l) à une importante réduction ($p < 0,05$ et $p < 0,01$) de la charge de *C. albicans*. Cependant le traitement à 2g/l pendant seulement 24h a permis d'obtenir une réduction de l'ordre de 5 unités de log, plus importante que celle obtenue pour 1g/l pendant 7jours.

2.2 La charge d'*Aspergillus niger*

2.2.1 Test préventif de la formation du biofilm d'*Aspergillus niger*

Les figures 42 (a) et 42 (b) représentent l'évolution de la charge d'*A. niger* dans les tuyaux traités aux deux concentrations 1 g/l et 2 g/l de NP Boisson®, par rapport aux témoins non traités.

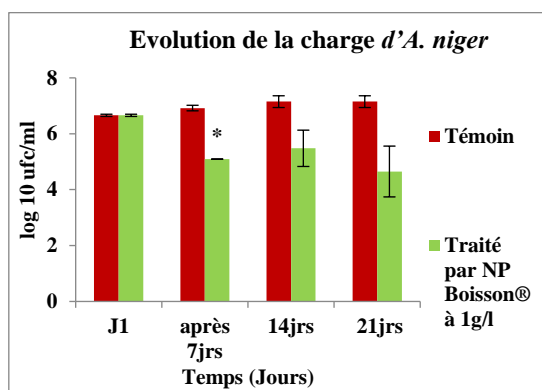


Figure 42 (a) : Evolution de la charge d'*A. niger* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$ comparé au témoin)

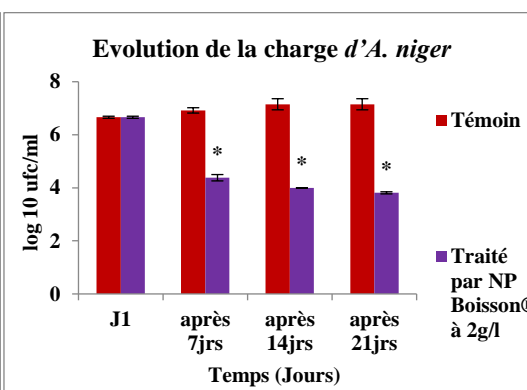


Figure 42 (b) : Evolution de la charge d'*A. niger* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ comparé au témoin)

La charge d'*A. niger* a été également réduite pour les tuyaux traités par le NP Boisson® par rapport au témoin. La différence de la charge fongique est significative ($p < 0,05$ et $p < 0,01$) après 7 jours du traitement pour les deux concentrations testées. Cependant, le traitement par 2 g/l du NP Boisson® a permis une réduction plus importante de la charge d'*A. niger* d'environ 3 unités de log.

2.2.2 Traitement du biofilm formé par *Aspergillus niger*

L'évolution de la charge fongique en *A. niger* des eaux après traitement des tuyaux infectés par le NP Boisson par rapport aux eaux des tuyaux témoins non traités, est représentée sur les figures 43 (a) et 43 (b).

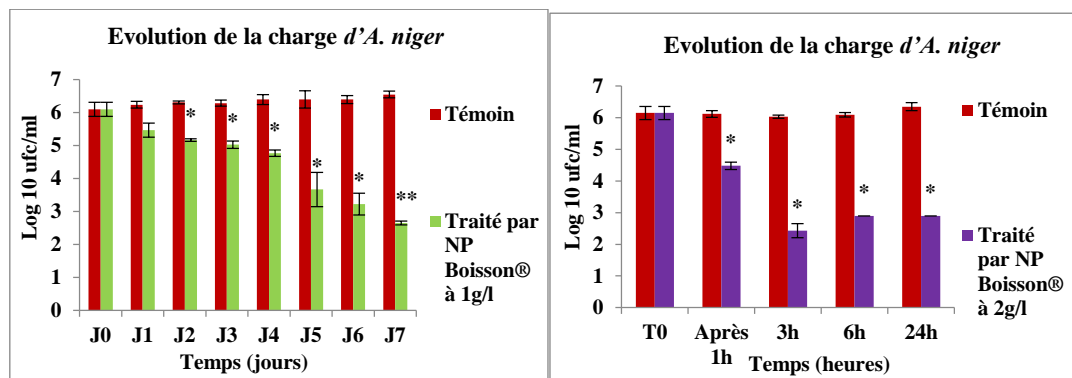


Figure 43 (a) : Evolution de la charge d'*A. niger* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 ; **p<0,01 comparé au témoin)

Figure 43 (b): Evolution de la charge d'*A. niger* dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 comparé au témoin)

La réduction de la charge en *A. niger* de l'eau du tuyau traité par la concentration 1 g/l de NP Boisson® ne devient significative (p<0,05 et p<0,01) qu'à partir de 48h. Alors que pour la concentration de 2 g/l, la réduction de la charge en *A. niger* est très significative après 3h de traitement.

3. Action du NP Boisson® sur la charge en protozoaires

3.1 Test préventif de la formation du biofilm des protozoaires

L'évolution de la charge en protozoaires des eaux des tuyaux traités aux deux concentrations 1 g/l et 2 g/l de NP Boisson®, par rapport aux témoins non traités est représentée sur les figures 44 (a) et 44 (b).

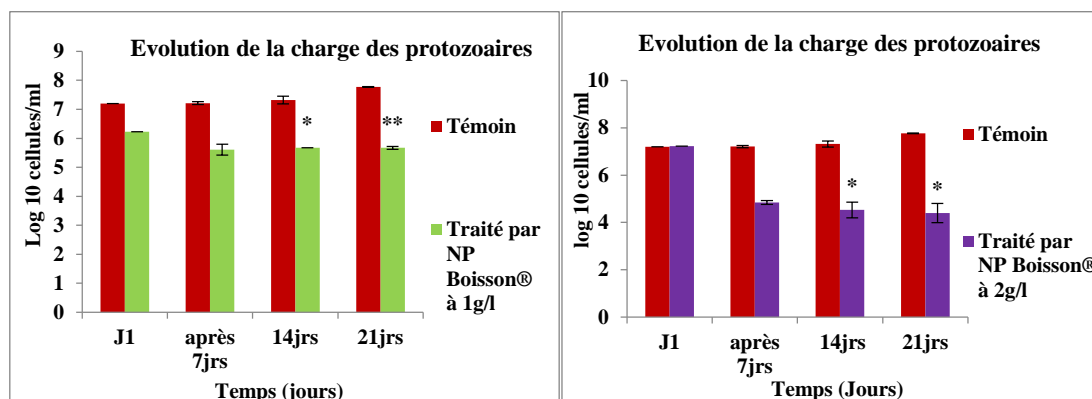


Figure 44 (a): Evolution de la charge des protozoaires dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ comparé au témoin)

Figure 44 (b) : Evolution de la charge des protozoaires dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2g/l par rapport au témoin non traité (* $p < 0,05$ comparé au témoin)

On constate une réduction significative ($p < 0,05$ et $p < 0,01$) de la charge des protozoaires après traitement par le NP Boisson® pendant 21 jours de traitement par rapport aux tuyaux témoins, alors que la charge en protozoaires est élevée dans les tuyaux témoins non traités. Pour la concentration de 2 g/l de NP Boisson®, on constate une réduction plus importante qui est de l'ordre de 3 unités de log.

3.2 Traitement du biofilm formé par des protozoaires

Les figures 45 (a) et 45 (b) représentent l'évolution de la charge en protozoaires des eaux qui ont traversé les tuyaux traité par le NP Boisson® et non traité en fonction du temps.

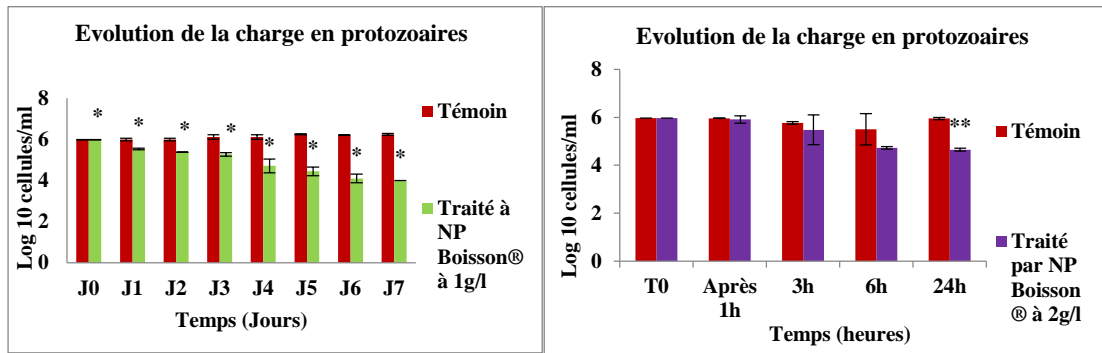


Figure 45 (a) : Evolution de la charge en protozoaires dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 1 g/l par rapport au témoin non traité (*p<0,05 comparé au témoin)

Figure 45 (b) : Evolution de la charge en protozoaires dans l'eau ayant traversé les tuyaux après traitement par le NP Boisson® à 2 g/l par rapport au témoin non traité (**p<0,01 comparé au témoin)

Une réduction significative ($p < 0,05$) de la charge a été constatée pour l'eau prélevée du tuyau traité par la concentration 1 g/l de NP Boisson® par rapport au témoin pour les différents prélèvements effectués. Cependant, la charge en protozoaires du tuyau traité à la concentration 2 g/l de NP Boisson® est réduite d'une façon très significative ($p < 0,01$) et ce, après 24 h du traitement seulement.

4. Etude comparative entre l'effet de NP Boisson® et un produit industriel couramment utilisé (DECAPACID 0,5%)

La figure 46 présente l'effet du traitement par le NP Boisson® et par DECAPACID à 0,5% sur la réduction de la charge bactérienne, fongique et en protozoaires par rapport au témoin non traité.

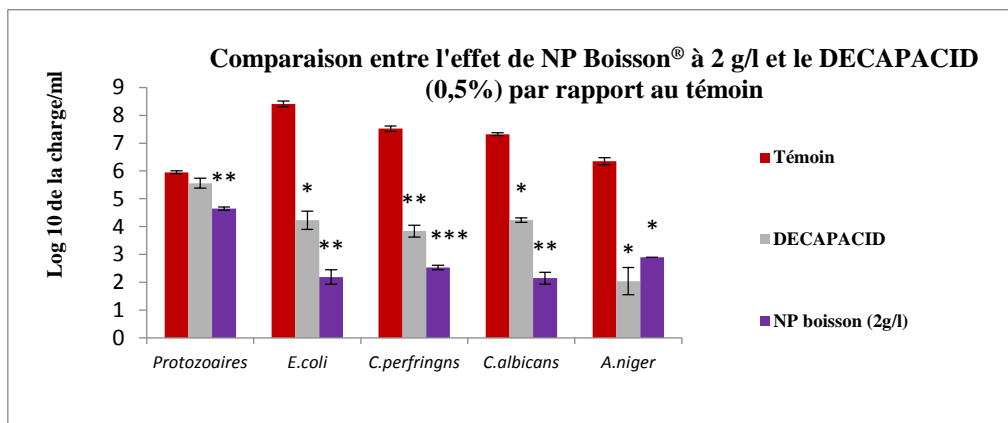


Figure 46 : Effet du traitement par le NP Boisson® et par DECAPACID (0,5%) sur la réduction de la charge bactérienne, fongique et en protozoaires par rapport au témoin non traité (*p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001 comparé au témoin)

L'utilisation de DECAPACID (0,5%) a permis d'obtenir une réduction significative ($p < 0,05$; $p < 0,01$) de la charge bactérienne et de la charge fongique par rapport au témoin alors que le NP Boisson® à la concentration de 2 g/l a permis d'obtenir une réduction beaucoup plus importante d'environ 5 unités logarithmiques pour *E. coli* et d'environ 4 unités logarithmiques pour *C. perfringens* et *C. albicans*. Concernant *A. niger*, on constate une réduction à peu près similaire pour le NP Boisson et le DECAPACID. Pour la charge en protozoaires, la réduction n'est significative ($p < 0,01$) que pour le NP boisson® à 2 g/l.

Discussion

Pour remédier aux problèmes liés à l'adhésion des micro-organismes aux parois des systèmes d'abreuvement et la formation des biofilms, nous avons effectué une analyse des dépôts figurés au niveau des parois des réservoirs d'eau d'abreuvement et des tuyauteries. Cette analyse nous a permis de constater la présence d'une couche de micro-organismes diversifiée formée de bactéries, de champignons et de protozoaires (résultats préliminaires non montrés), implantés au niveau des parois du réservoir et des pipettes. Ceci nous a poussé à émettre l'hypothèse que ces micro-organismes proviennent de la source d'eau (eau souterraines ou de surface) et adhèrent aux parois du réservoir d'eau et des tuyauteries pour proliférer et contaminer les animaux pendant la période d'élevage. Ce phénomène a été décrit par plusieurs auteurs qui traitent la problématique des biofilms dans les canalisations d'eau (Hall-Stoodelay et coll, 2004; Clutterbuck et coll, 2007; Jacques et coll, 2010; Tremblay et coll, 2014).

Pour cela, nous avons mis au point un dispositif dans lequel l'eau circule d'un réservoir vers un autre à travers un tuyau en PVC transparent similaire aux tuyaux utilisés en élevage avicole. Ce dispositif expérimental permet un écoulement de l'eau à faible débit afin de simuler les conditions d'abreuvement des animaux. Ainsi l'eau était en état de stagnation partielle au niveau du réservoir initial et aussi au niveau des tuyaux.

L'analyse des parois du réservoir et des tuyauteries effectuée au cours de l'élevage nous a permis de constater que les micro-organismes formant les biofilms étaient de natures différentes: bactéries, champignons et protozoaires. Dans cette expérience, nous avons testé l'effet préventif du NP Boisson® sur chacun d'entre eux. Nous avons testé l'activité bactéricide sur des souches de bactéries aérobie (*Escherichia coli*) et anaérobie (*Clostridium perfringens*). Les résultats montrent une réduction significative (environ une unité logarithmique) lorsque le réservoir initial, contenant une charge d'*E. coli* (10^8 UFC/ml), est traité par le NP Boisson® à la concentration de 1 g/l. Et lorsque le NP Boisson® est utilisé à la concentration de 2 g/l, la réduction est beaucoup plus importante, car elle est réduite d'environ 3 unités logarithmiques en une semaine. Ces résultats nous ont permis de constater que le NP Boisson® ajouté à l'eau d'abreuvement est capable d'empêcher à titre préventif le foisonnement d'*E. coli* au niveau du réservoir et aussi au niveau des tuyaux. Cette constatation nous a amené à vérifier si le NP

Boisson® serait aussi capable de combattre *E.coli*, lorsqu'elle est déjà fixée sur les parois du réservoir et des tuyaux. Les résultats obtenus, montrent que le traitement à la concentration de 1g/l permet de diminuer d'environ 2 unités logarithmiques le nombre des bactéries recueillies au niveau des tuyaux après seulement 24h de traitement. Cette diminution continue dans le temps pour atteindre environ 6 unités logarithmiques au bout de 7 jours. L'utilisation de NP Boisson® à 2 g/l montre une diminution de la charge d'*E. coli* de 3 unités logarithmiques en seulement 24h de traitement. Ces résultats permettent de constater, d'une part, que le NP Boisson® est capable de prévenir l'adhésion et la prolifération d'*E. coli* sur les parois des systèmes d'abreuvement et, d'autre part, que le NP Boisson® utilisé aux deux concentrations (1 et 2 g/l) permet de combattre et d'éliminer les biofilms déjà formés. Précisons que les deux doses (1 et 2 g/l) sont très bien tolérées par les animaux et ne présentent aucune toxicité aiguë ou chronique. Des résultats similaires ont été obtenus avec l'espèce anaérobie (*C. perfringens*), les champignons et les protozoaires.

Généralement, les traitements anti-biofilms sont effectués pendant la période de vide sanitaire. Le NP Boisson® possède l'avantage d'être utilisé en présence des animaux en exerçant une action désinfectante de l'eau et des parois du circuit d'abreuvement et en améliorant les performances zootechniques des animaux comme en témoignent les résultats de la 2^{ème} partie de ce travail. Ceci nous permet de considérer que le NP Boisson® est une solution idéale, peu coûteuse et produite localement. Le NP Boisson® est capable de résoudre les problèmes liés à l'eau d'abreuvement, tout en jouant le rôle de promoteur de croissance.

Nous avons effectué un test comparatif entre un produit commercialisé comme étant un antibiofilm (DECAPACID à 0,5%) et le NP Boisson® à la concentration de 2 g/l. Les résultats obtenus montrent que le DECAPACID à 0,5% est efficace dans notre dispositif expérimental mais le NP Boisson® à 2 g/l a montré une efficacité nettement supérieure. Quant à la composition chimique du DECAPACID 0,5% qui est un mélange de deux acides inorganiques (l'acide nitrique et l'acide phosphorique). Ces derniers ne doivent pas être donnés aux animaux avec des doses utilisées pour la désinfection.

Conclusion générale et perspectives

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude *in vitro* et *in vivo* de l'activité antimicrobienne du produit innovant NP Boisson® (FR 1670691) et son pouvoir limitant l'adhésion des micro-organismes pathogènes aux parois des canalisations d'abreuvement. Nous avons également évalué l'effet d'une variante du produit NP Boisson® appelée NP Boisson plus®, sur la réduction de la pollution physico-chimique de l'eau d'abreuvement.

Dans la première partie, l'étude *in vitro* de l'action du NP Boisson® sur la réduction de la charge des différents types de micro-organismes présents dans l'eau d'abreuvement, permet de constater une activité antibactérienne, antifongique et antiparasitaire d'autant plus importante que la concentration du NP Boisson® est élevée.

Le NP Boisson plus®, assure l'amélioration de la qualité physico-chimique de l'eau en termes de réduction de la dureté, des nitrites et de quelques métaux lourds qui sont le zinc et le chrome.

La présence des germes pathogènes dans l'eau d'abreuvement constitue un risque d'affaiblissement de la santé de la volaille et de la réduction des performances zootechniques. Nous avons ainsi consacré la deuxième partie de ce travail à l'évaluation *in vivo* de l'effet du traitement de l'eau d'abreuvement stagnante et non stagnante par le NP Boisson® sur la flore intestinale et les paramètres zootechniques des animaux et ce en utilisant deux concentrations différentes: 1 g/l et 2 g/l. Les résultats obtenus montrent un effet positif du traitement de l'eau sur la réduction de la flore intestinale des animaux et sur l'amélioration du poids, du gain de poids, de la consommation alimentaire et de l'IC. L'effet du NP Boisson® est d'autant plus important avec une concentration de 2 g/l.

Dans la troisième partie, après isolement des espèces qui forment des biofilms sur les parois des réservoirs et des canalisations d'eau en élevage avicole, nous avons testé le pouvoir antibactérien, antifongique et antiparasitaire du NP Boisson® en utilisant les deux concentrations 1 g/l et 2 g/l. Deux essais ont été effectués, le premier est un test préventif de la formation des biofilms sur les parois des tuyauteries, et le deuxième consiste au traitement des biofilms déjà formés. Notre produit permet de réduire significativement la charge des biofilms fixée sur les parois pour les deux types de tests effectués.

En perspective, il serait intéressant de tester l'effet du NP Boisson® et celui du NP Boisson plus® sur les eaux utilisées en abreuvement des autres espèces animales tels que les ruminants, les lapins, les chevaux ou autres.

L'effet des deux produits peut être aussi testé sur les eaux chargées en micro-organismes et en graisses, provenant des boyauderies, des abattoirs et des usines de fermentations.

Le NP Boisson® et le NP Boisson plus® pourraient également être utilisés pour le traitement des eaux hospitalières afin de les débarrasser des résidus biologiques tels que les virus et les germes multi-résistants et des résidus médicamenteux et limiter par conséquent, les risques pour l'environnement et pour l'homme.

D'autres produits peuvent être développés pour traiter d'autres types d'eau, comme les eaux saumâtres, les eaux chargées en métaux lourds et aussi les eaux présentant une pollution organique comme la DCO et la DBO.

Références bibliographiques

- **Abdoune, M. A.** L'effet préventif de quelques huiles essentielles contre la croissance et la formation de biofilms de certains pathogènes de la cavité buccale. Magister en Biologie (option: Maîtrise de la Qualité Microbiologique et du Développement Microbien), 2014, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Tlemcen. Algérie.
- **Ait-Boulahsen, A., Garlich, J. D. and Edens, F.W.** (1995). Potassium chloride improves the thermotolerance of chickens exposed to acute heat stress. *Poultry Science*, 74(1), 75-87.
- **Al-gabr, H.M., Zheng, T. and Yu, X.** (2014). Occurrence and quantification of fungi and detection of mycotoxigenic fungi in drinking water in Xiamen City, China. *Science of the Total Environment*, 466,1103–1111
- **Ali, M. and Sreekrishnan, T. R.** (2001). Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. *Advances in environmental research*, 5(2), 175-196.
- **Allegrini, M., Siméon, M., Maillos, H. and Boiloot, A.** (1973). Émulsions et applications en microbiologie. *Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier*, 33, 73-86.
- **Alleman, F., Gabriel, I., Dufourcq, V., Perrin, F. and Gabarrou, J. F.** (2013). Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles. 1. Performances de croissance et réglementation. *INRA Productions Animales*, 26(1), 3-12.
- **Alloui, M. N.** (2011). Les phytobiotiques comme alternative aux antibiotiques promoteurs de croissance dans l'aliment des volailles. *Livestock Research for Rural Development*, 23(6), 133.
- **Anon.** (2007): Guide d'élevage du poulet de chair. Objectifs de rendements. ROSS 308. Aviagen
- **Anon.** (2008): Guide d'élevage du poulet de chair. La qualité de l'eau ; ROSS TECH 07/47. Aviagen
- **Anon.** (2012): Guide d'élevage du poulet de chair. Optimisation de l'indice de consommation du poulet de chair ; Technotes: 1-2. Aviagen
- **Arras, G. and Usai, M.** (2001). Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest *Citrus* pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil

and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection*, 64(7), 1025-1029.

- **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M.** (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- **Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A. and Laglaoui, A.** (2016). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha*: *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. *Phytothérapie*, 14(2), 88-96.
- **Baydar, N. G., Özkan, G. and Sağdıç, O.** (2004). Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera L.*) extracts. *Food Control*, 15(5), 335-339.
- **Beker, A. and Teeter, R. G.** (1994). Drinking water temperature and potassium chloride supplementation effects on broiler body temperature and performance during heat stress. *The Journal of Applied Poultry Research*, 3(1), 87-92.
- **Belghiti, M. L., Chahlaoui, A., Bengoumi, D. and El Moustaine, R.** (2013). Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de la nappe plio-quaternaire dans la région de Meknès (maroc). *LARHYSS Journal ISSN*, 14, 1112-3680,
- **Bengoumi, M., Traoure, A., Bouchriti, N., Bengoumi, D. and El Haraiki, A.** (2004). Qualité de l'eau en avicole. *Revue trimestrielle d'information scientifique et technique*, 3(1), 5-29.
- **Bennis, S., Chami, F., Chami, N., Bouchikhi, T. and Remmal, A.** (2004a). Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. *Letters Applied Microbiology*, 38 (6), 454-458.
- **Bennis, S., Chami, F., Chami, N., Rayour, K., Tantaoui-Elaraki, A. and Remmal, A.** (2004b). Eugenol induces damage of bacterial and fungal envelope. *Moroccan Journal of Biology*, 1, 33- 39.
- **Benouda, A.** (1982). Les propriétés antiseptiques des huiles essentielles de trois plantes médicinales marocaines: l'armoise blanche, le thym et l'eucalyptus. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine et pharmacie Rabat.

- **Bolton, W., Dewar, W. A., Jones, R. M. and Thompson, R.** (1972). Effect of stocking density on performance of broiler chicks. *British Poultry Science*, 13 (2), 157-162.
- **Bolukbasi, S. C., Erhan, M. K. and Ozkan, A.** (2006). Effect of dietary thyme oil and vitamin E on growth, lipid oxidation, meat fatty acid composition and serum lipoproteins of broilers. *South African Journal of Animal Science*, 36(3), 189-196.
- **Braga, P. C., Alfieri, M., Culici, M. and Dal Sasso, M.** (2007). Inhibitory activity of thymol against the formation and viability of *Candida albicans* hyphae. *Mycoses*, 50(6), 502-506.
- **Braga, P. C., Culici, M., Alfieri, M. and Dal Sasso, M.** (2008). Thymol inhibits *Candida albicans* biofilm formation and mature biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31(5), 472-477.
- **Brenes, A. and Roura, E.** (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1), 1-14.
- **Briandet, R., Fechner, L., Naïtali, M. and Dreanno, C.** (2012). Biofilms, quand les microbes s'organisent. Editions Quae.
- **Bridier, A., Briandet, R., Thomas, V. and Dubois-Brissonnet, F.** (2011). Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. *Biofouling*, 27(9), 1017-1032.
- **Broudiscou, L.P., Cornu, A., Rouzeau, A.,** (2007). *In vitro* degradation of 10 mono- and sesquiterpenes of plant origin by caprine rumen microorganisms. *Journal of the Sciences of Food and Agriculture*, 87, 1653-1658.
- **Bureau d'audiences publiques sur l'environnement (Bape),** (2000). Rapport de la Commission sur la gestion de l'eau au Québec L'eau, ressource à protéger, à partager et à mettre en valeur. Repéré à <http://www.bape.gouv.qc.ca/sections/archives/eau/rapport/bape142-2.pdf>
- **Burt, S.** (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.

- **Castanon, J.I.R.** (2007). Review: history of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Sciences*, 86, 2466–2471.
- **Castro-Hermida, J. A., García-Preledo, I., Almeida, A., González-Warleta, M., Da Costa, J. M. C. and Mezo, M.** (2009). Detection of *Cryptosporidium spp.* and *Giardia duodenalis* in surface water: a health risk for humans and animals. *Water research*, 43(17), 4133-4142.
- **Cazarolli, L. H., Zanatta, L., Alberton, E. H., Figueiredo, B., Reis, M. S., Folador, P. and Mena, F. R.** (2008). Flavonoids: prospective drug candidates. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 8(13), 1429-1440.
- **Ceylan, E. and Fung, D. Y.** (2004). Antimicrobial activity of spices. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 12(1), 1-55.
- **Chami, F., Chami, N., Bennis, S., Trouillas, J. and Remmal, A.** (2004). Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54, 909-914.
- **Chami, F., Chami, N., Bennis, S., Bouchikhi, T. and Remmal, A.** (2005). Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytotherapy*, 19,405-408.
- **Chami, N., Bennis, S., Chami, F., Aboussekhra, A. and Remmal, A.** (2005). Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol *in vitro* and *in vivo*. *Oral Microbiology and Immunology*, 20, 106-111.
- **Chami, N., Chami, F., Bennis, S., Trouillas, J. and Remmal, A.** (2004). Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 8, 217-226.
- **Chemat, F., AbertVian, M. and Dangles, O.** (2007). Essential oils as antioxidants. *International Journal of Essential Oils Therapy*, 1, 4-15.
- **Chaveerach, P., Keuzenkamp, D. A., Lipman, L. J. A. and Van Knapen, F.** (2004). Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological cell changes. *Poultry Science*, 83(3), 330-334.

- **Číž, M., Čížová, H., Denev, P., Kratchanova, M., Slavov, A. and Lojek, A.** (2010). Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables. *Food Control*, 21(4), 518-523.
- **Clausen, E.M., Green, B.L. and Litsky, W.** (1977). Fecal streptococci: indicators of pollution. In Bacterial Indicators/Health hazards associated with water. *American Society for Testing and Materials*, (635),247-264.
- **Clutterbuck, A. L., Woods, E. J., Knottenbelt, D. C., Clegg, P. D., Cochrane, C. A. and Percival, S. L.** (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary microbiology*, 121(1), 1-17.
- **Costerton, J. W., Stewart, P. S. and Greenberg, E. P.** (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.
- **Cowan, M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- **Cross, D. E., Svoboda, K., McDevitt, R. M. and Acamovic, T.** (2003). The performance of chickens fed diets with and without thyme oil and enzymes. *British Poultry Science*, 44(S1), 18-19.
- **Cross, D.E., McDevitt, R.M., Hillman, K. and Acamovic, T.** (2007). The effect of herbs and dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Poultry Science*, 44, 450-457.
- **Cross, D. E., McDevitt, R. M. and Acamovic, T.** (2011). Herbs, thyme essential oil and condensed tannin extracts as dietary supplements for broilers, and their effects on performance, digestibility, volatile fatty acids and organoleptic properties. *British poultry science*, 52(2), 227-237.
- **Dalleau, S., Cateau, E., Bergès, T., Berjeaud, J. M. and Imbert, C.** (2008). *In vitro* activity of terpenes against *Candida* biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31(6), 572-576.
- **De Beer, D., Srinivasan, R. and Stewart, P. S.** (1994). Direct measurement of chlorine penetration into biofilms during disinfection. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(12), 4339-4344.

- **De Carvalho, C. C. and Da Fonseca, M. M. R.** (2007). Preventing biofilm formation: promoting cell separation with terpenes. *FEMS microbiology ecology*, 61(3), 406-413.
- **Dégbey, C., Makoutode, M., Ouendo, E. M., Fayomi, B. and De Brouwer, C.** (2008). La qualité de l'eau de puits dans la commune d'Abomey-Calavi au Bénin. *Environnement, Risques and Santé*, 7(4), 279-283.
- **Dennery, G., Dezat, E. et Aubert, C.** (2012). L'eau en élevage avicole, une consommation maîtrisée. ITAVI, Recueil de données.
- **Dennery, G., Roussel, P., Martineau, C., Brunschwig, P., Thomas, J., Quillien, J. P. and Lowagie, S.** (2013). Maîtrise des consommations d'eau en élevage: élaboration d'un référentiel, Identification des moyens de réduction, Construction d'une démarche de diagnostic. *Innovations Agronomiques*, 30 (2013), 87-101.
- **Diarra, M.S., Delaquis, P., Rempel, H., Bach, S., Harlton, C., Aslam, M., et al.** (2014). Antibiotic resistance and diversity of *Salmonella enterica* serovars associated with broiler chickens. *Journal of Food Protection* 77, 40–99.
- **Djilani, C.** (2006). Analyse et traitement des eaux de rejets de l'unité VCM du complexe pétrochimique de Skikda. Mémoire de Magister. Université de Skikda.
- **Dominik, J., Vignati, D. A. L., Koukal, B., Pereira de Abreu, M. H., Kottelat, R., Szalinska, E. and Bobrowski, A.** (2007). Speciation and environmental fate of chromium in rivers contaminated with tannery effluents. *Engineering in Life Sciences*, 7(2), 155-169.
- **Donham, K. J., Scallon, L. J., Popendorf, W., Treuhaft, M. W., and Roberts, R. C.** (1986). Characterization of dusts collected from swine confinement buildings. *The American Industrial Hygiene Association Journal*, 47(7), 404-410.
- **Donoghue, D. J.** (2003). Antibiotic residues in poultry tissues and eggs: human health concerns. *Poultry Science*, 82(4), 618-621.
- **Dorman, H. J. D. and Deans, S. G.** (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.

- **Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N. and Heederik, D.** (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Annals of Occupational Hygiene*, 47(3), 187-200.
- **Edberg, S. C. L., Rice, E. W., Karlin, R. J., and Allen, M. J.** (2000). Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*, 88(S1).
- **El-Ghousein S.S. and Al-Beitawi N.A.** (2009). The effect of feeding of crushed thyme (Thymus extracts) on performance, carcass characteristics, digestive system development, intestinal microflora and some blood parameters of broiler chicks. In 12th European Poultry Conference, Verona, Italy.
- **Elkins, J. G., Hassett, D. J., Stewart, P. S., Schweizer, H. P. and McDermott, T. R.** (1999). Protective role of catalase in Pseudomonas aeruginosa biofilm resistance to hydrogen peroxide. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10), 4594-4600.
- **El Moustaine, R., Chahlaoui, A., Bengoumi, D., Rour, E. H. and Belghiti, L.** (2013). Qualité de l'eau d'abreuvement en élevage avicole dans la région de MEKNES (MAROC) Impact sur la santé et la production. *LARHYSS Journal ISSN 1112-3680*, (13).
- **Enkiri, F., Legrand, J. Y., Squinazi, F., Ponelle, J. C. and Leroy, P.** (2006). Assessment of microbial support potential of six materials used in drinking water distribution systems. *European Journal of Water Quality*, 37(2), 175-188.
- **European Commission** (2009): Assessment of different options to address risks from the use phase of biocides.
- **Faby, J. A. and Célérier, J. L. (Eds.)** (1998). La dégradation de la qualité de l'eau potable dans les réseaux. Ministère de l'agriculture, de la pêche et de l'alimentation. Sous-direction du développement rural.
- **Foutlane, A., Saadallah, M., Echihabi, L. and Bouchich, L.** (2002). Pollution by wastewater for olive oil mills and drinking-water production. Case study of River Sebou in Morocco. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 8(1), 129-40.
- **Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. and Becker, K.** (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88 (06), 587-605.

- **Gabriel, I., Mallet, S. and Sibille, P.** (2005). La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *Productions Animals –Paris - Institut National de la Recherche Agronomique*, 18(5), 309.
- **Gabriel, I., Alleman, F., Dufourcq, V., Perrin, F. and Gabarrou, J. F.** (2013). Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles. 2. Hypothèses sur les modes d'action impliqués dans les effets observés. *INRA Productions Animales*, 26(1), 13-24.
- **Gallucci, N., Oliva, M., Carezzano, E., Zygadlo, J. and Demo, M.** (2010). Terpenes antimicrobial activity against slime producing and non-producing staphylococci. *Molecular Medicinal Chemistry*, 21, 132-6.
- **Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M. D. and Madrid, J.** (2007). Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *The Journal of Applied Poultry Research*, 16(4), 555-562.
- **Gardner, C. M. K., Cooper, D. M. and Hughes, S.** (2002). Phosphorus in soils and field drainage water in the Thame catchment, UK. *Science of the Total Environment*, 282, 253-262.
- **Gautam, R. and Jachak, S. M.** (2009). Recent developments in anti-inflammatory natural products. *Medicinal Research Reviews*, 29(5), 767-820.
- **Gillet, J. P.** (2010). Quel impact du drainage sur le rendement des cultures et le transfert des solutés?. *Perspectives Agricoles*, (368), 60-63.
- **Giorgetti, L., Talouizte, H., Merzouki, M., Caltavuturo, L., Geri, C. and Frassinetti, S.** (2011). Genotoxicity evaluation of effluents from textile industries of the region Fez-Boulmane, Morocco: a case study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(8), 2275-2283.
- **Gleeson, C. and Gray, N.** (1997). The Coliform Index and Waterborne Disease. Problems of Microbial Drinking Water Assessment. *European Water Pollution Control*, 2(7), 92-93.
- **Gomez, G. and Celii, A.** (2008). The peripheral olfactory system of the domestic chicken: physiology and development. *Brain Research Bulletin*, 76(3), 208-216.

- **Gören, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Wilkinson, J. M. and Cavanagh, H. M.** (2004). Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation, thermal desorber, and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity. *Natural Product Research*, 18(2), 189-195.
- **Griffin, S. G., Wyllie, S. G., Markham, J. L. and Leach, D. N.** (1999). The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*, 14(5), 322-332.
- **Guardia, S.** (2011). Effets de phytobiotiques sur les performances de croissance et l'équilibre ou microbiote digestif du poulet de chair. Doctoral dissertation. Université François – Rabelais, Tours, France.
- **Guergazi, S. and Achour, S.** (2005). Caractéristiques physico-chimiques des eaux d'alimentation de la ville de Biskra. Pratique de la chloration. *Larhyss Journal*, 4, 119-127.
- **Güllüce, M., Sökmen, M., Daferera, D., Açar, G., Özkan, H., Kartal, N. and Şahin, F.** (2003). *In vitro* antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(14), 3958-3965.
- **Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W. and Stoodley, P.** (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 95-108.
- **Halls, A.E.** (2008). Water Quality for Poultry. Monogastric Nutritionist. Shur-Gain, Nutreco Canada Inc.
- **Hansen, R. S. and Becker, W. A.** (1960). Feeding space, population density and growth of young chickens. *Poultry Science*, 39(3), 654-661.
- **Hatimi, S., Boudouma, M., Bichichi, M., Chaib, N. and Idrissi, N.G.** (2001) Evaluation in vitro antileishmanial activity of *Artemisia herba-alba* Asso. *Therapeutic, Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique*, 94, 29-31.
- **Hounsome, N., Hounsome, B., Tomos, D. and Edwards-Jones, G.** (2008). Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal of food science*, 73(4), R48-R65.

- **Jacques, M., Aragon, V. and Tremblay, Y. D.** (2010). Biofilm formation in bacterial pathogens of veterinary importance. *Animal health research reviews*, 11(2), 97-121.
- **Jacquet, M.** (2007). Guide pour l'installation en production avicole. 2^{eme} partie. La production de poulets de qualité différenciée: mise en place et résultats. Filière Avicole et Cunicole Wallone. Gembloux (Belgique).
- **Jamroz, D., Wiliczkiwicz, A., Wertelecki, T., Orda, J. and Skorupińska, J.** (2005). Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *British poultry science*, 46(4), 485-493.
- **Juven, B.J., Kanner, J., Schved, F. and Weisslowicz, H.** (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of applied Bacteriology*, 76, 626–631.
- **Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N. and Maltz, E.** (2002). Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock production science*, 77(1), 59-91.
- **Kaplan, J. Á.** (2010). Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of dental research*, 89(3), 205-218.
- **Katschinski, M.** (2000). Nutritional implications of cephalic phase gastrointestinal responses. *Appetite*, 34(2), 189-196.
- **Khakimova, M., Ahlgren, H. G., Harrison, J. J., English, A. M. and Nguyen, D.** (2013). The stringent response controls catalases in *Pseudomonas aeruginosa* and is required for hydrogen peroxide and antibiotic tolerance. *Journal of bacteriology*, 195(9), 2011-2020.
- **Khyati, A. and Messafi, A.** (2004). Traitement des rejets liquides émanant des industries de traitements de surfaces et leur réutilisation dans les circuits des chaines selon le principe "rejet zero". *Desalination*, 167, 87-99.
- **Kidd, M., Modlin, I. M., Gustafsson, B. I., Drozdov, I., Hauso, O. and Pfragner, R.** (2008). Luminal regulation of normal and neoplastic human EC cell serotonin release is mediated by bile salts, amines, tastants, and olfactants. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 295(2), G260-G272.

- **Kirkpınar, F., Ünlü, H. B. and Özdemir, G.** (2011). Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. *Livestock Science*, 137(1), 219-225.
- **Knowles, J. R., Roller, S., Murray, D. B. and Naidu, A. S.** (2005). Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual-species biofilm development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2), 797-803
- **Koščová, J., Nemcová, R., Gancarčíková, S., Joncová, Z., Bomba, A. and Buleca, V.** (2006). Effect of two plant extracts and *Lactobacillus fermentum* on colonization of gastrointestinal tract by *Salmonella enterica* var. Düsseldorf in chicks. *Biologia*, 61(6), 775-778.
- **Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas and G.-J.E.,** (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 453–462.
- **Landa, P., Kokoska, L., Pribylova, M., Vanek, T. and Marsik, P.** (2009). In vitro anti-inflammatory activity of carvacrol: Inhibitory effect on COX-2 catalyzed prostaglandin E 2 biosynthesis. *Archives of Pharmacal Research*, 32(1), 75-78.
- **Larbier, M. and Leclercq, B.** (1992). Nutrition et alimentation des volailles. Institut National de la Recherche Agronomique éditions, Paris.
- **Le cozler, Y.** (1999). Maîtriser le biofilm. *Réussir Aviculture*, 49, 44.
- **Le Douarin, P.** (1999). L'acide contre des bactéries intestinales. *Réussir Aviculture*, 49, 46.
- **Le Du, M. et Reperant, J.M.** (2003). L'eau, vecteur potentiel des coccidies du poulet. *Filières Avicoles*, 658, 52-53
- **Lee, K. W., Everts, H., Kappert, H. J., Frehner, M., Losa, R. and Beynen, A. C.** (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Poultry Science*, 44(3), 450-457.
- **Lee, K.W., Everts, H. and Beynen, A.C.,** (2004). Essential oils in broiler nutrition. *International Journal of Poultry Science*, 3, 738-752.

- **Leung, C. Y., Chan, Y. C., Samaranayake, L. P. and Seneviratne, C. J.** (2012). Biocide resistance of *Candida* and *Escherichia coli* biofilms is associated with higher antioxidative capacities. *Journal of Hospital Infection*, 81(2), 79-86.
- **Manohar, V., Ingram, C., Gray, J., Talpur, N.A., Echard, B.W., Bagchi, D. and al.** (2001) Antifungal activities of *origanum* oil against *Candida albicans*. *Molecular and cellular Biochemistry*, 228, 111–117.
- **Marsik, P., Kokoska, L., Landa, P., Nepovim, A., Soudek, P. and Vanek, T.** (2005). In vitro inhibitory effects of thymol and quinones of *Nigella sativa* seeds on cyclooxygenase-1-and-2-catalyzed prostaglandin E2 biosyntheses. *Planta Medica*, 71(08), 739-742.
- **Martrenchar, A., Morisse, J. P., Huonnic, D. and Cotte, J. P.** (1997). Influence of stocking density on some behavioural, physiological and productivity traits of broilers. *Veterinary Research*, 28(5), 473-480.
- **Merkley, J. W. and Sexton, T. J.** (1982). Reproductive performance of White Leghorns provided fluoride. *Poultry Science*, 61(1), 52-56.
- **Mizi, A.** (2006). Traitement des eaux de rejets d'une raffinerie des corps gras région de BEJAIA et valorisation des déchets oléicoles. Thèse de doctorat. Université de Badji Mokhtar, Annaba.
- **Mongin, P. and Sauveur, B.** (1974). Hourly water consumption and egg formation in the domestic fowl. *British Poultry Science*, 15(4), 361-368.
- **Moreng, R. E.** (1980). Temperature and vitamin requirements of the domestic fowl. *Poultry Science*, 59(4), 782-785.
- **Moretti, M. D., Sanna-Passino, G., Demontis, S. and Bazzoni, E.** (2002). Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. *AAPs PharmSciTech*, 3(2), 64-74.
- **Murphy, K., A. J. Park, Y. Hao, D. Brewer, J. S. Lam and C. M. Khursigara** (2014). "Influence of O polysaccharides on biofilm development and outer membrane vesicle biogenesis in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1." *Journal of Bacteriology* 196(7): 1306-1317.

- **Najafi, P. and Torki, M.** (2010). Performance, blood metabolites and immunocompetence of broiler chicks fed diets included essential oils of medicinal herbs. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(7), 1164-1168.
- **National Research Council** (1994). Nutrient requirements of poultry. 9th Rev. Ed. NAS-NRC, Washington, D.C.
- **Niu, C., Afre, S. and Gilbert, E. S.** (2006). Subinhibitory concentrations of cinnamaldehyde interfere with quorum sensing. *Letters in Applied Microbiology*, 43(5), 489-494.
- **Nostro, A., Roccaro, A. S., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. A., Pizzimenti, F. C. and Blanco, A. R.** (2007). Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, 56(4), 519-523.
- **Novick, R. P. and Geisinger, E.** (2008). Quorum sensing in staphylococci. *Annual review of genetics*, 42, 541-564.
- **Nys, Y., Sauveur, B., Lacassagne, L. and Mongin, P.** (1976). Food, calcium and water intakes by hens lit continuously from hatching. *British Poultry Science*, 17(3), 351-358.
- **O'Toole, G.A. and Kolter, R.** (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology* 30 (2), 295-304
- **Ocana-Fuentes, A., Arranz-Gutierrez, E., Senorans, F. J. and Reglero, G.** (2010). Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essential oils: anti-inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1568-1575.
- **Olkowski, A. A.** (2009). La qualité de l'eau d'abreuvement du bétail : Guide de terrain relatif aux bovins, aux chevaux, à la volaille et aux porcs, Canada.
- **Olson, M. E., Thorlakson, C. L., Deselliers, L., Morck, D. W. and McAllister, T. A.** (1997). *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. *Veterinary Parasitology*, 68(4), 375-381.
- **Olson, M.E., O'Handley, R.M., Ralston, B.J., McAllister, T.A. and Thompson, R.C.** (2004). Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends Parasitology*, 20(4), 185-191.

- **Öner, E. T.** (2013). Microbial Production of Extracellular Polysaccharides from Biomass. *Green energy and technology*, 35- 56.
- **Ouwehand, A.C., Tiihonen, K., Kettunen, H., Peuranen, S., Schulze, H., Rautonen, N.**, (2010). *In vitro* effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota. *Veterinarni Medicina* (Praha), 55, 71-78.
- **Pardue, S. L. and Thaxton, J. P.** (1986). Ascorbic acid in poultry: a review. *World's Poultry Science Journal*, 42(02), 107-123.
- **Patterson, P. H., Sunde, M. L. and Pimentel, J. L.** (1989). Research Note: Water Consumption and Fecal Moisture of Laying Hens Fed Wheat Middlings and Corn-Soybean-Alfalfa Meal Diets. *Poultry Science*, 68(6), 830-832.
- **Pecelunas, K. S., Wages, D. P. and Helm, J. D.** (1999). Botulism in chickens associated with elevated iron levels. *Avian diseases*, 783-787.
- **Platel, K. and Srinivasan, K.** (2004). Digestive stimulant action of spices: a myth or reality?. *Indian Journal of Medical Research*, 119(5), 167.
- **Pokhrel, D. and Viraraghavan, T.** (2004). Treatment of pulp and paper mill wastewater - a review. *Science of the total environment*, 333(1), 37-58.
- **Pond, K., Rueedi, J. and Pedley, S.** (2004). MicroRisk literature review. Pathogens in drinking water sources. Centre for Public and Environmental Health, University of Surrey, Guildford, Surrey, UK.
- **Puterflam, J.** (2005). Microorganismes et symptômes impliqués dans les entérites en volailles de chair. *Institut technique des filières avicole cunicole et piscicole*, non publié, 25p
- **Putnam, S. E., Scutt, A. M., Bicknell, K., Priestley, C. M. and Williamson, E. M.** (2007). Natural products as alternative treatments for metabolic bone disorders and for maintenance of bone health. *Phytotherapy Research*, 21(2), 99-112.
- **Puybasset, A.** (2005). Des précautions d'usage à respecter. *Réussir Aviculture*, 106, 18- 20.

- **Radwan Nadia, L., Hassan, R. A., Qota, E. M., and Fayek, H. M.** (2008). Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. *International Journal of Poultry Science*, 7(2), 134-150.
- **Rhayour, K., Bouchikhi, T., Tantaoui-Elaraki, A., Sendide, K. and Remmal, A.** (2003). The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4), 286-292.
- **Remmal A., Bouchikhi T., Tantaoui-Elaraki A. and Ettayebi M.** (1993) Inhibition of antibacterial activity of essential oils by tween 80 and ethanol in liquid medium. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 48, 352-356.
- **Remmal, A., Achahbar, S., Bouddine, L., Chami, N. and Chami, F.** (2011). *In vitro* destruction of *Eimeria* oocysts by essential oils. *Veterinary Parasitology*, 182(2), 121-126.
- **Robert, H.** (1999). Qualité microbiologique des eaux brutes distribuées par BRL–Exigences et conception d’un suivi adapté. Mémoire de l’école Nationale de la Santé Publique.
- **Robertson, J.F., Wilson, D. and Smith, W.J.** (1990). Atrophic rhinitis: the influence of the aerial environment. *Animales Productions*, 50, 173-182.
- **Rodier, J., Legube, B., Merlet, N. and Brunet, R.** (2009). L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 9e édition Dunod.
- **Roux, A. et Ghigo, J. M.** (2006). Les biofilms bactériens. Bulletin de l’Académie Vétérinaire de France Tome 159 – N°3:261-268
- **Sandasi, M., Leonard, C. M. and Viljoen, A. M.** (2008). The effect of five common essential oil components on *Listeria monocytogenes* biofilms. *Food control*, 19 (11), 1070-1075.
- **Sanders.** (1996). Alimentation: les besoins du poulet de chair. Repéré à <http://www.ecocongo.cd/fr/system/files/f-ep-a5-3.pdf>
- **Santoro, G. F., das Graças Cardoso, M., Guimarães, L. G. L., Salgado, A. P. S., Menna-Barreto, R. F. and Soares, M. J.** (2007). Effect of oregano

(*Origanum vulgare L.*) and thyme (*Thymus vulgaris L.*) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitology Research*, 100(4), 783-790.

- **Schuhmacher, A., Reichling, J. and Schnitzler, P.** (2003). Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 *in vitro*. *Phytomedicine*, 10(6-7), 504-510.
- **Schwarz, S., Kehrenberg, C. and Walsh, T. R.** (2001). Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(6), 431-437.
- **Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M. and Saura-Calixto, F.** (2009). Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(S2), S310-S329.
- **Siddiqui, Y. M., Ettayebi, M., Haddad, A. M. and Al-Ahdal, M. N.** (1996). Effect of essential oils on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and clove oils on herpes simplex virus type 1 and Newcastle disease virus. *Medical Science Research*, 24(3), 185-186.
- **Silva, M. A. D., Pessotti, B. M. D. S., Zanini, S. F., Colnago, G. L., Rodrigues, M. R. A., Nunes, L. D. C. and Martins, I. V. F.** (2009). Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. *Ciência Rural*, 39(5), 1471-1477.
- **Singleton, R.** (2004). September issue. Hot weather broiler and breeder management. *Asian Poultry Magazine*, pp 26-29.
- **Smith, R. S., & Iglewski, B. H.** (2003). *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Current Opinion in Microbiology*, 6(1), 56-60.
- **Stahl, J. L. and Sunde, M. L.** (1983). Water consumption the first week by egg strain chicks. *Poultry Science*, 62(3), 561-562.
- **Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G. and Costerton, J. W.** (2002). "Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology* 56(1), 187-209.

- **Stuart, L. D. and Oehme, F. W.** (1982). Environmental factors in bovine and porcine abortion. *Veterinary and Human Toxicology*, 24(6), 435-441.

- **Taylor, C. D. and Reynolds, S. J.** (2001). Comparison of a direct-reading device to gravimetric methods for evaluating organic dust aerosols in an enclosed swine production environment. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 16(1), 78-83.

- **Teff, K.** (2000). Nutritional implications of the cephalic-phase reflexes: endocrine responses. *Appetite*, 34(2), 206-213.

- **Tekeli, A., Celik, L., Kutlu, H. R. and Gorgulu, M.** (2006). Effect of dietary supplemental plant extracts on performance, carcass characteristics, digestive system development, intestinal microflora and some blood parameters of broiler chicks. In Proceedings of 12th European Poultry Conference, Verona, Italy, September, 2006, 7, 10-14.

- **Tesseraud, S. and Temim, S.** (1999). Metabolic changes in broiler chickens in hot conditions: nutritional consequences. *INRA Productions Animales*, 12 (5), 353-363

- **Thompson, R.C.** (2004). The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Veterinary Parasitology*, 126(1-2), 15-35.

- **Thompson, R.C. and Monis, P.T.** (2004). Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. *Advances Parasitology*, 58, 69-137.

- **Tiihonen, K., Kettunen, H., Bento, M. H. L., Saarinen, M., Lahtinen, S., Ouwehand, A. C. and Rautonen, N.** (2010). The effect of feeding essential oils on broiler performance and gut microbiota. *British Poultry Science*, 51(3), 381-392.

- **Toghyani, M., Tohidi, M., Gheisari, A. A. and Tabeidian, S. A.** (2010). Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *African Journal of Biotechnology*, 9(40), 6819-6825.

- **Travel, A.** (2007), *Facteurs de variation de la qualité bactériologique de l'eau en élevage de dindes*. Septième Journées de la Recherche Avicole, Tours, 28, 536-540. <http://www.journees-de-la-recherche.org/PDF/Q101-TRAVEL-versiondef.pdf>

- **Tremblay, Y. D., Hathroubi, S. and Jacques, M.** (2014). Bacterial biofilms: their importance in animal health and public health. *Canadian journal of veterinary research, Revue canadienne de recherche veterinaire*, 78(2), 110-116.

- **Tyler, V.E., Brady, L.R. and Robbers, J.E.** (1981). *Pharmacognosy*, 8th edn. Philadelphia: Lea and Febiger, Washington Square, Philadelphia, PA 19106, 1976. 537 pp.

- **Valancony, H., Balaine, L. et Drouin, P.** (1999) Influence du programme lumineux sur les performances des poulets de chair. *Compte rendu des 3^{èmes} journées de la recherche avicole*, 45-48.

- **Van Bunnik, B. A. D., Katsma, W. E. A., Wagenaar, J. A., Jacobs-Reitsma, W. F. and De Jong, M. C. M.** (2012). Acidification of drinking water inhibits indirect transmission, but not direct transmission of *Campylobacter* between broilers. *Preventive veterinary medicine*, 105(4), 315-319.

- **Van Eekeren, N., Maas, A., Saatkamp, H. W. and Verschuur, M.** (2006). *L'élevage des poules à petite échelle*. Digigraphi, Wageninagen-Pays Bas, 97p.

- **Venne, D.** (2009). Biosécurité: Qualité de l'eau et importance du contrôle des biofilms sur les performances des poulets. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France* · January 2009 Doi: 10.4267/2042/48005

- **Vermeulen, B., De Backer, P. and Remon, J. P.** (2002). Drug administration to poultry. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(6), 795-803.

- **Vienot, E.** (2005). Le dioxyde de chlore arrive à bout des biofilms. *Filières Avicoles*, 673, 70-71.

- **Viuda-Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Sánchez Zapata, E., Fernández-López, J. and Pérez-Álvarez, J. A.** (2010). Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(1), 13-19.

- **Vo, K. V. and Fanguy, R. C.** (1982). Rearing density as a stressor in the production of commercial broilers. *Poultry Science*, 61(7), 1563-1563.

- **Vodela, J. K., Renden, J. A., Lenz, S. D., McElhenney, W. H. and Kemppainen, B. W.** (1997 a). Drinking water contaminants (arsenic, cadmium, lead, benzene, and trichloroethylene). 1. Interaction of contaminants with nutritional status on general performance and immune function in broiler chickens. *Poultry Science*, 76(11), 1474-1492.

- **Vodela, J. K., Lenz, S. D., Renden, J. A., McElhenney, W. H. and Kemppainen, B. W.** (1997 b). Drinking water contaminants (arsenic, cadmium, lead, benzene, and trichloroethylene). 2. Effects on reproductive performance, egg quality, and embryo toxicity in broiler breeders. *Poultry Science*, 76(11), 1493-1500.

- **Walsh, S.E., Maillard, J.Y., Russel, A.D., Catrenich, C.E., Charbonneau, D.L. and Bartolo, R.G.** (2003). Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and Gram negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 240-247

- **Wang, L. and Weller, C.L.** (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.

- **Wang, L., E. V. Vinogradov and A. J. Bogdanove** (2013). "Requirement of the lipopolysaccharide O-chain biosynthesis gene wxocB for type III secretion

- and virulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzicola*." *Journal of Bacteriology* 195(9), 1959-1969.
- **Wendakoon, C. N. and Sakaguchi, M.** (1995). Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*, 58(3), 280-283.
 - **Westendarp, H.** (2005). Saponins in nutrition of swine, poultry and ruminants. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 112(2), 65-70.
 - **Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. and Kroismayr, A.** (2008). Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86(14), 140-148.
 - **Wink, M.** (2008). Evolutionary advantage and molecular modes of action of multi-component mixtures used in phytomedicine. *Current Drug Metabolism*, 9(10), 996-1009.
 - **World Health Organization** (2008). Guidelines for drinking-water quality Third edition incorporating the first and second addenda, volume 1, Recommendations. Repéré à http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/fulltext.pdf
 - **Yoselewitz, I., Balnave, D. and Dixon, R. J.** (1988). Factors influencing the production of defective egg shells by laying hens receiving sodium chloride in the drinking water. *Nutrition reports international*, 38(4), 697-703.
 - **Yoselewitz, I. and Balnave, D.** (1989). Egg shell quality responses of pullets given saline drinking water at different ages. *British Poultry Science*, 30(3), 715-718.
 - **Zhang, D., Moreng, R. E. and Balnave, D.** (1991). Reproductive performance of artificially inseminated hens receiving saline drinking water. *Poultry Science*, 70(4), 776-779.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Les milieux de culture

Plate Count Agar (PCA) :

Pour 1 litre de milieu:

- Tryptone 5,0 g
- Extrait autolytique de levure..... 2,5 g
- Glucose 1,0 g
- Agar agar bactériologique 12,0 g

Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Le pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,0 \pm 0,2$.

Gélose SABOURAUD au chloramphénicol

Pour 1 litre de milieu:

- Peptone pepsique de viande10,0 g
- Glucose.....20,0 g
- Chloramphénicol0,5 g
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Le pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $5,7 \pm 0,2$.

Gélose Tryptone-Sulfite-Cyclosérine (TSC)

FORMULE-TYPE du milieu complet (avec D-cyclosérine) Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....15,0 g
- Peptone papainique de soja.....5,0 g
- Extrait autolytique de levure5,0 g
- Métabisulfite de sodium.....1,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....1,0 g
- D-cyclosérine.....0,4 g
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Le pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,6 \pm 0,2$ ●

Gélose lactosée au désoxycholate à 0,1%

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande10,0 g
- Lactose10,0 g
- Désoxycholate de sodium.....1,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Phosphate dipotassique.....2,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....1,0 g
- Citrate de sodium.....1,0 g
- Rouge neutre0,03 g
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. - Ne pas autoclaver. Le pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,3 \pm 0,2$.

Gélose de WILSON BLAIR modifiée

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....5,00 g
- Peptone pepsique de viande5,00 g
- Extrait de viande5,00 g
- Glucose.....5,00 g
- Phosphate disodique4,00 g
- Sulfate ferreux.....0,30 g
- Citrate de bismuth ammoniacal.....1,85 g
- Sulfite de sodium6,15 g
- Vert brillant.....25,0 mg
- Agar agar bactériologique.....14,70 g

Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. Ne pas autoclaver Le pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,6 \pm 0,2$

Gélose de CHAPMAN au mannitol

Pour 1 litre de milieu :

Tryptone.....	5,0 g
- Peptone pepsique de viande	5,0 g
- Extrait de viande	1,0 g
- Mannitol	10,0 g
- Chlorure de sodium	75,0 g
- Rouge de phénol	25,0 mg
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Le pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,4 \pm 0,2$

Eau physiologique 0,9%:

NaCl.....	9g
Eau distillé.....	1 litre



Fiche technique du Produit NP eau de boisson

Identification du produit :

Additif vétérinaire multi actif à base de substances naturelles.

Composition :

Le NP eau de boisson est constitué de deux familles de principes actifs :

- **Des huiles essentielles** promoteurs de croissance, immunostimulants et stimulateurs de l'appareil respiratoire et du système digestif des animaux. Les molécules constituant ces extraits possèdent une forte activité fongicide, bactéricide, virucide, et antiparasitaire.
- **supports minéraux** Facilitant la dispersion du produit dans l'eau.

Structure chimique : le NP eau de boisson est constitué exclusivement des composés cités ci-dessus. Il ne contient aucun autre excipient.

Caractéristiques : Poudre granuleuse effervescente, allant du blanc au blanc cassé.

Stabilité et conservation :

Le NP eau de boisson peut être conservé pendant 24 mois à partir de la date de fabrication dans son emballage d'origine resté hermétiquement fermé et placé dans un endroit sec et à une température inférieure à 25°C.

Utilisation :

Le NP eau de boisson est un additif vétérinaire innovant et multi-actif soluble dans l'eau capable de réduire remarquablement la charge microbienne et parasitaire altérant la qualité des eaux d'abreuvement.

Le NP eau de boisson doit être appliqué après avoir été solubilisé dans l'eau. Il n'y a aucune contre indication liée à l'association avec d'autres produits vétérinaires.

La dose habituelle est de 1 à 3 Kg du NP eau de boisson par tonne d'eau. Cette dose peut être modifiée en fonction de l'état des animaux et de la qualité de l'eau.

Mise en garde :

Les composés contenus dans le NP eau de boisson ne présentent aucun risque de contamination des eaux.

Innocuité :

Ce produit ne présente pas de risque pour l'usage envisagé. Eviter d'ingérer ou d'inhaler la poussière ou d'être directement en contact avec le produit en appliquant des mesures de protection appropriées et en ayant une bonne hygiène personnelle.

NB : L'information contenue dans cette fiche technique repose sur notre expérience et nos connaissances actuelles.