

NOTE D'INFORMATION

SUR LES TRAVAUX DE RECHERCHE

CONDUITS SUR L'ENTÉROCOLITE ÉPIZOOTIQUE DU LAPIN

Note N°12 – Juillet 2001 – 3e trimestre 2001

Rédaction : F. LEBAS

Diffusion sous la responsabilité de l'ITAVI, 28 Rue du Rocher 75008 Paris

Origine de la note: Cette note a été rédigée par F. Lebas (INRA Toulouse) dans le cadre du groupe d'étude sur l'Entérocolite Épizootique de Lapin, ou EEL, principalement d'après les informations écrites fournies lors de la réunion du 04/07/2001 par MM D. Licois et H. de Rochambeau de l'INRA, par Mme M. Wyers de l'ENV de Nantes, par Mme G. Le Gall et Mr J.L. Jobert, de l'AFSSA - Ploufragan ainsi que d'après les informations échangées en séance. La périodicité minimum de cette note est de 6 mois. Elle est aussi disponible sur le web : www.rabbit-science.com.

Responsabilité civile: Cette note rassemble les informations les plus fiables possibles au jour de sa rédaction, mais elle ne prétend pas à l'exhaustivité. Par ailleurs, la responsabilité des auteurs, ni celle des organismes qui les emploient ne saurait être retenue vis-à-vis de toute interprétation des faits rapportés ou des suggestions incluses.

Comme prévu, les équipes françaises impliquées dans les recherches sur l'entérocolite et les principaux vétérinaires spécialisés dans le domaine cunicole se sont réunis en assemblée plénière avec les représentants de la filière le 4 juillet 2001, dans le cadre du groupe de recherche sur l'EEL, groupe structuré par l'ITAVI. Les informations synthétisées ci-après correspondent principalement à celles réunies à l'occasion de cette réunion.

Situation de l'EEL en France

Les informations fournies par différents vétérinaires praticiens spécialisés dans le lapin concordent pour souligner que depuis la fin du printemps 2001, et comme il fallait s'y attendre avec le retour des "beaux jours", la fréquence des élevages touchés de manière aiguë par l'EEL est actuellement faible. Par contre tous attendent une recrudescence des cas d'EEL à l'automne. En moyenne, les barrières sanitaires sont efficaces mais des flambées d'entérocolite apparaissent sur certaines bandes sans qu'aucun élément n'ait laissé prévoir son apparition. Dans la majorité des cas les accidents d'EEL apparaissent tout à fait en fin d'engraissement, au cours de la semaine correspondant au retrait de la couverture antibiotique (de la bacitracine en général) juste avant le départ à l'abattoir. Ces accidents d'EEL sont dramatiques dans la mesure où ils peuvent entraîner une mortalité de 1 à 2% par jour, voir 3%, alors que la bande concernées avait perdu au total moins de 5% des lapins depuis le début de l'engraissement. En outre à ces pertes à l'élevage il faut souvent ajouter les saisies en abattoir pour viande congestionnée (rouge).

Au plan symptomatique, il ne semble pas y avoir d'évolution majeure des lésions macroscopiques constatées lors des autopsies, tout en gardant une grande diversité. Par exemple sur 20 lapins autopsiés dans un élevage, il peut y avoir 20 cas cliniques plus ou moins différents, 40% seulement correspondant clairement à l'EEL dans ses différentes variantes. En effet, les symptômes ne sont pas d'une constance absolue, principalement semble-t-il en raison de la variabilité des complications associées. En outre, dans un élevage les troubles majeurs peuvent correspondre à des compactions du contenu cæcal un jour donné et être des diarrhées avec ballonnement deux jours plus tard.

Dans leur très grande majorité, les éleveurs utilisent une couverture antibiotique (bacitracine ou tiamuline et parfois spiramicine pour la maternité) pendant toute la période de production, en dehors de la stricte période de retrait avant abattage. Quelques signes d'usure des molécules semblent se dessiner, sans que l'on sache s'il s'agit d'usure réelle (apparition de microorganismes résistants) ou d'un usage inadapté des molécules en raison de la fluctuation des pathologies secondaires se greffant sur l'entérocolite, comme cela avait été évoqué lors de la réunion similaire qui s'était tenue en janvier 2001 (voir note N°11).

Parmi les pathologies secondaires de plus en plus fréquentes il faut mentionner les coccidioses. Actuellement environ 30% des bandes d'engraissement excrètent des coccidies de manière appréciable dans les fèces, alors qu'il y a quelques années cette proportion ne dépassait pas 10%. Il s'agit le plus souvent d'*Emeria magna* ou d'*E. media*, beaucoup plus rarement de *E. perforans*. A ce propos deux faits importants ont été rapportés en séance. D'une part ces coccidioses sont bien secondaires à l'EEL puisqu'un traitement préventif (à base de sulfamides type sulfadiméthoxine) dirigé contre les coccidies est inefficace pour réduire les pertes et d'autre part la principale molécule utilisée comme anticoccidien chez le lapin (la robénidine) n'est plus du tout efficace contre les deux principales coccidies mentionnées plus haut. Il est donc logique que ces deux coccidies puissent se développer à l'occasion d'une atteinte des lapins par l'EEL et que leur présence soit détectée plus souvent dans les élevages. Bien que ces coccidies ne soient par elles-mêmes pas mortelles, leur développement sur un "fond" d'EEL peut être suffisant pour tuer les lapins. Enfin, il a été rappelé que si la robénidine n'est plus efficace contre deux espèces d'*Emeria*, qui de ce fait sont devenues fréquentes, elle reste pleinement efficace contre les coccidies les plus pathogènes (celles dont la seule présence est suffisante pour tuer), ce qui justifie pleinement son utilisation préventive.

En 1997 en pleine période d'apparition de l'EEL, les éleveurs étaient satisfaits de voir la mortalité se réduire à 10-

15% "seulement" par rapport à des pertes de 30 à 50%, grâce aux traitements et aux mesures d'hygiène. Mais en 2001, ils considèrent qu'il y a flambée d'EEL quand la mortalité monte à 10-12% sans raison apparente, alors qu'elle n'était que de 2 à 5% et que toutes les mesures d'hygiène et de protection antibiotique ont été respectées. Les représentants de la filière ont dit à cette occasion leur très grande inquiétude pour l'avenir de la filière elle-même en raison des coûts élevés de mesures de protection généralement efficaces mais pas sans faille, mais aussi en raison de la forte compétition entre les différentes filières de productions de viande. La filière cunicole, ne pourra pas "tenir" longtemps face aux autres, avec des pertes moyennes qui se situent aux environs de 10-15% pour l'engraissement.

Au cours de l'hiver et du printemps **CEVA-Santé animale** a effectué une série de réunion d'éleveurs autour du thème "l'EEL parlons en". Lors de ces réunions interactives animées et structurées par les Dr L. Nouaille et B. Le Normand, 600 éleveurs ont échangé leur techniques, leurs résultats et leurs opinions à propos de l'EEL. Globalement, 63% sont certains d'avoir été touchés par l'EEL au moins une fois depuis 1997, 27% ne savent pas et 10% sont sûrs de ne pas avoir été touchés. De leur côté les vétérinaires exerçant sur les terrains estiment de 99 à 99,5% des élevages français ont été effectivement touché par l'EEL depuis 1997.

Études d'histopathologie

Au cours de l'année écoulée, le laboratoire d'Histopathologie Animale de l'École vétérinaire de Nantes (Pr M. Wyers) a analysé plusieurs séries d'échantillons provenant de lapins atteints d'EEL. Ce travail avait pour but d'une part de compléter la description des lésions histologiques de l'EEL spontanée actuelle et de les comparer aux types de lésions vues antérieurement, et d'autre part d'analyser les lésions obtenues dans les essais de reproduction de la maladie. Les échantillons lui ont été envoyés par l'équipe de l'AFSSA-Ploufragan (J.L. Jobert) et celle de l'INRA-Tours (D. Licois).

Pour un lapin donné, les prélèvements correspondaient à différents segments digestifs (estomac, 3 parties de l'intestin grêle, cæcum, côlon, appendice) ainsi qu'aux thymus, foie, reins, cœur, rate, poumons, surrénales et ganglion mésentérique. Rien de marquant n'a été observé au niveau de l'estomac. Il en est de même pour les autres organes non digestifs analysés. Ainsi, il n'y a pas de déplétion des organes lymphoïdes; cœur, foie, reins et ganglions nerveux sont normaux. Seuls les poumons présentent parfois une pneumonie interstitielle laissant supposer une atteinte virale, mais cette lésion se retrouve également chez les témoins.

Sur différents prélèvements digestifs, il a été observé un certain nombre de cas d'entérite dont la signature histopathologique correspondait comme attendu à une maladie d'origine virale, avec des symptômes similaires à ceux décrits pour l'EEL en 1997 et 1999. Ces cas correspondaient par exemple à des lapins fournis par l'AFSSA à partir de son élevage de Ploufragan ou à des lapereaux de 24 jours prélevés dans un élevage de terrain par l'INRA. Par contre, dans de nombreux autres cas les analyses histopathologiques des échantillons provenant soit d'une EEL provoquée en

laboratoire (AFSSA) soit d'animaux sacrifiés dans des élevages où le diagnostic clinique identifiait une EEL, le tableau lésionnel était dominé par des lésions digestives associées à une coccidiose sévère ou plus rarement à une inflammation bactérienne (probablement une colibacillose). Dans ces cas il est donc difficile de conclure à l'évolution d'une entérite virale initiale compatible avec les aspects précédemment décrits au cours des cas d'EEL spontanés ou expérimentaux. Il semble évident à Mme Wyers que lors de certaines contaminations expérimentales avec de l'aliment, une coccidiose a été transmise avec ou à la place de l'EEL. Les observations faites sur le terrain et rapportées plus haut permettent de penser que la transmission des coccidies se fait "avec" l'EEL en non "à sa place", principalement en raison de l'absence de réaction des animaux vis à vis des traitements dirigés exclusivement contre les coccidies.

En conclusion, les résultats des analyses histopathologiques effectuées par Mme le Pr M Wyers sur les échantillons reçus à l'ENV de Nantes, ont été jugés à la fois décevants et intéressants.

Décevants, car pour un grand nombre d'entre eux ils n'ont pas permis de retrouver des lésions évocatrices d'une entéropathie virale comparables aux images observées lors des premières études des cas spontanés de la maladie au moment de son apparition sur le terrain et des cas expérimentaux obtenus notamment à l'INRA de Tours en 1999. Cette étude ne permet donc pas d'améliorer notre connaissance des lésions (notamment des aspects ultra-structuraux) et de l'étiopathogénie de l'EEL.

Intéressants, cependant, car la prépondérance évidente d'une infestation coccidienne aussi bien dans les cas spontanés qu'expérimentaux montre bien que l'EEL telle qu'elle existe sur le terrain est un syndrome digestif complexe qui demanderait sans doute à être mieux défini sur le plan clinique et lésionnel. Les progrès concernant l'étiologie de cette maladie butent sans doute en partie sur les difficultés récurrentes à caractériser cette entité sur le plan clinique, lésionnel et épidémiologique. Ces observations ne doivent pas faire négliger par ailleurs l'existence sur le terrain de pathologies digestives plus classiques telles que la coccidiose, apparemment toujours d'actualité et source de mortalité et de pertes économiques.

Les travaux conduits à l'AFSSA de Ploufragan en virologie

Comme prévu un travail a été entrepris par Mme G. Le Gall-Reculé pour déterminer si des virus éventuellement contaminants pouvaient être isolés d'un aliment repris dans des mangeoires et dont la distribution avait permis de reproduire l'EEL. La recherche a été effectuée sur un aliment ayant servi à provoquer de l'EEL au laboratoire, sur l'aliment repris dans les mangeoires après l'apparition des premiers cas d'EEL lors de l'essai et sur le même aliment prélevé au silo. L'analyse en microscopie électronique après concentration par ultracentrifugation n'a révélé la présence que de quelques bactériophages caudés, et uniquement dans les échantillons prélevés dans les mangeoires en cours d'expérimentation. Aucune particule virale n'a été mise en évidence dans l'aliment issu du silo ou dans celui pris dans l'élevage d'origine et ayant pourtant permis de reproduire la maladie en animalerie.

La recherche en PCR de parvovirus et de circovirus dans les différents prélèvements a été négative.

Dans de nombreux prélèvements de contenus digestifs effectués sur les lapins ayant développé une EEL clinique, des bactériophages ont été observés en assez grand nombre (voir note N°11). Une étude expérimentale du rôle éventuel de ces microorganismes a donc été entreprise à Ploufragan en avril 2001. Des fractions d'organes d'animaux de différentes origines contenant ou non (lapins apparemment sains) des bactériophages ont été inoculées à des lapins issus d'un élevage n'ayant jamais connu l'EEL et exempt de coccidies. Au total 6 groupes de lapins (+ un témoin non inoculé) ont été inoculés avec des fractions réalisées à partir de cas d'EEL du terrain, de lapins chez lesquels une EEL avait été provoquée par l'inoculum de l'INRA, de lapins apparemment sains et même à partir d'un aliment contaminant. Les animaux ont été observés quotidiennement pendant 3 semaines. Aucune manifestation n'a été relevée, ni dans le lot témoin, ni dans aucun des 6 lots contaminés. A l'abattage, aucune lésion évocatrice de l'EEL n'a été observée. Ainsi, l'inoculation de bactériophages n'a pas permis de reproduire l'EEL chez des lapins sains.

Par ailleurs en appui à l'étude d'épidémiologie conduite par J.L. Jobert (voir plus loin) les particules virales ont été recherchées dans les échantillons provenant de 7 élevages suivis pendant un épisode clinique d'EEL. Les résultats ont été décevants. Des rotavirus "banaux" ont été observés sur 2 lapins d'un même élevage et ne présentant pas de signes cliniques d'une rotavirose. Quelques amas de particules virales de la taille d'un parvovirus ont été observés sur un seul lapin. Les expérimentateurs n'ont pas réussi à les retrouver après concentration ni par PCR ni par culture. De telles particules n'ont par ailleurs été observées chez aucun des autres lapins observés dans cette étude, malgré le grand nombre d'observations réalisées.

Parallèlement, la recherche de virus a été effectuée sur les intestins grêles de 6 lapins sacrifiés 5 à 7 jours après une inoculation expérimentale de l'EEL réalisée par l'équipe d'épidémiologie de l'AFSSA. Des lésions histologiques avaient été observées dans ces échantillons par Mme le Pr. M. Wyers. Aucune particule virale n'a été mise en évidence. D'autres échantillons correspondant à la même expérimentation sont en cours d'analyse.

Les travaux conduits à l'AFSSA de Ploufragan en épidémiologie

Le syndrome de l'EEL a été reproduit dans les animaleries de l'AFSSA par distribution à des lapins sains d'un aliment prélevé dans un élevage contaminé. L'objectif était de mieux décrire l'évolution de la maladie par des mesures zootechniques, le suivi de la température des lapins, le suivi hématologique des mêmes individus au cours de la maladie, etc.... Au total 44% des lapins inoculés sont morts entre l'inoculation à 35 jours et l'âge de 70 jours. Des signes très évocateurs de l'EEL sont apparus dans le lot contaminé à partir de J6. A l'autopsie des cadavres il a été relevé des numérations élevées de colibacilles (+ de 10⁵ par g, sérotype O-2 ou non typable), de clostridium (*C. perfringens*) et de coccidies (*E.*

media, *E. magna* et *E. perforans*). Dans le sang Dans le sang des lapins contaminés il y a eu une augmentation du nombre de leucocytes et de polynucléaires neutrophiles, probablement en réponse à l'infection bactérienne concomitante. La baisse du nombre d'hématies est probablement le reflet de la diarrhée qui a perturbé l'absorption du fer et de la vitamine B₁₂. Par contre, il n'y a pas eu de différence entre le lot témoin et le lot inoculé, ni pour la température rectale, ni pour le nombre de lymphocytes.

L'enquête épidémiologique commencée fin 2000 continue son cours. Trente neuf enquêtes seront complètement réalisées à la fin août 2001. Elles correspondent à 19 élevages ayant de réels problèmes d'EEL et à 20 élevages dans lesquels cette forme de pathologie est correctement contrôlée. Une première analyse portant sur ces 39 élevages devrait pouvoir être présentée lors des 9^e Journées de la Recherche Cunicole en novembre prochain. D'autres élevages sont en cours d'enquête, mais J.L. Jobert a besoin de trouver encore des élevages atteints ou contrôlant bien l'EEL pour compléter les élevages déjà programmés. Les structures intéressées à l'aider sont cordialement invitées à le contacter à l'AFSSA de Ploufragan, sachant que la mise en place de l'enquête dans un élevage nécessite un fort encadrement. Il serait en outre hautement souhaitable qu'une proportion importante de ces "nouveaux" élevages entrant dans l'enquête soient situés en dehors des deux régions Bretagne et Pays de la Loire.

Pour aider J.L. Jobert dans son analyse des élevages dans lesquelles l'EEL est bien ou mal maîtrisée, les résultats de l'enquête réalisée par CEVA et mentionnée en début de note, seront mis à la disposition de l'AFSSA.

Enfin à titre d'information il a été précisé lors de la réunion du 4 juillet que le réseau d'épidémiologie-surveillance cunicole a été effectivement mis en place. Treize maladies particulières seront suivies par 20 vétérinaires ayant une activité de terrain.

Travaux sur la reproduction de l'EEL conduits à l'INRA de Tours

Les moyens désormais disponibles à l'INRA de Tours permettent de réaliser les études sur des nombres nettement plus importants d'animaux. Au cours des 6 derniers mois, un inoculum « de référence » a été constitué et étudié. Tous les essais sont réalisés sur animaux EOPS, c'est à dire sans germe pathogène connu. Dans ces conditions cet inoculum de référence provoque régulièrement pratiquement 100% de morbidité et environ 50% de mortalité avec tous les symptômes "typiques" de l'EEL. Dans une autre étude de reproduction de la maladie, 10 lapins ont pu être sacrifiés par jour entre J3 et J7 pour suivre l'évolution de la maladie dans le temps.

De manière générale, les échantillons prélevés au cours du premier semestre 2001 sont en cours d'analyse pour l'histopathologie d'une part à l'ENVN de Nantes (voir plus haut), mais aussi à l'Université vétérinaire d'Athènes (programme européen de coopération sur l'EEL). Les échantillons bactériologiques sont en cours d'analyse à l'ENVN de Toulouse (colibacilles) et à l'Institut Pasteur (clostridium)

Une autre source d'inoculum provenant du terrain a été testée à l'INRA. Les échantillons provenaient de lapereaux de 24 jours ou de 6 et 7 semaines (voir plus haut, les résultats de l'analyse histologique des lapins "donneurs"). Avec 130 lapins EOPS (exempts d'organismes pathogènes spécifiés) mis en expérience, il n'y a pas eu de morts dans le lot témoin, 16% dans le lot "24 jours" et 62% dans le lot "6-7 semaines". Les autopsies ont révélé les signes classiques de l'EEL antérieurement décrits. Par contre avec cet inoculum une légère typhlite cæcale a été observée chez certains animaux, signe de l'intervention d'autres agents infectieux. Toutefois l'inflammation était limitée au cæcum et avait une ampleur nettement inférieure à celle rencontrées avec un colibacillose à O-103 par exemple.

Des lapins EOPS placés dans les cages ayant servi à cette expérimentation sans nettoyage ni désinfection sont morts d'EEL à raison de 56% (10/18). Il faut aussi souligner que les signes de typhlite étaient beaucoup moins marqués que lors de l'infestation initiale.

Comme cela lui avait été demandé, l'Unité INRA de Tours dispose maintenant d'un inoculum bien contrôlé pour reproduire l'EEL de manière régulière. Il a été testé pour l'absence effective de parvovirus, coronavirus, calicivirus, de

clostridium, de colis entéropathogènes et d'une douzaine d'autres pathogènes potentiels. Un deuxième inoculum est en cours de validation..

Variabilité génétique et EEL

Avec l'appui logistique des installations expérimentales de 2 fermes d'alimentation du bétail (Glon-Sanders et Guyomarc'h), un protocole a été mis en place par l'INRA de Toulouse pour savoir si la sensibilité des lapins à l'EEL est liée ou indépendante de leur origine paternelle. Ainsi les descendants de 48 mâles seront testés pour leur sensibilité à l'EEL. Les sujets nés au centre INRA du Magneraud sont placés au sevrage dans les installations expérimentales et contaminés par l'EEL. La première série de 1440 lapereaux a été mise en essai en juin. Une deuxième série issue des mêmes 48 pères sera mise en place à l'automne dans un autre site expérimental. Si les descendants de certains mâles sont résistants à l'EEL et si les descendants d'autres mâles sont sensibles, on pourra supposer qu'il existe une variabilité génétique pour la sensibilité à l'EEL. Dans ce cas, les généticiens proposeront des animaux « sensibles » et des animaux « résistants » à leurs collègues pathologistes, de façon à les aider à mieux comprendre cette maladie.