

ETUDE DU POUVOIR PATHOGÈNE D'*EIMERIA PRAECOX* SEULE OU ASSOCIÉE À *EIMERIA ACERVULINA*

Répérant Jean-Michel¹, Dardi Martina², Pagès Marc², Duchemin Dominique³, Thomas-Hénaff Martine¹

¹AFSSA - LERAPP Ploufragan-Plouzané – Unité VIPAC, Site de Ploufragan, 22440
PLOUFRAGAN,

²HIPRA - avda. La Selva - 17170 AMER - ESPAGNE

³HIPRA France, 1103 avenue Jacques Cartier – 44800 SAINT-HERBLAIN

RÉSUMÉ

Eimeria praecox et *Eimeria acervulina* sont deux espèces de coccidies parasites du poulet qui se localisent dans le duodénum des oiseaux infectés. Le but de notre travail était d'évaluer le pouvoir pathogène d'*E. praecox* en fonction de la dose infectieuse, et d'étudier les interactions de cette espèce avec *E. acervulina* lors de co-infection avec les deux espèces à différentes doses. Les résultats montrent clairement que le pouvoir pathogène d'*E. praecox* est lié à la dose infectieuse, et que son impact sur le poids et le gain de poids est significatif à partir de la dose la plus faible testée : 5.000 oocystes par oiseau. Aucune morbidité n'a été observée, même avec la dose infectieuse la plus forte, mais la dégradation de l'aspect des matières fécales s'accroît avec l'augmentation de la dose infectieuse. Aucune lésion caractéristique reproductible n'a été observée, confirmant les observations antérieures publiées à propos de cette espèce. Associée à *E. acervulina* à faible dose infectieuse, la détérioration des performances a semblé être une addition des effets néfastes des deux coccidies. Cependant, avec de fortes infections, les symptômes se sont aggravés en même temps que la durée de l'impact négatif sur les performances par rapport à une mono-infection. Il ne semble pas y avoir eu de compétition entre les deux espèces, car aucune réduction des effets négatifs liés au développement de chacune des coccidies lors de mono-infection n'a été observée lors de la co-infection, contrairement à ce qui a été observé par d'autres auteurs lors de l'association d'*E. praecox* avec *Eimeria maxima*.

ABSTRACT

Eimeria praecox and *Eimeria acervulina* are two species of chicken coccidian parasites, which develop in the duodenum of infected birds. The goal of our work was to evaluate the pathogenicity of *E. praecox*, depending on the infective dose, and to study interactions of this species with *E. acervulina* in case of co infection with both species at different doses. The results clearly show that the pathogenicity of *E. praecox* is linked to the infective dose, and that its impact on weight and weight gain is significant from the lowest tested dose : 5,000 oocysts per bird. No morbidity was observed, even with the highest infective dose, but droppings alteration was higher with increasing infective doses. No consistent typical lesion was observed, confirming already published observations concerning this species. Associated to *E. acervulina* with a low infective dose, performance deterioration seemed to be an addition of the side effects of the two coccidia. However, in the case of heavy infections, symptoms worsened along with duration of negative impact on growth compared to a mono-infection. The two species did not seem to compete, for no reduction of the side effects due to each species in case of single infection was observed in co-infection, contrary to what was observed by other authors in the case of an association of *E. praecox* with *Eimeria maxima*.

INTRODUCTION

Parmi les sept espèces de coccidies susceptibles d'infecter le poulet, *Eimeria praecox* est considérée comme la moins pathogène. Son impact sur les performances n'est souvent observé qu'avec des doses infectieuses élevées (Long 1968 ; Jorgensen et al. 1997 ; Williams 1998) et elle ne semble pas engendrer de mortalité ou de morbidité, même à forte dose infectieuse (Gore and Long 1982). Son impact sur les performances est controversé sur le terrain. Jenkins et al. (2008) ont même observé un effet bénéfique sur les performances des poulets lors de co-infection d'*E. praecox* avec *E. maxima* par rapport à des oiseaux recevant *E. maxima* seule, sans pouvoir fournir une explication au phénomène décrit.

Le but de cette étude était double :

- 1 - évaluer le pouvoir pathogène de cette coccidie en infection expérimentale avec différentes doses d'inoculation,
- 2 - étudier l'influence de cette coccidie sur l'expression pathogène d'une autre espèce localisée dans la même portion du tube digestif, *Eimeria acervulina*. Les deux espèces de coccidies effectuent leur cycle de développement dans le duodénum, et occupent une position superficielle au niveau de l'épithélium intestinal. Il nous a semblé intéressant d'appréhender des interactions possibles entre les deux espèces dans cette portion du tube digestif importante pour l'absorption des nutriments.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Souches de coccidies

Les coccidies utilisées sont des souches du laboratoire, entretenues par passages réguliers sur oiseaux et conservées en suspension dans une solution de bichromate de potassium à 2% à une température de +4°C après purification et sporulation. La souche d'*Eimeria acervulina* était âgée de trois mois et demi lors de l'étude, et celle d'*E. praecox* avait deux mois. Lors des passages sur oiseaux, les oocystes ont été purifiés à partir des matières fécales collectées entre 4 et 6 jours après infection. Après filtration sur tamis de 1 mm de porosité, les suspensions fécales ont été centrifugées pendant 7 mn à 1.800 g, puis les culots ont été suspendus dans de l'eau salée à saturation et centrifugés pendant 7 mn à 1.200 g. Le surnageant contenant les oocystes a été récupéré et lavé en eau distillée. Les oocystes ont ensuite été placés à 28°C dans des boîtes de Pétri contenant une couche de gélose agar pendant 72 heures pour une sporulation optimale. La pureté des deux souches a été vérifiée dans le laboratoire d'Hipra en Espagne par une PCR avec des amorces spécifiques de chacune des sept espèces de coccidies parasites de *Gallus gallus*.

1.2. Oiseaux

Quatre cents poulets conventionnels de souche Ross ont été démarrés à un jour d'âge dans une animalerie exempte de coccidies (décontamination et stérilisation à la vapeur), sur huit étages de batteries, avec une température appropriée et l'accès à de l'eau et un aliment démarrage en farine. À l'âge de 13 jours, tous les oiseaux ont été identifiés avec une bague alaire et pesés. Cent quatre-vingts oiseaux ont été sélectionnés sur le critère d'homogénéité de poids à cette date et transférés le lendemain dans la salle d'expérimentation, dans des cages hébergeant chacune trois sujets avec abreuvement automatique.

1.3. Dispositif expérimental

Dix lots de 18 sujets ont été définis, avec six cages de trois sujets pour chaque lot. Afin d'évaluer le pouvoir pathogène d'*E. praecox* seule, quatre lots ont été mis en place :

Lot NI : oiseaux non infectés

Lot IP1 : oiseaux infectés avec 5.000 oocystes sporulés d'*E. praecox*

Lot IP2 : oiseaux infectés avec 30.000 oocystes sporulés d'*E. praecox*

Lot IP3 : oiseaux infectés avec 200.000 oocystes sporulés d'*E. praecox*.

Afin d'étudier l'interaction avec *E. acervulina*, six lots supplémentaires ont été mis en place :

Lot IA1 : oiseaux infectés avec 5.000 oocystes sporulés d'*E. acervulina*

Lot IA2 : oiseaux infectés avec 200.000 oocystes sporulés d'*E. acervulina*

Lot IA1P1 : oiseaux infectés avec 5.000 oocystes sporulés d'*E. acervulina* et 5.000 oocystes sporulés d'*E. praecox*

Lot IA1P3 : oiseaux infectés avec 5.000 oocystes sporulés d'*E. acervulina* et 200.000 oocystes sporulés d'*E. praecox*

Lot IA2P1 : oiseaux infectés avec 200.000 oocystes sporulés d'*E. acervulina* et 5.000 oocystes sporulés d'*E. praecox*

Lot IA2P3 : oiseaux infectés avec 200.000 oocystes sporulés d'*E. acervulina* et 200.000 oocystes sporulés d'*E. praecox*

Les oiseaux de tous les lots, excepté le lot NI, ont été infectés individuellement à l'âge de 16 jours avec les oocystes de coccidies par gavage avec une sonde oesophagienne sous un volume de 1 ml par oiseau.

1.4. Critères suivis

Critères zootechniques

Poids à J+5 post-infection de tous les sujets

Gain de poids de J-3 à J+5 post-infection et indice de consommation de J-2 à J+5 post-infection

Poids à J+11 de la moitié des sujets

Gain de poids de J-3 à J+11 et indice de consommation de J-2 à J+11 pour la moitié des sujets

Concernant les poids et gains de poids, l'égalité des variances et la normalité des distributions ont été vérifiées avant d'appliquer des tests statistiques paramétriques (Anova, test de Bonferroni, logiciel Systat). En cas d'anormalité de distribution, des tests non paramétriques ont été utilisés (test de Kruskal-Wallis).

Critères pathologiques

L'état de morbidité quotidienne des oiseaux de J+4 à J+9, notée selon une échelle de notation de 0 à 4

La dégradation de l'aspect des matières fécales de J+4 à J+9 selon une échelle de 0 à 4, l'excrétion quotidienne d'oocystes d'une cage par lot de J+4 à J+9

Les lésions individuelles à J+5 de la moitié des sujets de chaque lot infecté avec *E. acervulina*, selon l'échelle de Johnson et Reid (1970) pour cette coccidie

L'état des tubes digestifs à J+5 chez la moitié des oiseaux infectés avec *E. praecox* seule.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

E. praecox a entraîné une baisse de gain de poids augmentant avec l'accroissement de la dose inoculée sur la période J-3 à J+5, mais cette baisse n'était plus observable sur la période J-3 à J+11 (tableau 1). L'effet négatif sur les performances des oiseaux semble donc avoir lieu pendant le développement parasitaire dans l'intestin, comme c'est le cas avec les coccidies dont la pathogénicité est définitivement établie. De même, l'absence de différence à J+11 post-infection suggère une croissance compensatrice chez les oiseaux après l'épisode infectieux aigu.

Aucun symptôme n'a été noté (morbidité, tableau 1) et l'excrétion d'oocystes forte à J+4 PI a pratiquement disparu après J+5. Les lésions à J+5 étaient variables suivant les sujets, avec parfois un enduit blanc nécrotique crémeux recouvrant une muqueuse duodénale décolorée et chez d'autres une inflammation de la muqueuse et des pétéchies plus ou moins abondantes sur les séreuses duodénale et jéjunale. Enfin, chez certains oiseaux, l'intestin paraissait normal. Ces observations étaient indépendantes des doses infectieuses. Ces observations vont dans le même sens que celles rapportées dans des publications concernant cette espèce (Long 1968 ; Williams 1998). L'absence de symptômes, alors qu'il y a dégradation des performances zootechniques, peut conduire à formuler deux hypothèses : soit cette coccidie est moins pathogène que celles qui engendrent des lésions du tube digestif, soit les doses infectieuses pour cette étude étaient insuffisantes pour que se manifestent des symptômes visibles chez les oiseaux infectés.

Jenkins et al. (2008) n'ont pas noté d'effet significatif d'*E. praecox* sur le gain de poids avec une dose infectieuse de 10^4 oocystes, alors que nous avons

observé un effet avec une dose de 5.10^3 oocystes par oiseau. Cette différence peut éventuellement s'expliquer par une variabilité de la pathogénicité au sein des différentes populations chez cette espèce.

En association avec *E. acervulina*, *E. praecox* a amplifié son effet dépresseur sur la croissance, en augmentant également légèrement les symptômes (tableau 2). Ainsi, alors qu'*E. acervulina* seule à faible dose n'a pas eu d'effet significatif sur le gain de poids, l'association avec *E. praecox* a induit une baisse de gain de poids significative sur la période de J-3 à J+5, ce qui s'explique par l'effet négatif d'*E. praecox* mis en évidence en infection unique (tableau 1). A J+11, les différences n'étaient plus significatives.

Avec *E. acervulina* à forte dose, même si les différences observées n'étaient pas significatives entre les oiseaux infectés avec cette seule espèce et ceux infectés avec les deux espèces à J+5, les valeurs indiquent une tendance à l'augmentation de la détérioration des performances. De plus, à J+11, il n'a pas été observé de croissance compensatrice permettant de récupérer les pertes, et les écarts de poids et de gain de poids étaient significativement plus élevés pour les oiseaux recevant uniquement 200.000 oocystes d'*E. acervulina* que pour ceux recevant 200.000 d'*E. acervulina* et 200.000 d'*E. praecox*. Dans ce cas de fortes infections combinées, une aggravation ne correspondant pas à un simple effet additif a été obtenue, étant donné qu'*E. praecox* seule n'a pas eu d'impact à J+11. De plus, les symptômes dus à *E. acervulina* étaient plus importants dans les lots correspondants.

Les résultats d'excrétion d'oocystes (tableau 1 et 2) n'étaient pas comparables aux autres critères suivis, et aucune interprétation ne peut expliquer les valeurs obtenues. Ce critère peut être considéré comme non pertinent, comme déjà démontré par M.W. Reid avec des études d'efficacité de produits anticoccidiens (1975).

CONCLUSION

Le pouvoir pathogène d'*Eimeria praecox* a été clairement démontré dans cette étude, et l'effet négatif sur le gain de poids a été observé dès la faible dose infectieuse. Comme pour les autres espèces de coccidies, son pouvoir pathogène augmente avec la quantité d'oocystes inoculés, les oiseaux ayant tous le même statut sanitaire au début de cette étude. En co-infection avec *E. acervulina* à faible dose infectieuse, son impact sur les performances s'ajoute à celui de cette dernière, et il est significativement augmenté par rapport à une infection avec *E. acervulina* seule. Lors d'infection forte avec les deux espèces, les symptômes semblent aggravés et l'effet négatif du développement coccidien sur les performances zootechniques est encore présent à J+11 après

infection. Bien que la mesure de l'intensité d'une infection à *E. praecox* soit impossible du fait de l'absence de lésions caractéristiques, il faut tenir

compte de cette espèce et de son impact possible sur les performances dans une démarche prophylactique visant une protection optimale des volailles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Gore T.C., Long P.L., 1982. *Protozool.* (29) 82-85
Jenkins M., Allen P., Wilkins G., Klopp S., Miska K., 2008. *Vet. Parasitol.*, (155) 10-14
Johnson J., Reid M.W., 1970. *Exp.Parasitol.* (28) 30-38
Jorgensen W.K., Stewart N.P., Jeston P.J., Molloy J.B., Blight G.W., Dalgliesh R.J., 1997. *Aust. Vet. J.* (75) 592-595
Long P.L., 1968. *Parasitology*, (58) 691-700
Reid M.W. 1975. *Avian Dis.* (19) 802-811
Williams R.B., 1998. *Intern. J. Parasitol.* (28) 1089-1098

Tableau 1. Pathogénicité d'*Eimeria praecox* seule en fonction de la dose infectieuse

Lot	Poids J+5	GP -3/+5	Poids J+11	GP -3/+11	Morbidité	Fientes J+4	Oocystes J+4
NI	949±44 ^a	525±44 ^a	1385±86 ^a	965±86 ^a	0	0	0
IP1	898±51 ^b	474±46 ^b	1344±83 ^a	925±76 ^a	0	0	320 000
IP2	867±43 ^{bc}	442±45 ^{bc}	1366±74 ^a	945±71 ^a	0	1	90 000
IP3	849±52 ^c	424±54 ^c	1336±72 ^a	915±71 ^a	0	2	280 000

Pour l'intitulé des lots, se référer au paragraphe 1.3.

GP : gain de poids moyen individuel sur la période considérée (en jours)

Poids et GP : moyenne individuelle indiquée en grammes

Fientes J+4 : aspect des matières fécales selon une échelle de 0 – normal à 4 – diarrhéique

Oocystes : nombre d'oocystes par gramme de matières fécales d'une cage (à J+4, jour de la plus forte excrétion)

Tableau 2. Pathogénicité d'*Eimeria praecox* associée à *E. acervulina* en fonction de la dose infectieuse

Lot	Poids J+5	GP -3/+5	Poids J+11	GP -3/+11	Morbidité J+5	Fientes J+4	Oocystes J+4	Lésions
NI	949±44 ^a	525±44 ^a	1385±86 ^a	965±86 ^a	0	0	0	0
IA1	940±51 ^{ab}	516±58 ^a	1430±87 ^a	1013±92 ^a	1	2	3,0.10 ⁶	2,8
IA2	824±55 ^c	399±52 ^c	1304±67 ^b	883±56 ^b	3	2	6,6.10 ⁶	3,9
IA1P1	891±44 ^b	465±43 ^b	1381±66 ^a	960±72 ^a	1	3	1,6.10 ⁶	2,0
IA1P3	826±53 ^c	401±46 ^c	1320±74 ^{ab}	899±70 ^{ab}	3	3	0,2.10 ⁶	2,2
IA2P1	797±43 ^c	373±41 ^c	1251±69 ^{bc}	830±68 ^{bc}	4	3	8,3.10 ⁶	3,8
IA2P3	784±45 ^c	360±39 ^c	1224±61 ^c	804±57 ^c	4	3	4,7.10 ⁶	4,0

Pour l'intitulé des lots, se référer au paragraphe 1.3.

GP : gain de poids moyen individuel sur la période considérée (en jours)

Poids et GP : moyenne individuelle indiquée en grammes

Fientes J+4 : aspect des matières fécales selon une échelle de 0 – normal à 4 – diarrhéique

Oocystes : nombre d'oocystes par gramme de matières fécales d'une cage (à J+4, jour de la plus forte excrétion)

Lésions : indice lésionnel moyen par oiseau pour *E. acervulina* selon l'échelle de Johnson et Reid (1970)