



Evaluation de l'efficacité et de la tolérance à court terme chez la pintade (*Numida meleagris*) d'additifs anticoccidiens autorisés chez le poulet *Gallus gallus*

Jean-Michel REPERANT⁽¹⁾, Martine THOMAS-HENAFF⁽¹⁾,
Jeannine MOREL⁽¹⁾, Henri MOREL⁽¹⁾, Pierre LE BIHANNIC⁽²⁾ et
Véronique JESTIN⁽¹⁾

(1) Unité de recherche et d'appui scientifique et technique de Virologie,
Immunologie, Parasitologie Aviaire et Cunicole, AFSSA – Site de Ploufragan, BP 53,
F-22440 Ploufragan

(2) Service d'expérimentation et d'élevage en production avicoles, AFSSA –
Site de Ploufragan, BP 53, F-22440 Ploufragan

RESUME

Il n'existe plus d'autorisation chez la pintade pour les additifs anticoccidiens utilisés en alimentation animale. Le but de nos travaux a été d'évaluer l'efficacité et la tolérance à court terme de six additifs anticoccidiens autorisés chez le poulet (amprolium, décoquinatate, diclazuril, lasalocid, salinomycine et narasin), dans un modèle de type "test de sensibilité aux anticoccidiens" ou "anticoccidial sensitivity test" en batteries chez la pintade. Les résultats de tolérance à court terme n'ont pas permis de mettre en évidence d'effet néfaste des produits évalués. Trois produits ont contrôlé le développement pathogène de la souche d'*Eimeria grenieri* utilisée : le diclazuril, la salinomycine et la narasin. Les trois autres anticoccidiens n'ont pas amélioré les performances des oiseaux ni limité le développement parasitaire de la souche de coccidie étudiée par rapport à un lot d'oiseaux infectés ne recevant aucun anticoccidien dans l'aliment. Les trois produits efficaces sont des candidats potentiels pour le contrôle de la coccidiose à *E. grenieri* chez la pintade.

SUMMARY

No anticoccidial additive used in animal nutrition is allowed anymore for guinea fowls. The aim of our work was to evaluate effectiveness and short term tolerance of six anticoccidial additives authorized with broilers (amprolium, decoquinate, diclazuril, lasalocid, salinomycin and narasin) in an anticoccidial sensitivity test model in batteries with guinea fowls. Short term tolerance showed no side effects of the evaluated drugs. Three drugs controlled the pathogenic development of the strain of *Eimeria grenieri* used : diclazuril, salinomycin and narasin. The three other anticoccidial drugs did not enhance bird growth and they did not limit the parasitic development of the studied strain of coccidia, compared with a group of infected birds receiving no anticoccidial drug. The three effective drugs are potential candidates for the control of coccidiosis caused by *E. grenieri* in guinea fowls.

Introduction

Les coccidies sont des protozoaires parasites obligatoires, très inféodés à leurs hôtes aviaires. La pintade est l'hôte de deux espèces de coccidies, appartenant au genre *Eimeria* : *E. numidae* et *E. grenieri*. Ces deux espèces strictement spécifiques de la pintade sont pathogènes. *E. grenieri* est l'espèce la plus fréquente (Yvoré et Aycardi, 1967, Long et Millard, 1978). *E. numidae*, espèce plus pathogène qu'*E. grenieri* est rare, et elle ne semble jamais avoir été observée dans les élevages en France.

Le contrôle de ces populations de coccidies est indispensable pour empêcher l'apparition de coccidioses, maladies causées par un fort développement de ces parasites, entraînant des retards de croissance, une augmentation de l'indice de consommation, des diarrhées responsables de la dégradation des litières, et une hétérogénéité de poids dans les lots. Parmi les méthodes employées pour contrôler ces parasites, les produits anticoccidiens utilisés dans l'alimentation des oiseaux (additifs alimentaires) sont très utilisés en aviculture. Toutefois, les trois anticoccidiens utilisés chez la pintade (amprolium, amprolium + éthopabate, clopidol) ont vu leur autorisation d'utilisation disparaître en mai 2002, dans le cadre de la réévaluation des additifs dictée par la directive de la communauté européenne 70-524/CEE. La vaccination pratiquée pour l'espèce *Gallus gallus* ne peut être utilisée chez la pintade : les souches vivantes du vaccin sont des espèces de coccidies spécifiques du poulet, qui n'engendrent pas d'immunité croisée avec les coccidies de la pintade, ni avec celles des autres oiseaux.

Le contrôle des coccidies chez la pintade est aussi important que chez le poulet, et la disparition des autorisations d'anticoccidiens pour cette espèce oblige à rechercher des alternatives. Parmi les alternatives possibles, l'utilisation d'anticoccidiens autorisés chez le poulet est envisagée. Dans cette étude, nous avons choisi six produits anticoccidiens autorisés pour le poulet afin d'évaluer leur efficacité sur une souche d'*E. grenieri* iso-

lée à partir d'un prélèvement du terrain, et leur toxicité évaluée à partir de quelques critères chez la pintade en absence d'infection coccidienne.

1. Matériel et méthode

L'isolat d'*E. grenieri* a été obtenu d'un élevage de pintades de la région Bretagne-Pays de Loire. Deux souches S1 et S2 clonées chacune à partir d'un oocyste provenant de l'isolat ont été obtenues. Leur pathogénicité en fonction de la dose inoculée (100.000, 200.000 et 400.000 oocystes par oiseau) a été évaluée (tableau 1), et nous avons sélectionné la souche S2 qui, à la dose de 200.000 oocystes, avait causé une baisse de gain de poids (GP) de plus de 50 % par rapport aux oiseaux témoins non infectés (72 g contre 162 g chez les sujets témoins) sur une période de 10 jours, les oiseaux ayant été infectés expérimentalement deux jours après la première pesée.

Les anticoccidiens utilisés étaient des présentations commerciales d'amprolium, de décoquinat, de diclazuril, de lasalocid, de salinomycine



Lésion caecale d'indice 3 observée lors de l'évaluation de la pathogénicité des deux souches d'*E. grenieri* obtenues à partir de l'isolat collecté sur le terrain. La présence de ce caséum observée chez des sujets non infectés n'est pas un critère pertinent de coccidiose à *E. grenieri*

le poulet pour la partie innocuité (tableau 2). Une étude préliminaire avec le diclazuril et le lasalocid aux doses recommandées chez le poulet n'avait pas mis en évidence d'effet néfaste sur la croissance. Ainsi, dans cette étude, des concentrations plus élevées ont été utilisées pour ces deux produits.

Le protocole mis en place est un protocole standard de type AST (anticoccidial sensitivity test), avec 18 animaux par lot, en six cages de 3 pintades élevées sur grillage. Pour

Tableau 1 : Évaluation de la pathogénicité des deux souches S1 et S2 d'*E. grenieri*. Les gains de poids (GP) sont la moyenne des gains de poids de six oiseaux par lot pesés aux âges de 17 et 27 jours, et l'infection expérimentale a été réalisée à 19 jours d'âge

Lot Dose	Témoins	S 1 100.000	S 1 200.000	S 1 400.000	S 2 100.000	S 2 200.000	S 2 400.000
GP (g)	163	115	98	116	125	72	52
% témoin		71	60	71	77	44	32

Tableau 2 : Anticoccidiens utilisés pour ces études. ppm : partie par million (= mg d'additif par kilogramme d'aliment)

	étude innocuité	étude efficacité	autorisation poulet
Amprolium (Amp)	125 ppm	125 ppm	125 ppm*
Décoquinat (Dec)	40 ppm	40 ppm	20-40 ppm (40 ppm)
Diclazuril (Dic)	5 ppm	1 ppm	1 ppm
Lasalocid (Las)	180 ppm	90 ppm	75-125 ppm (90 ppm)
Salinomycine (Sal)	60 ppm	60 ppm	60 ppm
Narasin (Nar)	70 ppm	70 ppm	60-70 ppm (70 ppm)

* L'emploi de l'amprolium n'est plus autorisé en tant qu'additif alimentaire en aviculture depuis mai 2002, mais nous avons utilisé la concentration recommandée pour la volaille lorsqu'il était autorisé. Entre parenthèses, concentrations les plus couramment utilisées en élevage

la première étude portant sur la toxicité à court terme, 300 pintadeaux d'un jour ont été démarrés en batteries en animaleries protégées, avec eau et aliment en farine *ad libitum*. Les oiseaux ont été pesés et bagués à l'âge de 17 jours, et un histogramme de poids a été réalisé. 126 pintadeaux ont été conservés, répartis en sept lots homogènes et mis en place à 18 jours d'âge. Pour la seconde partie portant sur l'efficacité, 350 pintadeaux ont été démarrés et 144 ont été mis en place à l'âge de 19 jours et répartis en huit lots homogènes. Un lot témoin non infecté et ne recevant aucun additif anticoccidien dans l'aliment a été intégré dans les études d'innocuité et d'efficacité, et un lot témoin infecté mais ne recevant pas d'additif anticoccidien dans l'aliment a été intégré dans l'étude efficacité. Les oiseaux des lots concernés ont été infectés individuellement à l'âge de 21 jours avec 200.000 oocystes de la souche S2 d'*E. grenieri*, par voie orale dans le jabot, sous un volume d'1 ml par oiseau.

Les critères mesurés ont porté sur le gain de poids (GP) pendant la durée de l'étude, l'indice de consommation (IC) et des critères pathologiques évalués selon des échelles de notation internes présentées dans le tableau 3 portant sur la morbidité et l'aspect des matières fécales relevés quotidiennement ainsi que sur les lésions du tube digestif pour la partie efficacité.

La durée de l'étude a été de dix jours après la mise en place des oiseaux, sauf pour une cage par lot pour la partie efficacité, qui a été conservée jusqu'au seizième jour après la mise en place, afin de suivre les critères pathologiques sur une plus longue durée. Ainsi, l'excrétion quotidienne d'oocystes a été contrôlée sur un échantillon de 3 grammes de J+4 à J+13 post-infection.

2. Résultats

Au cours de la période d'observation, il n'a pas été observé de mortalité ni de morbidité chez les oiseaux. Les résultats de toxicité à court terme n'ont pas permis de mettre en évidence de différence

Tableau 3 : *Echelles de notation utilisées pour évaluer les critères pathologiques étudiés*

	Morbidité des oiseaux	Aspect des matières fécales	Lésions au niveau caecal
0	attitude normale	normal	néant
1	plumes ébouriffées (surtout celles du cou)	mou	contenu mousseux ou liquide gaz
2	début de frilosité apathie	très mou mais pas liquide	présence de grains de caséum
3	frilosité apathie marquées animaux prostrés	liquide mais pas glaireux	contenu caecal remplacé par du caséum
4	plumes toutes ébouriffées position en boule ailes tombantes	très liquide avec mucosités	présence de caséum et de sang

Tableau 4 : *Gains de poids et indices de consommation dans l'étude sans infection (toxicité à court terme). GP : gain de poids – IC : indice de consommation*

Lot	Témoin	Amp	Déc	Dic	Las	Sal	Nar
GP (g)	227 ^a	215 ^a	206 ^a	211 ^a	219 ^a	211 ^a	198 ^a
IC	1,99	2,01	2,13	2,07	2,07	2,22	2,19

Aucune différence significative n'est observée entre les gains de poids moyens indiqués avec la même lettre. Analyse statistique : vérification de la normalité de distribution des gains de poids au sein de chaque lot (test de Kolmogorov-Smirnov) et analyse de variance, suivie d'un test de comparaison multiple de Bonferroni avec le logiciel Systat 7.0 pour Windows NT

Tableau 5 : *Gains de poids et indices de consommation dans l'étude sans infection (toxicité à court terme). GP : gain de poids – IC : indice de consommation*

Lot	Témoin	Infecté	Amp	Déc	Dic	Las	Sal	Nar
GP (g)	145 ^a	59 ^c	62 ^c	55 ^c	131 ^{ab}	71 ^c	124 ^{ab}	113 ^b
IC	3,43	7,23	6,80	7,79	3,92	6,15	3,97	3,76

Aucune différence significative n'est observée entre les gains de poids moyens indiqués avec la même lettre. Analyse statistique : vérification de la normalité de distribution des gains de poids au sein de chaque lot (test de Kolmogorov-Smirnov) et analyse de variance, suivie d'un test de comparaison multiple de Bonferroni avec le logiciel Systat 7.0 pour Windows NT

Tableau 6 : *Morbidité des oiseaux*

Lot	Témoin	Infecté	Amp	Déc	Dic	Las	Sal	Nar
M. J+4	0	2	2	2	2	2	2	2
M. J+5	0	4	3	4	4	4	4	3
M. J+6	1	4	4	3	3	4	4	3
M. J+7	0	4	4	3	3	4	4	3
M. J+8	0	4	4	3	2	4	3	3
M. J+9	0	4	3	4	2	4	2	1
M. J+10	0	4	3	4	1	4	1	1
M. J+11	0	4	3	2	0	4	0	1
M. J+12	0	2	2	2	0	2	0	1

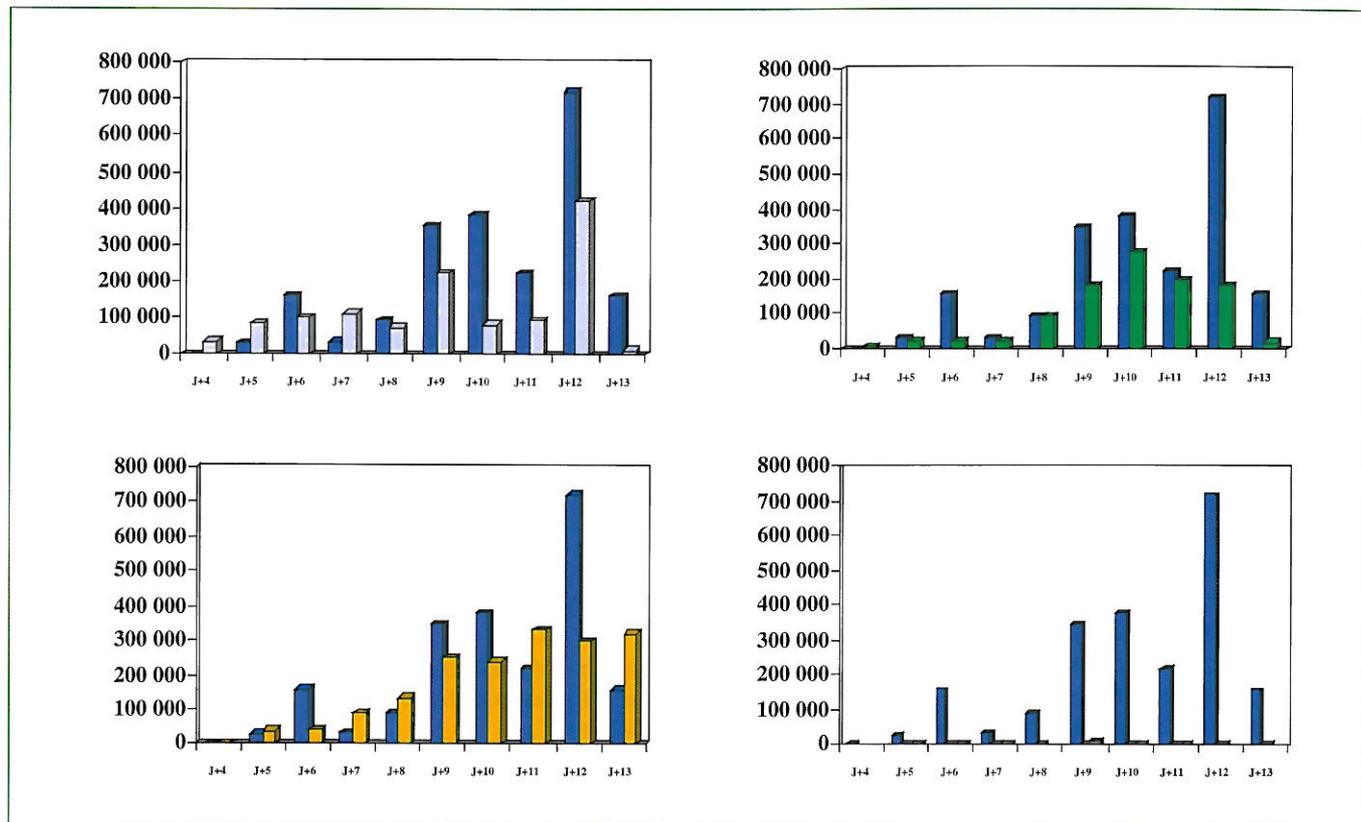
Aspect des matières fécales

Lot	Témoin	Infecté	Amp	Déc	Dic	Las	Sal	Nar
M.F. J+4	0	4	4	4	2	4	1	1
M.F. J+5	0	3	3	4	1	3	0	1
M.F. J+6	0	4	4	4	2	4	0	1
M.F. J+7	0	4	4	4	1	4	0	1
M.F. J+8	0	4	4	4	2	2	1	1
M.F. J+9	0	4	4	3	1	2	1	0
M.F. J+10	0	1	1	1	1	2	0	0
M.F. J+11	0	2	1	0	0	0	0	0
M.F. J+12	0	0	0	0	0	0	0	0

Lésions

Lot	Témoin	Infecté	Amp	Déc	Dic	Las	Sal	Nar
Lésion 0	7	0	0	0	4	0	9	15
Lésion 1	1	4	3	6	6	1	6	0
Lésion 2	7	11	12	9	5	14	0	0
Lésion 3	0	0	0	0	0	0	0	0
Lésion 4	0	0	0	0	0	0	0	0
Moyenne	1,00	1,73	1,80	1,60	1,07	1,93	0,40	0,00

Figure 1 : excrétion quotidienne d'oocystes de J+4 à J+13 après infection, en nombre d'oocystes par gramme de fientes, dans le lot CNT (en bleu) comparée à celle des lots recevant l'amprolium (bleu clair), le décoquinatate (vert), le lasalocid (orange) et la salinomycine et le narasin (mauve, gris)



significative dans les gains de poids moyens entre les différents lots (tableau 4). Les performances les moins bonnes sont obtenues avec la supplémentation en narasin, sans qu'il y ait de différence significative avec le gain de poids des oiseaux ne recevant pas d'anticoccidien. Ainsi, les trois produits les moins intéressants dans cette étude sont le narasin, la salinomycine et le décoquinatate.

L'infection coccidienne a conduit à une baisse de gain de poids de 59 % entre le lot témoin non infecté et le lot témoin infecté (tableau 5). Ce résultat est conforme à nos attentes, car il est très proche de celui obtenu lors de l'évaluation de la pathogénicité de la souche (tableau 1). Les résultats d'efficacité permettent de mettre en évidence des différences significatives dans les gains de poids entre les différents lots (tableau 5). Les produits les plus efficaces, permettant d'obtenir des gains de poids non significativement différents de ceux du lot témoin non infecté ainsi que des indices de consommation très similaires, sont le diclazuril et la salinomycine. Le narasin, bien

que donnant des gains de poids significativement différents de ceux du lot témoin non infecté, améliore significativement les performances par rapport aux témoins infectés. L'amprolium, le décoquinatate et le lasalocid ne permettent pas d'améliorer significativement les gains de poids par rapport aux oiseaux témoins infectés et n'améliorent pas les indices de consommation.

Les critères pathologiques sont le reflet des critères zootechniques. Ainsi, la morbidité des oiseaux et l'aspect des matières fécales sont améliorés par rapport aux témoins infectés, avec le diclazuril, et encore plus avec la salinomycine et le narasin. L'excrétion d'oocystes est nettement diminuée avec ces trois anticoccidiens (figure 1). Les critères pathologiques avec les trois autres anticoccidiens évalués sont comparables à ceux du lot témoin infecté.

3. Discussion

Les résultats obtenus dans cette étude confirment qu'*E. grenieri* est une espèce de coccidie pathogène

chez la pintade. Les deux souches clonées à partir d'un oocyste ont entraîné une baisse des performances aux doses administrées. Toutefois, bien qu'elles soient toutes les deux issues du même isolat, elles n'ont pas eu le même effet sur le gain de poids des oiseaux. La souche S1 n'a pas eu d'effet dépendant de la dose d'infection (-29 % avec 100.000 ou 400.000 oocystes par oiseau et -40 % avec 200.000 oocystes par oiseau). La souche S2 a eu un effet sur le gain de poids en relation avec la dose inoculée: -23 % avec 100.000 oocystes par oiseau, à -68 % avec 400.000 oocystes par oiseau. Cette observation, qui reste à confirmer avec des effectifs plus importants, suggère que la pathogénicité serait différente entre les clones au sein d'une même population d'*E. grenieri*.

Des indices lésionnels calqués sur les notations définies par Johnson et Reid (1970) pour les coccidies du poulet, ont été définis dans l'étude initiale visant à déterminer la dose pathogène d'*E. grenieri*. Le critère majeur basé sur la présence de caséum plus ou moins abondant



Oocyste d'*E. grenieri* non sporulé. Noter le micropyle en bas de la paroi sur la photo.

fécales. Après un examen microscopique, aucune forme de développement de coccidies n'a pu être associée. Ce critère n'est donc pas pertinent pour apprécier l'intensité du développement d'*E. grenieri* dans le tube digestif, et les résultats du tableau rapportant ces indices lésionnels ne présentent pas d'intérêt. Les descriptions antérieures d'*E. grenieri* (Yvoré et Aycardi, 1967, Long et Millard, 1978) ne mentionnaient pas la présence de lésions caractéristiques. Seule une

inflammation globale de l'intestin grêle était rapportée. La transposition des notations d'indices lésionnels pour les coccidies pathogènes du poulet ne semble donc pas possible pour *E. grenieri* chez la pintade, du moins sur ces critères liés au contenu caecal.

Dans cette étude, des anticoccidiens utilisés chez le poulet ont été efficaces sur la souche d'*E. grenieri* et les candidats les plus intéressants sont le diclazuril, la salinomycine et le narasin. Les trois autres anticoccidiens étudiés, l'amprolium, le décoquinate et le lasalocid sont des produits sans toxicité apparente à partir des critères étudiés, mais ils n'ont pas été du tout efficaces sur la souche d'*E. grenieri* testée. Le diclazuril est le meilleur produit dans cette étude, il n'est pas toxique même à une dose cinq fois supérieure à la dose recommandée chez le poulet, et il inhibe totalement l'excrétion des coccidies à la dose utilisée chez le poulet. La salinomycine et le narasin, anticoccidiens ionophores, autorisent une excrétion de coccidies, mais très faible par rapport aux oiseaux témoins

infectés. Il faut rappeler que, du fait de leur mode d'action, les molécules ionophores permettent le développement complet d'une faible proportion de coccidies totalement sensibles à ces molécules. Ils sont donc aussi totalement efficaces dans cette étude. Cependant, les gains de poids avec le narasin en présence d'infection coccidienne sont significativement inférieurs à ceux obtenus dans le lot témoin. Le narasin a donc probablement un léger effet négatif sur la croissance des oiseaux, hypothèse à vérifier mais confortée par l'observation des gains de poids moyens en absence d'infection coccidienne : ils sont les plus faibles chez les oiseaux recevant le narasin (bien qu'il n'y ait pas de différence significative avec les valeurs dans les autres lots).

En conclusion, il se dégage de cette étude que le diclazuril, la salinomycine et le narasin peuvent être des candidats potentiels pour une utilisation chez la pintade dans le contrôle de la coccidiose à *E. grenieri*.

Références bibliographiques

- Johnson J.K. et Reid W.M., 1970, Anticoccidial drugs : lesions scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens, *Exp. Parasitol.* 28 : 30-36
- Long P.L. et Millard B.J., 1978, Studies on *Eimeria grenieri* in the guinea fowl (*Numida meleagris*). *Parasitology*, 76 : 1-9
- Naciri M., de Gussem K., Fort G., Bernardet N., Nérat F. et Chaussée A.M., 2003, Intérêt des anticoccidiogrammes pour une prévention efficace de la coccidiose du poulet. *Proceedings of 5èmes journées de la recherche avicole, Tours, 26-27 mai 2003* : 281-284
- Yvoré P. et Aycardi J., 1967, une nouvelle coccidie *Eimeria grenieri* n. sp. (Protozoa ; Eimeriidae) parasite de la pintade *Numida meleagris*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 264 : 73-76