

Méthodologie de reproduction de l'Entéropathie Epizootique du Lapin (EEL) : contamination par contact direct ou indirect avec un ou plusieurs lapins inoculés avec l'inoculum TEC 2

P. BOISOT¹, J. DUPERRAY¹, A. GUYONVARCH¹, D. LICOIS², P. COUDERT²

¹Evalis, BP 235, 56006 Vannes Cedex, France

²INRA, Unité BioAgresseur, Santé, Environnement, 37380 Nouzilly, France

Résumé – L'objectif de ce travail est d'étudier la contamination des lapins par la mise en contact directe ou indirecte avec un ou plusieurs lapins préalablement inoculés avec l'inoculum TEC 2. La mise en contact directe ou indirecte (dans des cages voisines) de lapins avec un lapin inoculé avec l'inoculum TEC permet de reproduire l'EEL avec un décalage d'expression de la mortalité de seulement 2 à 5 jours en comparaison à l'inoculation directe par voie orale. L'utilisation de deux lapins contaminants par cage au lieu d'un ne modifie pas l'intensité de la maladie pour les autres lapereaux de la cage. La mortalité et la morbidité des lapins contaminés par contact direct ou indirect sont plus élevées que celles des lapins inoculés. Un lapin malade représenterait une charge contaminante plus importante que l'inoculum TEC inoculé par voie orale.

Abstract- Methodology of reproduction of Epizootic Rabbit Enteropathy syndrome (ERE) : direct or indirect contact contamination with one or several rabbits inoculated with TEC2 inoculum. The purpose of this trial was to study rabbit contamination by direct or indirect contact with one or several rabbits inoculated with TEC 2 inoculum. Direct or indirect contact of rabbits with one rabbit inoculated with TEC inoculum reproduces ERE syndrome with a delay in death expression of only 2 to 5 days compared to oral inoculation of TEC inoculum. The use of two contaminating rabbit per cage instead of one did not modify the intensity of the disease for the other rabbits of the cage. Mortality and morbidity of rabbits contaminated by direct or indirect contact were higher compared to that of inoculated rabbits. Sick rabbits would represent a stronger contamination load than the inoculum TEC orally inoculated.

Introduction

Depuis l'apparition de l'entéropathie épizootique du lapin (EEL) en 1997, différents travaux se sont attachés à caractériser la maladie et à mettre au point une méthodologie de reproduction expérimentale de cette dernière (Licois *et al.*, 2000 ; Licois et Coudert, 2001 ; Licois *et al.*, 2003, 2005). La méthodologie de référence consiste à inoculer par voie orale un inoculum (INRA TEC) obtenu à partir de contenus digestifs de lapins atteints d'EEL. Suite à l'inoculation, les symptômes apparaissent dans les 48 heures avec un début d'expression de mortalité entre le 4^{ème} et le 6^{ème} jour post inoculation. La reproduction de l'EEL à partir d'aliment prélevé dans des mangeoires de lapins malades a également été rapportée (Duperray *et al.*, 2000 ; Jobert *et al.*, 2001) mais présente le principal inconvénient d'être moins spécifique que l'inoculum TEC. Jusqu'à présent, la reproduction expérimentale de l'EEL avec l'inoculum TEC pour démontrer, par exemple, l'intérêt de techniques de rationnement (Boisot *et al.*, 2003) ou de molécules antibiotiques (Boisot *et al.*, 2004) se faisait en inoculant individuellement l'ensemble des lapins d'une étude. Cette approche, même si elle a le mérite de standardiser la réponse à la contamination de l'ensemble des lapins, n'est pas représentative des conditions terrain où la contamination des lapins n'est jamais simultanée. L'objectif de ce travail est d'étudier la contamination des lapins par la mise en contact directe (même cage) ou indirecte (cages voisines) avec un ou plusieurs lapins préalablement

inoculés avec l'inoculum TEC 2. Le but final étant d'obtenir un modèle optimisant l'utilisation de l'inoculum TEC tout en se rapprochant d'un mode de contamination terrain.

1. Matériel et méthodes

Cet essai a été réalisé à la station expérimentale Evalis du 16/02/04 au 24/03/04.

1.1. Dispositif expérimental

320 lapereaux ont été répartis à 32 jours d'âge en 4 lots (A, B, C et D) selon leur portée d'origine, le poids la veille du sevrage et leur sexe. Chaque lot comprenait 10 cages de 8 lapins.

- Lot A : témoin en salle « saine », sans contact direct ou indirect avec des lapins inoculés (80 lapins)
- Lot B : témoin en salle « patho », contact indirect (cages voisines) avec des lapins inoculés (80 lapins)
- Lot C : lapins en contact direct avec un lapin inoculé (*per os*) avec l'inoculum INRA TEC2 (500µl/lapin) à 32 jours d'âge (JO) (80 lapins dont 10 inoculés, un lapin inoculé par cage).
- Lot D : lapins en contact direct avec deux lapins inoculés (*per os*) avec l'inoculum INRA TEC2 (500µl/lapin) à 32 jours d'âge (80 lapins dont 20 inoculés, 2 lapins inoculés par cage).

Les salles « saine » et « patho » étaient dans deux bâtiments physiquement séparés, le suivi des deux salles étant effectué par deux agents animaliers différents. Un espace d'un mètre séparait les cages des lots B, C et D afin d'éviter tout contact direct entre lots. Le suivi quotidien des animaux et les

manipulations de pesées se sont toujours réalisées en commençant par le lot A, suivi du lot B, C et D avec changement de tenue et de gants entre chaque lot. Les lapins des 4 lots avaient un accès *ad libitum* à un aliment d'engraissement (16% Protéine, 15% cellulose et 12% amidon).

1.2. Données récoltées

La moitié des lapereaux (40 par lot) ont été pesés à J3, J6, J14, J17, J21, J28 et J35. A chaque pesée, une notation de bruit d'eau (présence-absence) a été réalisée sur les lapins pesés. La mortalité a été suivie quotidiennement sur les 320 lapins.

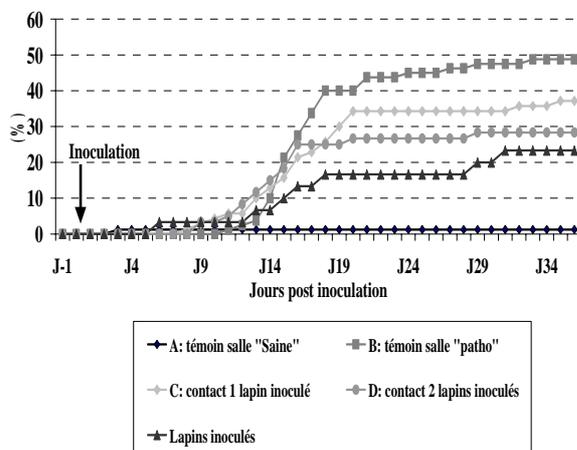
1.3. Analyses statistiques

Les lapins inoculés ont été considérés comme un lot distinct et ne sont donc pas inclus dans les résultats des lots C et D. Les données de croissances ont été analysées par analyse de variance en ajustant pour l'effet lot. Les comparaisons de moyennes ont été réalisées avec le test de Duncan lorsque les variances étaient homogènes ou le test de Games-Howell lorsque l'homogénéité des variances n'était pas respectée. Les notations de bruit d'eau et les mortalités ont été comparées entre lots par des tests de $\text{K}\chi^2$.

2. Résultats

2.1. Mortalité

Figure 1. Cinétique de mortalité cumulée des lapereaux par lot.

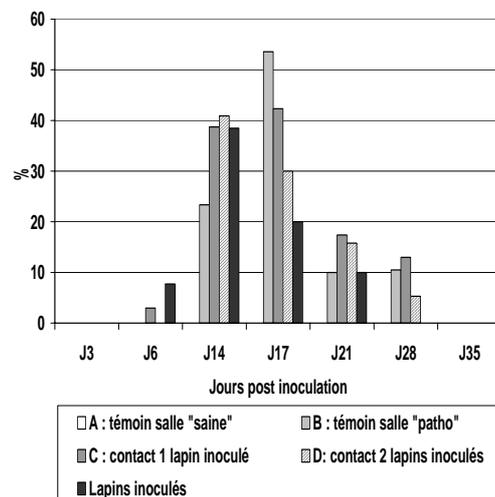


Un mort a été observé sur le lot A trois jours après le sevrage. La mort de ce lapin n'était pas liée à l'EEL. Aucun mort n'a ensuite été constaté sur ce lot jusqu'à la fin de l'étude. La mortalité sur les lapins directement inoculés a commencé 6 jours après l'inoculation (J6), soit à 38 jours d'âge, pour atteindre un total de 23% de morts en fin d'essai (Figure 1). La mortalité sur les lapins des lots C et D, en contact direct avec au moins un lapin inoculé, a commencé respectivement seulement 2 jours (lot C) et 3 jours (lot D) après la mortalité des lapereaux inoculés. La

mortalité sur ces deux lots s'est développée beaucoup plus rapidement que pour les lapins inoculés pour atteindre 28% (lot D) et 37% (lot C) en fin d'essai. La mortalité sur les lapins du lot B, qui n'étaient pas en contact direct avec des lapins inoculés, a commencé seulement 5 jours après l'observation du premier mort sur les lapereaux inoculés. Le développement de la mortalité a été rapide pour atteindre 49% de morts en fin d'essai. Au niveau statistique, la mortalité des lapereaux du lot A est significativement inférieure aux mortalités des lapereaux inoculés et des lots B, C et D. Les mortalités des lapereaux inoculés et des lapereaux des lots C et D ne sont pas significativement différentes entre elles à 5%. La mortalité des lapins du lot B est par contre significativement supérieure à celle des lapereaux inoculés.

2.2. Notation de bruit d'eau

Figure 2. Pourcentage de lapins présentant un bruit d'eau par lot à chaque pesée.

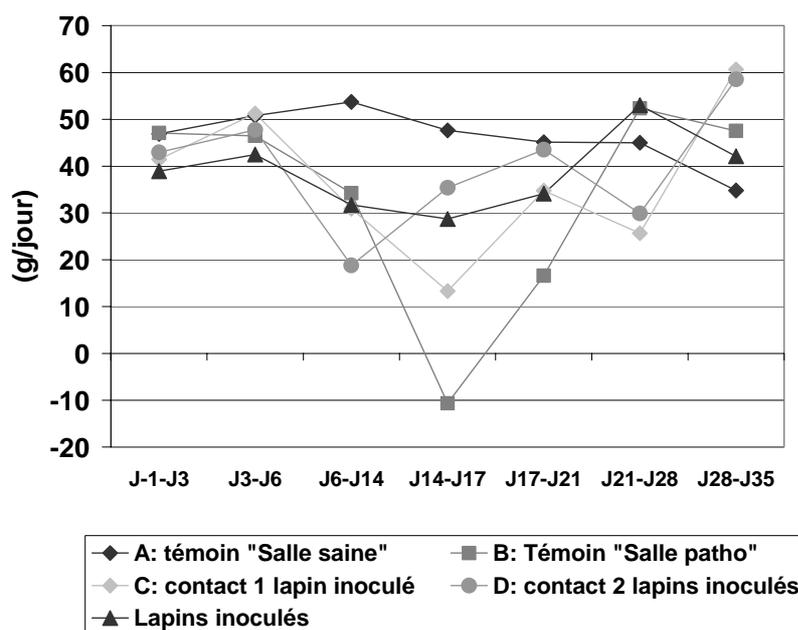


Les pourcentages de lapins présentant un bruit d'eau par lot à chaque pesée sont reportés en Figure 2. Aucun bruit d'eau n'a été observé sur les lapins du lot A durant tout l'essai, ce qui est cohérent avec l'absence de mortalité liée à l'EEL sur ce lot. Pour les lapins de la salle « patho », les premiers bruits d'eau ont été observés dès la pesée à J6 et ont ensuite été observés jusqu'à la pesée à J28. Pour les lapins inoculés et ceux du lot D, le pourcentage de lapereaux présentant un bruit d'eau est maximal à J14. Pour les lapereaux des lots B et C, le pourcentage de lapereaux présentant un bruit d'eau est maximal à la pesée J17. Les lapins ne présentant aucun bruit d'eau à aucune des pesées représentent 23% du lot B, 31% du lot C, 40% du lot D et 33% des lapins inoculés (effet traitement non significatif). Le lot A mis à part, l'effet traitement sur les fréquences de bruits d'eau n'est pas significatif quel que soit le jour d'observation.

Tableau 1. Poids individuels et gains de poids par lot

| | A : témoin salle « saine » | B : témoin salle « patho » | C : contact un lapin inoculé | D : contact deux lapins inoculés | Lapins inoculés | Statistiques |
|---|-------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|--|---------------------|--------------|
| <i>Effectif de départ</i> | 80 | 80 | 70 | 60 | 30 | |
| <i>Effectif de départ pesé</i> | 40 | 40 | 35 | 30 | 15 | |
| <i>Poids individuels 31 j (J-1) (g)</i> | 905 | 884 | 914 | 892 | 924 | NS |
| <i>Gain des poids (g/jour)</i> | | | | | | |
| Gain de poids J-1-J3 | 46,7 ^b | 47,1 ^b | 41,5 ^a | 43,0 ^{ab} | 38,9 ^a | P<,001 (1) |
| Gain de poids J3-J6 | 50,8 | 46,4 | 51,2 | 47,8 | 42,5 | NS |
| Gain de poids J6-J14 | 53,7 ^b | 34,2 ^a | 30,9 ^a | 18,8 ^a | 31,7 ^a | P<0,001 (2) |
| Gain de poids J14-J17 | 47,6 ^c | -10,6 ^a | 13,3 ^{ab} | 35,4 ^{bc} | 28,7 ^{abc} | P<0,001 (2) |
| Gain de poids J17-J21 | 45,1 ^b | 16,6 ^a | 34,7 ^{ab} | 43,5 ^{ab} | 34,1 ^{ab} | P<0,01 (2) |
| Gain de poids J21-J28 | 45,0 | 52,3 | 25,7 | 29,9 | 53 | NS |
| Gain de poids J28-J35 | 34,8 ^a | 47,5 ^{ab} | 60,6 ^b | 58,5 ^b | 42,1 ^{ab} | P<0,001 (1) |
| Gain de poids J-1-J35 (31-67 j) | 45,9 ^b | 40,4 ^a | 39,6 ^a | 40,0 ^a | 39,9 ^a | P<0,01 (1) |

NS = Non Significatif (P>0.05)

^{a, b, c} : les moyennes ayant une lettre en commun ne diffèrent pas au seuil de 5% (1) Test de Duncan; (2) Test de Games-Howell**Figure 3.** Evolution des gains de poids par lot et par période.

2.3. Poids vifs et croissances

Les résultats de poids vifs et croissances sont présentés dans le Tableau 1 et la Figure 3. Dès la fin de la première semaine d'essai, des différences de croissance entre les lots sont observées. Sur la période J0-J6, la croissance des lapereaux inoculés est significativement inférieure à la croissance des lapereaux des lots témoins A et B et du lot C. Sur la période J6-J14, les croissances des lapereaux en salle « patho » (lots B, C, D et inoculés) sont équivalentes et significativement réduites par rapport au lot témoin

A. Sur la période J14-J17, la réduction de croissance s'accroît pour les lots B et C, le GMQ sur le lot B étant même négatif sur cette période. Il est intéressant de noter que les réductions maximales de GMQ par rapport au lot A sont plus importantes sur les lots B, C et D que sur les lapins inoculés. Sur toute la période d'engraissement, la croissance du lot A est significativement supérieure à celles des autres lots. Les croissances des lots B, C, D et inoculés sont équivalentes sur la période globale d'essai.

3. Discussion

Le délai entre le déclenchement de la maladie sur les lapins inoculés et les lapins mis en contact avec les lapins contaminés est très court (2-3 jours, seulement). La transmission de la maladie par les lapins inoculés est donc très rapide. La contamination de lapins situés dans la même salle que des lapins malades, mais sans contact direct, est également très rapide avec un début de mortalité seulement 5 jours après le premier mort sur les lapins inoculés.

L'expression de la mortalité et de la morbidité semble plus importante sur les lapins contaminés par contact direct avec un lapin inoculé que sur les lapins inoculés eux-même, même si aucune différence significative n'a pu être observée. Les lapins B, contaminés par voie indirecte, ont les réductions de croissances les plus sévères et la mortalité la plus élevée (significativement supérieure à celle des lapins inoculés). La maladie peut donc être expérimentalement reproduite en utilisant des lapins inoculés mis en contact direct ou dans des cages isolées des lapins à contaminer. Les écarts de réponses entre lapins inoculés et contaminés par contact demandent confirmation et les hypothèses d'explication ne sont pas évidentes. La confirmation de ces résultats suggèrerait qu'un lapin malade en contact direct ou indirect représenterait une charge contaminante plus importante qu'une inoculation par voie orale.

L'inoculation d'un lapin supplémentaire par cage n'a pas eu d'incidence sur la vitesse de déclenchement et l'expression de la maladie avec même une mortalité et des réductions de croissance plus importantes avec un seul lapin contaminé en comparaison à deux lapins contaminés (différences non significatives).

La reproduction de la maladie en utilisant seulement quelques lapins inoculés et donc contaminants peut présenter un intérêt dans les études où l'on souhaite se rapprocher des conditions terrain avec un étalage dans le temps de la contamination des lapins. Un autre avantage méthodologique est représenté par une économie substantielle de matériel infectant.

Conclusion

La mise en contact directe ou indirecte, dans des cages voisines, de lapins avec un lapin inoculé avec l'inoculum TEC permet de reproduire l'EEL avec un décalage d'expression de la mortalité de seulement 2 à 5 jours en comparaison à l'inoculation directe par voie orale. L'utilisation de deux lapins contaminant par cage au lieu d'un n'augmente pas l'intensité de la maladie pour les autres lapereaux de la cage. La mortalité et la morbidité sur les lapins contaminés par

contact direct ou indirect sont plus élevées que sur les lapins inoculés. Un lapin malade représenterait une charge contaminante plus importante que l'inoculum TEC inoculé directement par voie orale. Les résultats de cet essai montrent qu'il n'est pas nécessaire d'inoculer individuellement l'ensemble des lapins d'une étude pour reproduire expérimentalement l'EEL et qu'il est possible de reproduire un mode de contamination proche des conditions d'élevage.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier vivement Jérôme Gillet et Xavier Dugénétais pour le suivi quotidien des animaux et la collecte des données.

Références

- BOISOT P., LICOIS D., GIDENNE T., 2003. Une restriction alimentaire réduit l'impact sanitaire d'une reproduction expérimentale de l'entéropathie épizootique (EEL) chez le lapin en croissance. *10èmes Journ. Rech. Cunicole*, Paris, 19-20/11/2003, 267-270, ITAVI Ed., Paris.
- BOISOT P., DUPERRAY J., GUYONVARCH A., ICHARD A., LICOIS D., COUDERT D., 2004. Evaluation of the effectiveness of soluble bacitracin Bacivet S[®] in drinking water compared to bacitracin in the feed (Albac[®]) during an experimental reproduction of Epizootic Rabbit Enteropathy syndrome. *Proc. of the 8th World Rabbit Congress*. Puebla, Mexico 7-10 September, 457-462.
- COUDERT P., LICOIS D., 2004. Study of early phenomena during experimental Epizootic Rabbit Enteropathy: preliminary results. *Proc. of the 8th World Rabbit Congress*. Puebla, Mexico 7-10 September, 220-225.
- DUPERRAY J., ECKENFELDER B., PUYBASSET A., RICHARD A., ROUAULT M., 2000. Interest of zinc bacitracin in the treatment and the prevention of the epizootic rabbit enterocolitis syndrome in growing rabbits. *World Rabbit Sci.* 8 Suppl. 1B (2000) 233-240.
- JOBERT J. L., EONO F., LE GALL-RECULE G., GUITTET M., 2001. Reproduction expérimentale de l'Entérocolite Epizootique du Lapin : étude anatomo-clinique et hématologique. *9èmes Journ. Rech. Cunicole*, Paris, 28-29/11/2001, 135-138., ITAVI Ed., Paris.
- LICOIS D., COUDERT P., CERE N., VAUTHEROT J.F., 2000. Epizootic Enterocolitis of the rabbit: a review of current research, *World Rabbit Science* 8 Suppl. 1 B (2000) 187-194.
- LICOIS D., COUDERT P., 2001. Entéropathie Epizootique du lapin : reproduction expérimentale, symptômes et lésions observées. *9èmes Journ. Rech. Cunicole* Paris, 28-29/11/2001, 139-142. ITAVI Ed, Paris.
- LICOIS D., DEWREE R., COUDERT P., VINDEVOGLE H. ET MARLIER D., 2001. Essai de reproduction expérimentale de l'entéropathie épizootique du lapin (EEL) avec des inoculums originaires de Belgique et des Pays-Bas et avec des souches bactériennes isolées de ces inoculums ainsi que de TEC2 et TEC3 (inoculums INRA). *9èmes Journ. Rech. Cunicole* Paris, 28-29/11/2001, 255-258. ITAVI Ed, Paris.
- LICOIS D., WYERS M., COUDERT P., 2005. Epizootic Rabbit Enteropathy : experimental transmission and clinical characterization. *Vet. Res.* 36, 601-613.