

NOUVELLES FORMES DE PATHOLOGIE

EN CUNICULTURE INTENSIVE

Pathologie liée à la technologie de l'aliment

J.P. MORISSE D.V.M.

Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires
(CNEVA), Station Expérimentale d'Aviculture, 22440
PLOUFRAGAN (France)

L'auteur adresse ses vifs remerciements aux organisateurs du XIIIème Symposium de Cuniculture de lui avoir fait l'honneur de l'inviter à participer à leurs travaux

INTRODUCTION

L'importance économique de la mortalité observée pendant la phase d'engraissement dans les élevages intensifs cunicoles, justifie l'intérêt porté par le CNEVA-Ploufragan à l'étude des troubles digestifs et à leur prévention.

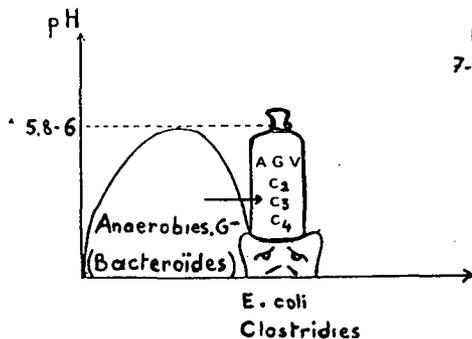
L'approche est essentiellement d'ordre écopathologique, c'est à dire que partant du principe que la flore intestinale du lapin sain, recèle souvent en faible quantité des bactéries potentiellement pathogènes comme les colibacilles et les clostridies, la démarche consiste à essayer de déterminer ce qui, dans l'environnement de l'animal, peut expliquer la rupture de l'équilibre "Hôte-Bactéries".

1) - Equilibre intestinal et facteurs de perturbation

Certains aspects des mécanismes d'apparition des problèmes digestifs du lapin commencent à être relativement bien connus : on sait en effet que certaines populations bactériennes (Colibacilles ou Clostridies) peuvent échapper au contrôle exercé sur elles par les Acides Gras Volatils (AGV) issus du métabolisme des glucides par les Bacteroides (Anaérobies Gram-), se multiplier de façon anarchique et exercer leur effet pathogène sur la muqueuse intestinale (1-7).

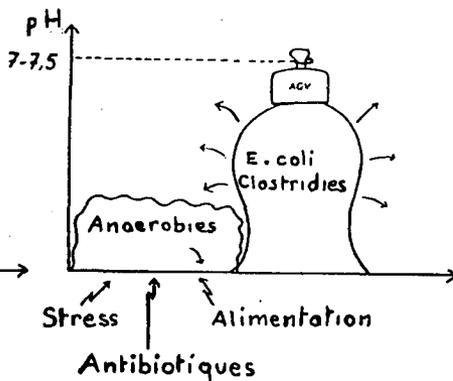
L'équilibre des flores intestinales dont dépend le fonctionnement digestif, est très fragile et de nombreux facteurs peuvent constituer une source de perturbations (schémas 1 et 2) (2).

Schéma 1 - Equilibre Flore Caecale
Rôle des AGV



« Les AGV produits en quantités importantes à partir de la digestion des glucides par certaines populations bactériennes du caecum (anaérobies strictes Gram (-) type bactéroïdes) exercent une action inhibitrice sur d'autres groupes bactériens (colibacilles et clostridies). Le pH résultant de la production des AGV est acide : de l'ordre de 5,8 à 6 ».

Schéma 2 - Disparition de l'effet inhibiteur des AGV



« Sous l'effet de conditions de vie défavorables (stress, antibiotiques, alimentation inadéquate), les populations bactériennes responsables de la synthèse des AGV sont inhibées, les taux d'AGV présents dans le caecum ne sont plus suffisants pour contenir le développement des colibacilles et des clostridies, le pH caecal devient faiblement alcalin (7 à 7,5) ».

2) - Etude des différents facteurs de risque

On peut schématiquement classer les différents facteurs de risque en deux grandes catégories :

- ceux qui sont propres à l'élevage et sur lesquels l'éleveur peut intervenir,
- ceux sur lesquels l'éleveur n'a aucune intervention possible.

Dans la même catégorie se retrouvent tous les facteurs de risque maintes fois soulignés :

- l'hygiène défectueuse
- les rythmes de reproduction trop intensifs responsables d'une détérioration de l'état sanitaire des reproductrices
- les stress divers (courants d'air, écarts thermiques importants, frayeur etc...) à l'origine d'une perturbation de la motricité intestinale par sécrétion excessive d'adrénaline

- l'usage inconsidéré des antibiotiques dans l'eau de boisson, dans l'aliment ou par injections ; c'est une cause primordiale de déstabilisation des flores intestinales.

Dans la seconde catégorie se retrouvent les facteurs de risque associés aux fournitures reçues par les éleveurs, essentiellement :

- les reproducteurs
- l'aliment.

Nous passerons rapidement sur les reproducteurs en raison des travaux déjà réalisés sur la qualité sanitaire (cf Charte Sanitaire des fournisseurs et des utilisateurs de reproducteurs) et sur les risques d'une sélection axée sur l'hyperprolificité (3-4).

L'aliment a lui aussi fait l'objet de nombreux travaux portant sur l'aspect nutritionnel ainsi que sur la présentation du granulé (granulométrie, dureté) (5).

Force est de constater que, contrairement aux idées reçues, le lapin semble relativement indifférent aux faibles écarts cellulosiques ou protéiques ainsi qu'aux caractéristiques du granulé (taille, dureté, granulométrie).

La possibilité d'un rôle toxique de l'aliment n'a pas jusqu'à présent, été étudiée de façon approfondie.

3) - Etude de l'aliment en tant que facteur de risque

L'étude de l'aliment en tant que facteur de risque doit impérativement éviter deux "a priori" aussi dangereux l'un que l'autre :

- l'aliment est toujours responsable des problèmes sanitaires
- l'aliment ne peut et ne doit jamais être mis en cause dans la genèse des troubles observés.....

La première démarche, après s'être assuré de la réalité d'une modification brusque de l'état sanitaire, est de procéder à l'analyse méthodique des différents facteurs de risque ; c'est seulement après avoir éliminé ces derniers, qu'il sera procédé à l'examen du facteur "aliment".

3.1. Eléments de présomption

L'apparition brusque de problèmes digestifs, nerveux ou de troubles de la reproduction (avortements en série) dans les deux ou trois jours suivant l'utilisation d'une nouvelle fourniture d'aliment est un élément de suspicion, non de preuve.

L'observation montre que très souvent, cette détérioration de l'état sanitaire est précédée par une phase de refus de l'aliment ou de gaspillage important.

L'apparition simultanée de plusieurs cas semblables à partir d'un même fournisseur est une condition suffisante mais non nécessaire ; nous verrons en effet qu'un seul élevage peut être touché, même lorsque plusieurs éleveurs ont été livrés à partir d'une même fabrication.

La modification de couleur ou d'odeur n'a pas de valeur réelle car ces caractéristiques dépendent des approvisionnements dont les fabricants sont tributaires.

Par contre, la présence de granulés étrangers à l'aliment "lapin" (calibre ou couleur différente) doit toujours être considérée comme un élément suspect.

L'analyse des garanties (cellulose, protéines, etc...) souvent demandée par l'éleveur, n'a rigoureusement aucun intérêt : si problème il y a, il n'est pas dans le faible écart parfois observé par rapport aux données de l'étiquette (elles mêmes dépourvues de toute valeur autre que légale).

Quant à la recherche de "toxiques" demandée sans précision ou piste sérieuse, elle n'a aucune chance d'aboutir, le laboratoire ne pouvant procéder aveuglément à toutes les recherches théoriquement nécessaires.

3.2. Eléments de certitude

L'absolue certitude est acquise lorsqu'il est possible de reproduire les troubles sanitaires à partir de l'aliment suspect dans des élevages "neutres" : élevages expérimentaux ou élevages acceptant le principe d'un essai limité.

Cette possibilité théorique est évidemment trop lourde pour être utilisable en routine, d'autant que la reproduction expérimentale n'est jamais évidente (à moins d'avoir à faire à un aliment exceptionnellement toxique) en raison du caractère multifactoriel de la pathologie.

Dans la plupart des cas, s'il y a réellement un ensemble de présomptions, le fournisseur seul, peut par recoupements et enquête au niveau de l'usine, connaître la réalité du problème.

Lorsque cette conviction est acquise, cela ne signifie pas pour autant que la cause exacte de l'intoxication est déterminée car nous entrons là dans un domaine d'une complexité effarante en raison du nombre énorme de toxiques possibles et de la faiblesse de nos moyens d'investigation.

3.3. Nature et origine des substances toxiques

Deux cas sont à considérer : les matières premières et la fabrication de l'aliment.

- Au niveau des matières premières nos connaissances sont rudimentaires en raison :

- . de la diversité des traitements phytosanitaires susceptibles d'être utilisés dans les différents pays auprès desquels nous nous approvisionnons
- . de la diversité des traitements technologiques (imparfaitement connus des acheteurs) subis par de nombreuses matières premières (adjuvants de granulation par exemple).

. des conditions de conservation des matières premières avant réception par le fabricant d'aliment.

Au niveau des moisissures, nous connaissons avec certitude la sensibilité du lapin à l'Aflatoxine B1 et les aflatoxines sont dépistées systématiquement dans les matières premières à haut risque (Arachide par exemple) lesquelles d'ailleurs sont rarement utilisées chez le lapin.

Bien que non réalisés systématiquement, les contrôles effectués par différents laboratoires ne font pas apparaître de risques très fréquents de mycotoxicoses par les aliments chez le lapin.

Il est certain que d'une façon générale, notre appréciation de l'innocuité totale de certaines matières premières est très insuffisante, faute de critères analytiques précis.

3.4. Au niveau de la fabrication de l'aliment

Il existe à ce niveau deux risques majeurs :

3.4.1. L'incorporation accidentelle de produits toxiques pour le lapin

Nous savons depuis longtemps que certains produits médicamenteux sont très hautement toxiques pour le lapin (ampicilline, lincomycine, monensin, etc...). L'utilisation accidentelle de prémélanges médicamenteux destinés à d'autres espèces animales est rarissime, en raison des contraintes imposées dans les circuits de fabrication et des précautions prises pour éviter ce type d'accident.

3.4.2. La présence fortuite de substances non incorporées dans l'aliment lapin.

Ce phénomène nous est apparu pour la première fois en 1986 lorsque nous avons démontré la toxicité chez le lapin d'un anticoccidien utilisé chez le poulet de chair : le Narasin (6) (schéma 3). Cette toxicité en elle-même n'a rien de surprenant, quand on connaît la sensibilité du lapin à un autre ionophore : le Monensin, mais l'étude des conditions d'apparition des accidents a permis de mettre en évidence la fréquence et les modalités de ce type d'intoxication.

La mise en évidence de "Narasin" dans un aliment fabriqué par nos soins, alors que ce produit ne pouvait pas avoir été utilisé dans la formule lapin, ne pouvait s'expliquer que par la fabrication préalable d'un aliment destiné au poulet de chair et supplémenté en ionophore.

Cette modalité de contamination est redoutable car le toxique peut ne pas être réparti uniformément dans toute la fabrication. Dans l'exemple cité, les premiers sacs fabriqués étaient lourdement contaminés, alors que les derniers étaient exempts de tout toxique ; à l'évidence, il y avait eu nettoyage progressif des circuits par l'aliment lapin.

On comprend mieux ainsi pourquoi tous les utilisateurs d'une même fabrication peuvent ne pas être touchés par l'intoxication, ce qui ne constitue évidemment pas la preuve de l'innocuité de l'aliment.

3.5. Précautions prises au niveau de la fabrication

Bien sûr les fabricants d'aliment, conscients des risques, ont immédiatement réagi en rendant impossible dans leurs circuits, la programmation d'aliment "lapin" immédiatement après celle d'aliments "à risques".

Malgré cela, les accidents sont encore trop fréquents pour les raisons suivantes :

- La sensibilité du lapin aux différents produits médicamenteux susceptibles d'être utilisés dans les usines n'est pas connue pour l'ensemble de la gamme et certains laboratoires pharmaceutiques ignorent ou refusent d'indiquer les niveaux de risque.
De même, des incompatibilités peuvent apparaître entre deux substances qui prises isolément ne sont pas dangereuses : l'exemple classique est la "Tiamutin", associée aux ionophores.
- Les interdits techniques introduits dans la programmation des fabrications sont théoriquement fiables à 100 p.cent ; en fait des dérogations peuvent exister.
- Le nettoyage des circuits de fabrication est devenu une pratique courante mais qu'elle est son efficacité réelle ? pour essayer de répondre à cette question nous avons réalisé l'expérience suivante : (schéma 4).

3.6. Contrôle de l'efficacité des nettoyages de circuits

Un aliment contenant de la Salinomycine", classiquement utilisée comme coccidiostat chez le poulet de chair à la dose de 60 g/tonne (et dépourvue de toxicité chez le lapin), est fabriqué normalement.

Les précautions suivantes sont alors prises : la mélangeuse est soigneusement vidée par ouverture du fond et 100 kilos de blé moulu sont introduits dans les circuits afin d'éliminer les reliquats de la fabrication précédente.

Des prélèvements sont alors réalisés en différents points (schéma 4) (sortie de mélangeuse, mélasseur, fin de circuit, etc...) et la Salinomycine utilisée comme traceur de contamination est dosée par les techniques qui seront décrites ultérieurement.

Tous les prélèvements contiennent une dose de Salinomycine évaluée à 10-20 g/tonne, y compris au niveau de la sortie de mélangeuse ; bien que cette mélangeuse ait été vidée il faut admettre qu'elle contenait encore nécessairement, l'équivalent de 15 à 20 kg d'aliment précédemment fabriqué, collé sur les parois.

Cette expérience a été recommencée en procédant cette fois à un second passage de blé moulu, simulant la fabrication d'un aliment "lapin" et en réalisant les prises d'échantillon en début et en fin de passage du blé.

Les contrôles ont montré que des doses de 10 à 20 g/tonne de Salinomycine pouvaient encore être retrouvées dans les premiers kilos au niveau du mélasseur et du préparateur de presse (tableau 1).

Ces dosages prouvent s'il en était besoin, que des substances actives adhèrent aux parois des différentes parties des circuits et qu'elles sont relarguées de façon aléatoire.

Nous passerons rapidement sur les risques connus, de mélanges d'aliments finis dans les cellules de stockage, ou dans les camions par suite d'une fermeture défectueuse des trappes des différents compartiments ; nous n'insisterons pas non plus sur le risque présenté par les vis des camions et qui peuvent contenir jusqu'à 70 kg d'aliment destiné à une autre espèce ; tout fabricant sérieux sait comment se prémunir contre ces accidents.

4) - Techniques de recherche des antibiotiques dans les aliments

3 techniques différentes sont utilisées couramment pour la recherche des substances inhibitrices après extraction dans différents solvants à partir de l'aliment suspect.

4.1. Technique de "dépistage" par Diffusion sur gélose

La technique la plus simple destinée à estimer l'activité antibiotique globale d'un aliment consiste à tester l'activité des différents extraits sur des cultures de deux bactéries

- Bacillus subtilis à pH 6
- Micrococcus luteus à pH 6,5 et 8.

Les extraits sont déposés dans des puits creusés dans la gélose ensemencée. Par diffusion les substances contenues dans les extraits vont provoquer l'inhibition des cultures.

La comparaison des diamètres d'inhibition obtenus avec les profils établis à partir d'aliment contenant des antibiotiques connus à dose déterminée permet d'orienter l'identification des substances inhibitrices.

4.2. Recherche des polyéthers ionophores : Chromatographie sur couche mince

L'extraction à partir des aliments suspects est identique et les extraits sont déposés sur une plaque de gel de silice. Sous l'effet d'un solvant de migration, les molécules présentes dans les mélanges à analyser migrent à des distances spécifiques qu'il est possible de révéler par ensemencement des plaques avec Bacillus subtilis. La mesure de la distance de migration permet d'identifier le polyéther ionophore contenu dans l'aliment. La limite de sensibilité de cette technique est de l'ordre de 2,5 g/tonne.

4.3. Identification des antibiotiques : Electrophorèse sous Haute Tension

Dans cette technique plus sophistiquée, la migration des molécules s'effectue sous l'effet d'un champ électrique* et selon les densités de charge propres à chacune d'elles, ce qui permet éventuellement de différencier différents antibiotiques en mélange dans l'aliment. La distance de migration, comme dans la technique précédente, est révélée par l'inhibition de croissance des bactéries ensemencées dans un second temps à pH 6 et pH 8.

Le seuil de détection est variable selon les antibiotiques, il peut descendre pour l'Ampicilline jusqu'à 0,5 gramme par tonne d'aliment.

* 1200 volts pendant 1M45

CONCLUSION

Au terme de cet exposé nous avons vu combien le problème du risque d'origine alimentaire était complexe ; il n'existe pas à l'heure actuelle de solution simple ou économique et la bonne foi du fabricant ne doit pas être mise en cause car si la fourniture d'un aliment toxique peut être dramatique pour un éleveur, elle peut l'être également pour un fournisseur en raison des conséquences commerciales résultant de la multiplication des cas.

Malgré les précautions décrites ci-dessus, il ne semble pas possible d'exclure totalement tout risque de contamination médicamenteuse et des quantités aussi faibles que 10 grammes par tonne d'aliment de certains produits peuvent ne pas être inoffensives pour les flores intestinales des lapins.

D'autres espèces animales, comme le cheval ont des sensibilités très proches de celle du lapin et le problème posé aux fabricants par des espèces aussi délicates est terriblement complexe, d'autant que le problème de contaminations entre fabrications, peut théoriquement se poser également au niveau du fournisseur de prémélanges médicamenteux.

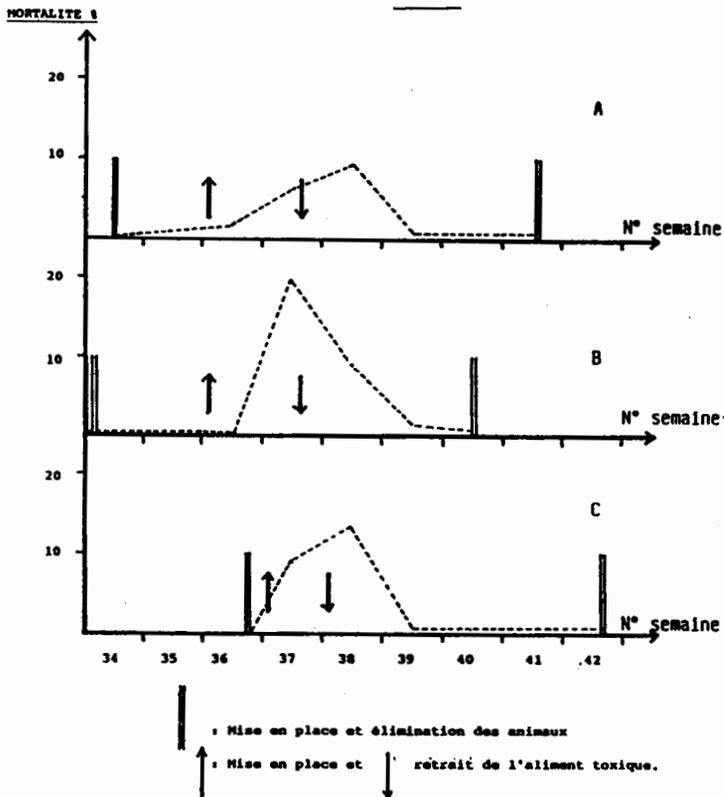
Faut-il envisager de n'utiliser dans les usines que des produits tolérés par toutes les espèces animales ? ou faut-il aller jusqu'à l'utilisation de lignes de fabrication spécifiques pour le lapin ? c'est probable, car la sécurité totale, tout au moins sur le plan technologique, est sans aucun doute à ce prix.

BIBLIOGRAPHIE

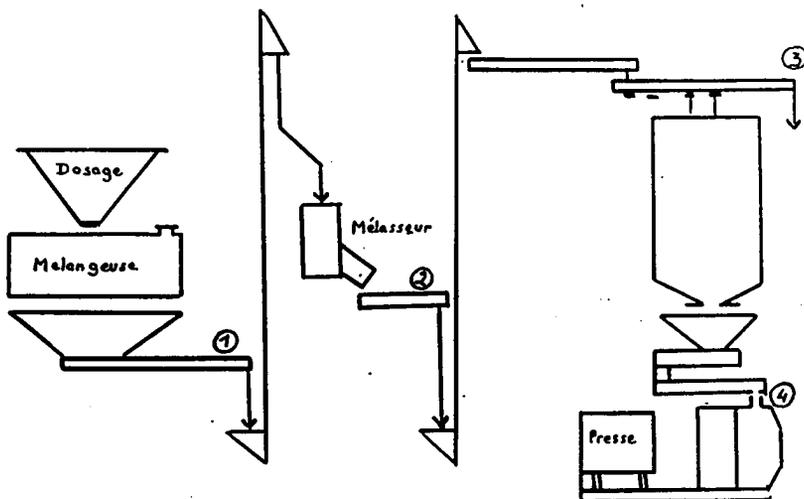
- 1) - CARMAN, R.J., BORRIELLO, SP, 1983
Laboratory diagnosis of Clostridium spiroforme mediated diarrhoea iota enterotoxaemia
Vet. Rec. 20, 184-185.
- 2) - MILHAUD, G., RENAULT, L., VAISSAIRE, J., MAIRE, C., 1976
Sensibilité du lapin à l'Ampicilline
Rec. Med. Vet. 152, 12, 843-847.
- 3) - MORISSE, J.P. 1986
Charte de production et d'utilisation des animaux reproducteurs dans l'espèce lapin
Fenalap Edit. 12, rue du Rocher 75008 PARIS
- 4) - MORISSE, J.P., MAURICE, R., BOILLETOT, E., 1987
Hyperprolificity as a factor affecting susceptibility of rabbits to enteritis
Journal of Apple Rabbit Research, 10, 3, 106-110.
- 5) - MORISSE J.P., BOILLETOT, E., MAURICE, R., 1982
Taille des particules de l'aliment utilisé chez le lapin
Rec. Med. Vet., 133, 10, 635-642.
- 6) - MORISSE, J.P., BOILLETOT, E., MAURICE, R., 1986
Toxicité du Narasin chez le lapin
Ann. Med. Vet. 130, 101-107.
- 7) - PROHASZKA, L, SZEMEREDI, G, 1980
Antibacterial effect of volatile fatty Acids in enteric E. coli infections of Rabbits
Zbl Vet. Med. B 27 631-639.

SCHEMA 3

Evolution des pourcentages hebdomadaires de mortalité
 sur 3 lots A, B, C, de 126 sujets chacun
 après distribution d'un aliment contaminé
 par 10 à 20 g/tonne de Narasin



**SCHEMA 4 : Contrôle de nettoyage d'un circuit de fabrication
à l'aide d'un traceur (Salinomycine)**



1-2-3-4 Sites de prélèvement

TABLEAU 1 : Dosage de la Salinomycine (en ppm) dans le mélange de nettoyage utilisé après fabrication d'un aliment supplémenté (Salinomycine 60 ppm).

	1	2	3	4
1er passage	20 10-20*	25	20-25	
2ème passage	2,5	20		50 15* 10-15**

1 = Mélangeur
2 = Mélasseur

3 = Fin de chaîne
4 = Préparateur de presse

Tous les contrôles ont été réalisés sur les premiers kilos à l'exception de :

- * vers le 50ème kilo
- ** sur les derniers kilos.

