

République Algérienne Démocratique
et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences
En Sciences Vétérinaires

Thème :

Effet de la vaccination contre la coccidiose chez le lapin local

Présentée par : BACHENE Mohamed Sadek

Soutenue le : 26/09/2019

Les membres du jury :

AISSI M	Professeur	ENSV Alger Présidente
TEMIM S	Professeur	ENSV Alger Directrice de thèse
AINBAZIZ H	Professeur	ENSV Alger Co-Directrice de thèse
HAKEM A	Professeur	U.DJELFA Examineur
LAATAMNA .A.K	MCA	U.DJELFA Examineur

Année universitaire : 2018./2019

REMERCIEMENTS

Remerciements :

La réalisation d'une thèse n'est pas seulement un travail de longue haleine mais aussi une formidable expérience scientifique. Bien que délicate, l'écriture des remerciements est un élément indispensable pour témoigner ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury :

Pr TEMIM S, de m'avoir fait l'honneur de m'encadrer et de me diriger. Je la remercie également pour sa disponibilité et son écoute. Hommages respectueux.

Pr AINBAZIZ H, ma co-promotrice. Sincères remerciements

Pr AISSI M, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury et d'examiner mon travail. Sincères remerciements.

Pr HAKEM A, d'avoir traversé une longue distance pour nous honorer par sa présence et son évaluation de ce travail. Sincères remerciements.

Dr LAATAMNA A.K d'avoir traversé une longue distance pour nous honorer par sa présence et son évaluation de ce travail. Sincères remerciements.

Dr BAROUDI D, d'avoir accepté de nous honorer par sa présence et d'examiner ce travail. Sincères remerciements.

Enfin, je voudrais remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces :

*Je dédie ce modeste mémoire
À mes parents et mes beaux-
parents, mon épouse, mes sœurs et
mes belles sœurs sans oublier mon
frère défunt*

Sommaire

Résumés	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Chapitre 1 : coccidiose cunicole	03
I. coccidiose cunicole	03
I.1. Etiologie de la coccidiose cunicole	03
I.2. Historique de la coccidiose cunicole	03
I.3. Taxonomie du parasite <i>Eimeria</i>	05
I.4. Etude du parasite <i>Eimeria</i>	06
I.5. Cycle biologique du parasite <i>Eimeria</i>	09
I.6. Identification des <i>Eimeria</i>	11
I.7. Pouvoir pathogène des <i>Eimeria</i>	13
I.8. Physiopathologie de la coccidiose cunicole	14
I.9. <i>Eimeria magna</i>	15
I.10. Traitement de la coccidiose cunicole	18
Chapitre 2 : Immunologie de la coccidiose cunicole	19
II. Immunologie de la coccidiose cunicole	19
II.1. L'organisation du système lymphoïde associé aux muqueuses	19
II.1.1. Sites inducteurs de la réponse immunitaire muco-sécrétoire	20
II.1.2. Sites effecteurs de la réponse immunitaire muco-sécrétoire	23
II.2. Réponse immunitaire du lapin contre <i>Eimeria</i>	24
Partie expérimentale	
Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.	27
Résumé	27
1. Introduction	28
2. Matériel et méthodes	29
2.1. Déclarations éthiques	29
2.2. Zone d'étude et sélection de lapins	29
2.3. Échantillonnage et analyse parasitologique	31
2.4. Analyse statistique	31
3. Résultats	31
3.1. Prévalence de la coccidiose chez les lapins de la wilaya de Médéa	31
3.2. Résultats de l'identification des espèces d' <i>Eimeria</i>	32
3.3. Prévalence de la coccidiose cunicole selon la chimio-prévention	34
4. Discussion	35
5. Conclusion	36
Références bibliographiques	37
Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d' <i>Eimeria magna</i>	40
Résumé	40
Introduction	41
Matériel et méthodes	42
Approbation éthique	42
Souche sauvage d' <i>Eimeria magna</i>	42
Animaux et conduite expérimentale	42

Sommaire

Analyse statistique	43
Résultats	43
Taux de multiplication et courbe d'excrétion	43
Pathogénicité	45
Anatomopathology	46
Discussion	48
Conclusion	49
Références	49
Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d' <i>Eimeria magna</i> chez des lapins algériens de race locale <i>Oryctolagus cuniculus</i>	51
Résumé	51
1. Introduction	52
2. Matériel et méthodes	53
3. Résultats et discussion	55
4. Conclusion	59
Références	60
Conclusion et perspectives	61
Références	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Période prépatente, dimensions (longueur x largeur) et morphologie des oocystes des différentes <i>Eimeria</i> du lapin.....	13
Tableau 1 Prévalence et intensité de la coccidiose cunicole au niveau des différentes régions étudiées de la wilaya de Médéa.....	31
Tableau 2: Prévalence et intensité de la coccidiose chez le lapin de race locale selon l'âge et le sexe au niveau de la wilaya de Médéa.....	31
Tableau 3 : Prévalence des espèces d' <i>Eimeria</i> isolées des prélèvements de crottes au niveau des élevages étudiés de la wilaya de Médéa.....	32
Tableau 4 : Pourcentage des prélèvements fécaux infestés par chacune des espèces d' <i>Eimeria</i> chez les lapins de race locale de la wilaya de Médéa.....	35
Tableau 5 : Prévalence de la coccidiose au niveau des élevages de la wilaya de Médéa selon les anticoccidiens utilisés	35
Tableau 1: Evolution des gains de poids chez les quatre groupes étudiés \pm erreur standard.....	45
Tableau 2: Résultats montrant la pathogénicité d' <i>Eimeria magna</i>	48
Tableau 1: Sélection de la souche précoce d' <i>Eimeria magna</i>	53
Tableau 2: Excrétion totale d'oocystes après la vaccination et l'inoculation d'épreuve.....	56

Liste des figures

Figure 1 : Oocyste non sporulé	06
Figure 2 : Oocyste sporulé	07
Figure 3 : Structure d'un sporozoïte	08
Figure 4 : Aspect des mérozoïtes en microscopie électronique	09
Figure 5 : Spécificité tissulaire des <i>Eimeria spp</i> infestant le lapin	10
Figure 6 : Cycle biologique d' <i>Eimeria spp</i> chez le lapin	11
Figure 7 : Coupe histologique d'appendice vermiforme de lapin. D : Dome ; C : Corona ; T : aire thymo-dépendante interfolliculaire ; G : centre germinatif.	21
Figure 1: Une carte de la wilaya de Médéa montrant les régions sélectionnées et le nombre d'élevages, des lapins de race locale et des prélèvements fécaux	29
Figure-1: courbe d'excrétion des oocystes d' <i>Eimeria magna</i> chez les quatre groupes.	43
Figure-2: Poids moyens par unité de temps chez les quatre groupes.	44
Figure-3: coupes histologiques au niveau jéjunale et iléale.	46
Figure-4: développement endogène et exogène d' <i>Eimeria magna</i>	47
Figure 1: Poids moyens par unité de temps chez les quatre groupes étudiés.	57

Liste des abréviations

ANOVA : Analysis of variance

CD : Cluster of differentiation

CG : Control group

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

D10 : Groupe inoculé avec une dose de 10^4 oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E magna*

D25 : Groupe inoculé avec une dose de $2,5 \times 10^4$ oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E magna*

D50 : Groupe inoculé avec une dose de 5×10^4 oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E. Magna*

DCG : Double-challenged group

FAE : Follicules associated epithelioma

g : Gramme

GALT : Gut associated lymphoid tissue

HE : Hématoxyline-éosine

IC : Intervalle de confiance

KCl : Chlorure de Potassium

LIE : Lymphocytes intra-épithéliaux

MgSO₄ : Sulfate de Magnésium

NaCl : Chlorure de Sodium

OPG : Oocysts per gram

ppm : Part per million

PS *E mag* 2016: Souche précoce d'*Eimeria magna* obtenue en 2016

S : Strain

SCG: Simple- challenged group

TCR: T cell receptor

UV : Rayonnement ultra-violet

VCG : Vaccinated-challenged group

WS *E mag* 2014 : Souche sauvage d'*Eimeria magna* obtenue en 2014

Résumé :

La coccidiose est une parasitose à l'origine d'impacts économiques importants sur la volaille, le bétail, même les lapins. La présente étude a pour objectif d'étudier la prévalence des infestations parasitaires par les *Eimeria* chez les lapins domestiques au niveau de la wilaya de Médéa au nord de l'Algérie, d'évaluer le pouvoir pathogène de l'espèce la plus dominante et enfin d'en préparer un vaccin qui pourra contribuer au contrôle de cette pathologie cunicole redoutable. Concernant l'étude épidémiologique, 414 échantillons de crottes ont été recueillis à partir de 50 fermes de six régions de la wilaya. La prévalence d'infestations coccidiennes était de 47.6% (197/414). La prévalence la plus importante de coccidiose a concerné les lapereaux sevrés (77 %, $p < 0.0001$), suivis par les lapins en croissance (46.8 %) et les lapins adultes qui représentaient la plus faible prévalence (36 %). Chez les lapins reproducteurs, les femelles étaient plus infectées avec une prévalence de 40% ($p < 0,0001$). Toutes les espèces d'*Eimeria* touchant le lapin (11 espèces) étaient présentes et identifiées à partir d'échantillons positifs. *E. magna* et *E. media* étaient les espèces les plus répandues (47,6% et 47,3%), ($p < 0,0001$). Les sulfamides ont montré une meilleure protection contre la coccidiose chez le lapin que les associations de colistine et de triméthoprime ($p < 0,0001$, prévalence de 23,3% contre 65,3% respectivement). Ces résultats indiquent que la prévalence de la coccidiose est élevée chez la population de lapins locaux de la wilaya de Médéa, au nord de l'Algérie. L'étude de la pathogénicité d'*Eimeria magna* a été menée sur quarante-quatre lapereaux. Quatre groupes, chacun comprenant dix lapereaux, ont été constitués à l'âge de 35 jours: un groupe inoculé avec une dose de 10^4 oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E magna* (D10), un groupe inoculé avec une dose de $2,5 \times 10^4$ oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E magna* (D25), un groupe inoculé avec une dose de 5×10^4 oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E. Magna* (D50) et un groupe témoin. Les quatre lapereaux restants ont servi pour la nécropsie (inoculés à 35 jours: D10, D25, D50 et témoin). Les résultats montrent que l'inoculation avec la souche sauvage d'*Eimeria magna* n'a pas entraîné la mort des lapereaux, mais elle a provoqué une diarrhée liée à la dose, une perte de poids ($p < 0,05$) et des lésions histopathologiques au niveau du jéjunum et de l'iléum chez tous les groupes inoculés. La viabilité de la souche sauvage d'*E. magna* a été vérifiée par la période prépatente de sept jours et un pic d'excrétion au neuvième jour suivant l'inoculation. Le pic d'excrétion et la production totale d'oocystes augmentaient avec les doses d'inocula. La souche sauvage d'*Eimeria magna* est à l'origine de la coccidiose chez le lapin et est responsable des pertes économiques en élevage dues au retard de croissance qui résulte de cette pathologie. Pour

Résumés

évaluer la sécurité et l'efficacité d'un vaccin préparé avec une souche précoce algérienne d'*Eimeria magna* contre la coccidiose chez le lapin, 28 lapereaux issus de six femelles indemnes de coccidies ont été utilisés pour évaluer l'excrétion oocystale et les poids corporels, ils ont été répartis en quatre groupes (groupe vacciné - inoculé, groupe non vacciné à inoculation double, groupe non vacciné à inoculation simple et enfin un groupe témoin). Trois autres lapereaux indemnes de coccidies ont servi à la nécropsie afin de comparer l'effet des souches sauvages et précoces d'*Eimeria magna* au niveau histologique. Suite à l'inoculation d'épreuve, une diminution statistiquement significative d'environ 97% de l'excrétion d'oocystes a été observée chez lapereaux vaccinés en signe d'une bonne réponse immunitaire acquise par la vaccination associée à une bonne croissance. En outre, une augmentation statistiquement significative de la production d'oocystes a été remarquée chez les groupes non vacciné à inoculation double et simple : ($1,2 \times 10^8$ et $1,5 \times 10^8$ vs $4,6 \times 10^6$ oocystes / lapin respectivement). En prenant le groupe témoin montrant une croissance régulière comme référence, les lapereaux vaccinés ont présenté une bonne croissance au cours de l'expérience ($p < 0,05$). Globalement, les groupes non vaccinés et inoculés ont présenté une croissance normale par rapport au groupe témoin, à l'exception d'une diminution temporaire du poids. Aucun cas de diarrhée n'a été enregistré dans le groupe vacciné et le groupe témoin alors que plus de 50% des lapereaux relatifs aux groupes non vaccinés à inoculation simple et double ont présenté une diarrhée. En conséquence, la souche précoce algérienne d'*Eimeria magna* constitue un bon candidat pour le vaccin anticoccidien à l'avenir.

Summary :

Coccidiosis is a parasitic disease that causes significant economic impacts on poultry, livestock and rabbits. The present study aims to study the prevalence of coccidiosis in domestic rabbits in Medea province, northern Algeria, to evaluate the pathogenicity of the most dominant species and finally to prepare a vaccine that can help control this rabbit pathology. Regarding the epidemiological study, 414 fecal samples were collected from 50 farms in six regions of the province. The overall prevalence of coccidian infections was 47.6% (197/414). The highest prevalence of coccidiosis was in weaned rabbits (77%, $p < 0.0001$), followed by growing rabbits (46.8%) and adult rabbits, which had the lowest prevalence (36%). In breeding rabbits, females were more infected with a prevalence of 40% ($p < 0.0001$). All species of *Eimeria* affecting the rabbit (11 species) were present and identified from positive samples. *E. magna* and *E. media* were the most common species (47.6% and 47.3%), ($p < 0.0001$). Sulfonamides showed a better protection against coccidiosis in rabbits than the combinations of colistin and trimethoprim ($p < 0.0001$, prevalence of 23.3% vs. 65.3% respectively). These results indicate that the prevalence of coccidiosis is high in the local rabbit population of the province of Medea, north of Algeria. The study of the pathogenicity of *Eimeria magna* was conducted on forty-four young rabbits. Four groups, each comprising ten rabbits, were formed at the age of 35 days: a group inoculated with a dose of 10^4 sporulated oocysts of the wild strain of *E magna* (D10), a group inoculated with a dose of $2, 5 \times 10^4$ sporulated oocysts of the wild strain of *E magna* (D25), a group inoculated with a dose of 5×10^4 sporulated oocysts of the wild strain of *E Magna* (D50) and a control group. The remaining four rabbits were used for the necropsy (inoculated at 35 days: D10, D25, D50 and control). The results show that the inoculation with the wild strain of *Eimeria magna* did not result in the death of rabbits, but it caused dose-related diarrhea, weight loss ($p < 0.05$), and histopathological lesions in the jejunum and ileum sections of all inoculated groups. The viability of the wild strain of *E. magna* was verified by a prepatent period of seven days and an excretion peak at the ninth day post inoculation. Peak of excretion and total oocyst production increased with inocula doses. Thus, the wild strain of *Eimeria magna* is the cause of coccidiosis in rabbits and is responsible for economic losses in rabbit breeding due to weight loss and irregular growth. To evaluate the safety and efficacy of a vaccine prepared with an Algerian precocious strain of *Eimeria magna* against coccidiosis, 28 rabbits from six coccidian-free females were used to evaluate oocyst excretion and body weights. They were divided into four groups (vaccinated – Double challenged non vaccinated group, Simple

Résumés

challenged non vaccinated group and control group). Three other coccidia-free rabbits were used for the necropsy to compare the effect of the wild and the precocious strains of *Eimeria magna* at the histological level. Following challenge inoculation, a statistically significant decrease of approximately 97% in oocyst excretion was observed in vaccinated rabbits as a sign of a good immune response to vaccination associated to a good growth. In addition, a statistically significant increase in oocyst production was observed in double and simple inoculated non vaccinated groups: (1.2×10^8 and 1.5×10^8 vs 4.6×10^6 oocysts / rabbit, respectively). Taking the control group showing a steady growth as a reference, the vaccinated rabbits showed a good growth during the experiment ($p < 0.05$). Globally, the inoculated groups showed a normal growth compared to the control group, with the exception of a temporary decrease in weights. No cases of diarrhea were recorded in the vaccinated and control groups, while more than 50% of the inoculated rabbits showed diarrhea. As a result, the Algerian precocious strain of *Eimeria magna* seems to be a good candidate for an anticoccidial vaccine in the future.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction :

La coccidiose est la principale parasitose provoquant des pertes économiques lourdes en terme de mortalité et de retard de croissance en élevage cunicole. (Bhat et al., 1996 ; Pakandl, 2009 ; Licois, 2010 ; Guangwen et al., 2016). Deux formes cliniques de la coccidiose sont décrites chez le lapin : la coccidiose hépatique étant plus rare dans les élevages rationnels et la coccidiose intestinale étant plus fréquente. (Bhat et al., 1996 ; Guangwen et al., 2016).

Des études de part le monde, ont été menées par plusieurs auteurs pour évaluer la prévalence et l'impact clinique, histo-pathologique et zootechnique de cette parasitose sur les populations d'*Oryctolagus cuniculus* (Peeters et al., 1994 ; Mathal, 2008 ; Niepceron et al., 2009_a ; Vadlejch et al., 2010 ; Abdel-Azeem et al., 2013 ; Hana et al., 2013 ; Papeschi et al., 2013 ; Al-; Balicka-Ramisz et al., 2014 ; Okumu et al., 2014 ; Guangwen et al., 2016). D'autres travaux ont porté sur l'identification des coccidies à l'origine de coccidiose cunicole, l'étude de leur cycle biologique *in vitro* ainsi que leur immunogénicité. (Clarence te Datus., 1972 ; Streun et al., 1979 ; Ceré et al., 1995 ; Coudert et al., 1995 ; Eckert et al., 1995 ; Ceré et al., 1996 ; Pakandl et al., 2003 ; Renaux et al., 2003 ; Shazly et al., 2005 ; Kvičerová et al., 2008 ; Pakandl et al., 2008 ; Niepceron et al., 2009_b ; Oncel et al., 2011 ; Tuanyuan et al., 2016 ; Geru et al., 2017). Des essais de vaccination suite à l'apparition de la chimiorésistance comme conséquence de l'utilisation excessive d'anticoccidiens ont également été rapportés (Licois et al., 1990 ; Licois et al., 1995 ; Drouet-Viard et al., 1996 ; Drouet-Viard et al., 1997_{a,b,c} ; Akpo et al., 2011_{a,b}).

En Algérie, très peu d'études ont concerné la coccidiose chez le lapin de population locale *Oryctolagus cuniculus*, citons SAOUDI (2008), KHELLADI et DJOUAB .(2009) , FARSI et DEBBAZI. (2009) ainsi que HENNEB et AISSI. (2013) et Maziz-Bettahar et al.(2018) qui ont évalué la prévalence des coccidies avec comptage des oocystes fécaux ; ABDELLI et MOULOUD (2003) et HENNEB (2011) qui se sont intéressés sur l'aspect clinique, nécropsique et histo-pathologique de la coccidiose, BACHENE (2012) a étudié la pathogénicité d'*Eimeria magna* et son influence sur les paramètres zootechniques et enfin Bachene et al. (2018) qui a préparé et essayé un vaccin vivant atténué à base d'une souche précoce d'*Eimeria magna* chez des lapins de la race locale.

Introduction :

Dans ce document, sera présentée une première partie bibliographique comportant l'essentiel sur l'étiologie et la physiopathologie de la coccidiose chez le lapin et les mécanismes immunitaires développés pour faire face à cette parasitose.

La partie expérimentale comprendra trois études complémentaires :

- La première étude concernera l'épidémiologie de la coccidiose cunicole au niveau de la wilaya de Médéa.
- La deuxième étude représentera la pathogénicité de l'espèce sauvage d'*Eimeria magna* isolée et purifiée au laboratoire, cette espèce a été choisie parce qu'elle est l'espèce de coccidie la plus dominante selon les résultats de la première étude.
- La troisième étude représente un essai de vaccination par une souche précoce d'*Eimeria magna* préparée à partir de la souche sauvage correspondante par la sélection des premiers oocystes excrétés après plusieurs passages.

CHAPITRE I
COCCIDIOSE CUNICOLE

Chapitre 1 : coccidiose cunicole

La coccidiose est une parasitose due à des protozoaires appelés coccidies touchant de nombreux vertébrés dont les mammifères et les volailles. Les coccidies sont spécifiquement adaptées à leurs hôtes (lapins, bovins, poulet, dinde, oie, canard, pigeon) et le cycle biologique est monoxène. (Abdelmadjit, 1978 ; Anonyme 1, 1982 ; Cox, 2003 ; Lefèvre et al., 2003 ; Licois, 2010)

Des espèces du genre *Eimeria* causent la coccidiose chez le lapin, principale pathologie parasitaire cunicole responsable de lourdes pertes économiques en élevage en terme de mortalité et de retard de croissance (Bhat et al., 1996 ; Anonyme 2, 2002 ; Boucher et Nouaille., 2002 ; Cox, 2003 ; Licois, 2010).

I.1. Etiologie de la coccidiose cunicole :

Onze espèces appartenant au genre *Eimeria* causant la coccidiose cunicole ont été identifiées dont dix sont responsables de la coccidiose intestinale et une de la coccidiose hépatique (Forse, 1999 ; Anonyme 2, 2002 ; Boucher et Nouaille., 2002 ; Coudert et al., 2003 ; Pakandl, 2009 ; Licois, 2010).

Les espèces d'*Eimeria* causant la coccidiose intestinale chez le lapin sont : (Boucher et Nouaille., 2002 ; Pakandl, 2009) :

- *Eimeria perforans* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria magna* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria media* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria exigua* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria irresidua* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria piriformis* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria flavescens* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria coecicola* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria intestinalis* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria vej dovsky* (Pakandl, 2009).
- *Eimeria kongi* (Cui et al., 2009).

Eimeria stiedae étant responsable de la coccidiose hépatique chez le lapin (Boucher et Nouaille., 2002 ; Pakandl, 2009).

I.2. Historique de la coccidiose cunicole :

Leeuwenhoek a été le premier à observer des oocystes d'*Eimeria* dans un foie de lapin en 1674 selon LEVINE (1973) ; In PAKANDL(2009).

LEUKART selon LEVINE (1973) ; In PAKANDL(2009), a différencié entre la coccidiose hépatique et intestinale et nomma les agents responsables *Coccidium oviforme* et *Coccidium perforans* respectivement.

- En 1865, *Eimeria stiedae* a été d'abord décrite par Lindemann, puis par KISSKALT et HARTMANN en 1907 (Pakandl, 2009).
- En 1879, LEUKART a décrit *Eimeria perforans* pour la première fois. Ce parasite a été ultérieurement rapporté dans les travaux de SLUITER ET SWELLENGREBEL en 1912 (Pakandl, 2009).
- En 1925, *Eimeria magna* a été décrite par PERARD. (Guaguere, 1998 ; Pakandl, 2009).
- En 1929, KESSEL a décrit *Eimeria media*. (Pakandl, 2009)
- En 1931, l'identification d'*Eimeria irresidua* a été réalisée par KESSEL ET JANKIEWICZ (Pakandl, 2009).
- En 1934, *Eimeria piriformis* et *Eimeria exigua* ont été identifiées par KOTLAN et POSPESCH ainsi que YAKIMOFF respectivement (Pakandl, 2009).
- En 1941, MAROTEL et GUILHON ont décrit *Eimeria flavescens* (Pakandl, 2009).
- En 1942, CARVALHO a décrit *Eimeria neoleporis* chez le lapin américain *Sylvilagus floridanus* (*Oryctolagus cuniculus* actuellement) et a rapporté la possibilité de sa transmission au lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* (Guaguere, 1998 ; Pakandl, 2009).
- En 1943, RUTHERFORD a décrit les cycles biologiques d'*Eimeria irresidua*, d'*Eimeria magna*, d'*Eimeria media* ainsi que celui d'*Eimeria perforans* (Pakandl, 2009).
- En 1947, *Eimeria coecicola* a été identifiée par CHEISSIN (Pakandl, 2009).
- En 1948, l'identification d'*Eimeria intestinalis* a été rapportée par CHEISSIN qui a étudié aussi son cycle biologique (Pakandl, 2009).
- En 1974, *Eimeria neoleporis* a été rebaptisée *Eimeria coecicola* par PELLERDY (Pakandl, 2009).
- En 1988, PAKANDL a identifié *Eimeria vej dovsky* (Pakandl, 2009).

- En 1994, DROUET-VIARD et *al.* ont étudié les sporozoïtes d'*Eimeria intestinalis* (Pakandl, 2009).
- En 1995, ECKERT et COUDERT ont établi une clé d'identification morphologique des onze espèces de coccidies cunicoles. De plus COUDERT a classifié les différentes espèces d'*Eimeria* selon leur pathogénicité (Coudert et al., 2003 ; Eckert et al., 1995 ; Pakandl, 2009) .Durant la même période, LICOIS et *al.* ont appliqué la vaccination par des souches précoces d'*Eimeria magna* (Licois et al., 1995 ; Pakandl, 2009).
- En 1996, PAKANDL et *al.* ont étudié les stades de développement endogène chez *Eimeria coecicola* (Pakandl, 2009).
- En 1997, DROUET-VIARD et *al.* ont performé la vaccination par pulvérisation avec des souches précoces d'*Eimeria magna* sur les boîtes à nids. (Drouet-Viard et al., 1997 ; Pakandl, 2009).
- En 1999, PAKANDL et COUDERT ont déterminé les périodes prépatentes des différentes espèces de coccidies cunicoles (Pakandl, 2009).
- En 2005, PAKANDL a pu faire la discrimination entre les mérozoïtes de type A et B d'*Eimeria flavescens* (Pakandl, 2009).
- En 2006, PAKANDL et *al.* ont utilisé une technique immunohistochimique pour suivre la migration des sporozoïtes d'*Eimeria coecicola* et d'*Eimeria intestinalis* (Pakandl, 2009).
- En 2008, KVICEROVA et *al.* ont établi une identification phylogénétique des onze coccidies cunicoles en se basant sur l'identification moléculaire (Pakandl, 2009).
- En 2016, TUANYUAN et *al.* ont obtenu une souche transgénique d'*Eimeria intestinalis* pouvant servir d'un vecteur pour vaccin oral contre la coccidiose cunicole dans l'avenir (Tuanyuan et al., 2016).
- En 2017, GERU et *al.* ont obtenu une souche transgénique d'*Eimeria magna* qui pourrait faire l'objet d'un vaccin contre la coccidiose cunicole dans l'avenir (Geru et al., 2017).

I.3. Taxonomie du parasite *Eimeria* :

La classification contemporaine des *Eimeria* agents de la coccidiose est donnée ainsi (Diouf, 1993 ; Bhat et al., 1996 ; Cox, 2003 ; Licois et al., 2004) :

- Règne : *Protista*
- Embranchement : *Apicomplexa*
- Classe : *Sporozoa*

- Ordre : *Eimeriida*
- Famille : *Eimeriidae*
- Genre : *Eimeria*

I.4. Morphologie du parasite *Eimeria* :

L'apparente simplicité des Protozoaires est trompeuse car la cellule unique de ces derniers est plus complexe que la cellule animale. Toutes les fonctions nécessaires à la vie sont remplies dans la mesure où les organites remplissent le rôle des tissus et des organes des animaux les plus complexes (Scholtyseck, 1973). Les différents stades de développement des *Eimeria* peuvent être divisés en trois groupes morphologiques :

- La forme extracellulaire statique : l'oocyste
- Les formes extracellulaires mobiles : les sporozoïtes, les mérozoïtes et les microgamètes
- Les formes intracellulaires, dans leur vacuole parasitophore : les trophozoïtes, les schizontes, les mérontes, le microgamonte et le macrogamonte (Scholtyseck, 1973; Cox, 2003 ; Pakandl et al., 2003).

L'oocyste non sporulé (Cf Figure 1), dans le milieu extérieur, évolue en quelques jours vers la forme sporulée infestante. Il est entouré par une enveloppe interne de 10nm d'épaisseur, de nature lipoprotéique, résistante et imperméable aux substances hydrosolubles et d'une enveloppe externe, lisse, de 90nm d'épaisseur, de nature glycoprotéique, assez fragile, qui semble jouer un rôle dans le processus infectieux (Mouafo et al., 2000 ; Cox, 2003)

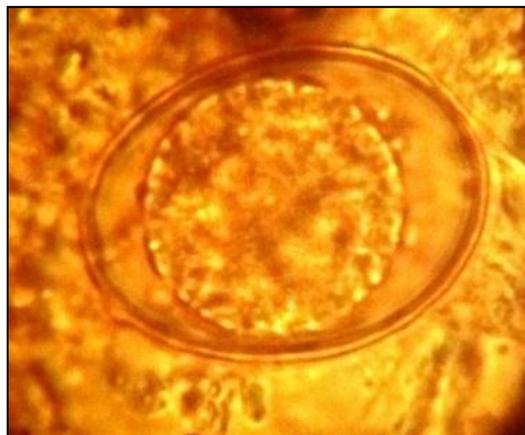


Figure 1 : Oocyste non sporulé (Bachene, 2012)

Chapitre 1 : coccidiose cunicole

L'oocyste sporulé d'*Eimeria* (Cf Figure 2) contient quatre sporocystes contenant chacun deux sporozoïtes. Le sporocyste peut présenter un léger renflement de sa partie apicale : c'est le corps de Stieda. Un globule réfringent est parfois présent dans la partie apicale de l'oocyste. Des corps résiduels peuvent être présents dans l'oocyste et dans les sporocystes. Ils contiennent des granules d'amylopectine et une vacuole lipidique (Augustine, 2001 ; Cox, 2003)

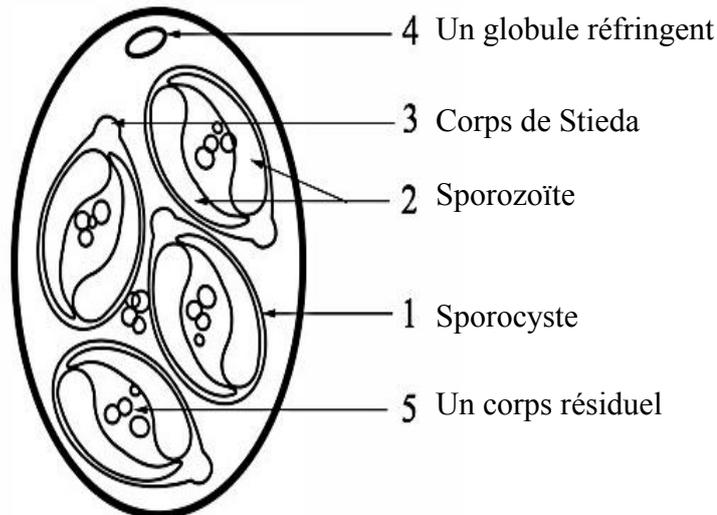


Figure 2 : Oocyste sporulé (Anonyme 3, 2005)

Le sporozoïte d'*Eimeria* (Cf Figure 3), élément invasif, est une cellule en forme de croissant, aux extrémités inégales, comportant un noyau, des mitochondries, un appareil de Golgi, des ribosomes, des vésicules d'amylopectine. Le noyau est excentré, avec une formation granuleuse basale (le corps réfringent) et des granulations dispersées dans la partie apicale. Le nucléole y est bien visible uniquement après l'infestation (Cox, 2003)

Le complexe apical est formé du conoïde jouant un rôle mécanique dans la pénétration du parasite dans la cellule hôte, des micronèmes et des rhoptries à activité sécrétoire intervenant dans la motilité du parasite, la pénétration et la vacuolisation (Augustine, 2001 ; Cox, 2003 ; Niepceron et al., 2009_a)

Les corps réfringents contiennent du matériel lipidique jouant probablement un rôle dans l'incorporation de la vacuole parasitophore dans la cellule infestée (Augustine, 2001)

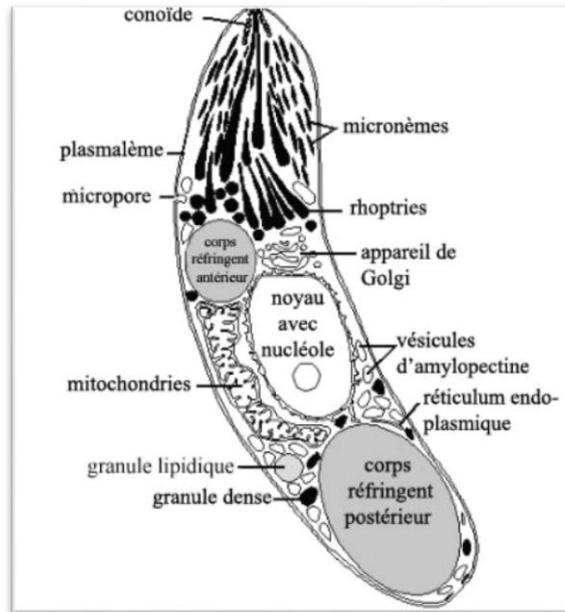


Figure 3 : Structure d'un sporozoïte (Anonyme 3, 2005)

Une fois dans la cellule intestinale, au sein de sa vacuole parasitophore, le sporozoïte se transforme en trophozoïte, fusiforme et comportant des organelles typiques du sporozoïte extracellulaire (Cox, 2003). Il possède trois types d'organites sécrétoires : les micronèmes et les rhoptries, localisés au niveau du pôle apical et les granules denses situés dans l'ensemble du cytoplasme. Ces organites sont mobilisés lors de l'invasion de la cellule hôte par le parasite. Les produits des micronèmes sont plus particulièrement impliqués dans l'adhésion du parasite à la cellule hôte et son invasion (Cox, 2003). Les produits des rhoptries participent à l'élaboration de la vacuole parasitophore, compartiment subcellulaire dans lequel le parasite se développe et se multiplie. Enfin, les protéines des granules denses sont impliquées dans l'élaboration d'un réseau intravacuolaire (Cox, 2003).

Au cours de la mérogonie le trophozoïte se transforme en schizonte primaire, arrondi avec un noyau, un corps réfringent, des mitochondries et un réticulum endoplasmique (Pakandl et al., 2008).

Les mérozoïtes ressemblent aux sporozoïtes mais ne contiennent pas de corps réfringents (Pakandl et al., 2008). Des inclusions linéaires sont présentes près du noyau, on retrouve des ribosomes et des vacuoles rondes. Les nucléoles sont bien visibles, on retrouve des hétérochromatines périphériques et diffuses (Tomley et al., 1996). Les mérozoïtes restent attachés à un corps résiduel par leur extrémité postérieure et une fois matures ils se séparent du corps résiduel (Cf Figure 4). La membrane cellulaire de l'hôte entourant le méronite se lyse

et les mérozoïtes deviennent extracellulaires, capables d'infecter d'autres cellules hôtes (Cox, 2003 ; Valigurova et al., 2008)

Mérontes

m : mérozoïtes

rb : corps résiduel (« residual body »)

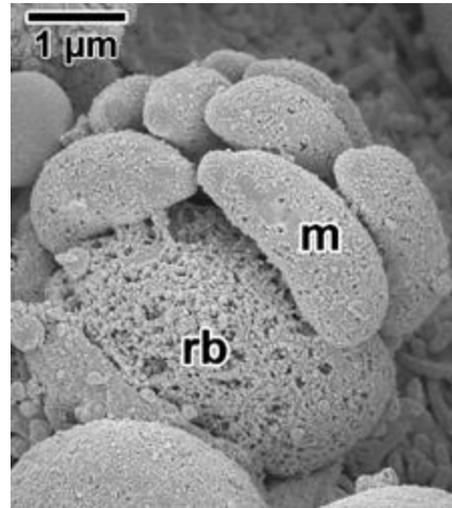


Figure 4 : Aspect des mérozoïtes en microscopie électronique (Valigurova et al., 2008)

I.5. Cycle biologique du parasite *Eimeria* :

Le cycle biologique d'*Eimeria* comprend différentes phases allant de l'excystation et la libération des sporozoïtes jusqu'à la production d'un nombre considérable d'oocystes et leur sporulation en passant par l'attachement et la translocation dans la cellule hôte suivie de la multiplication des parasites par schizogonie et gamogonie (Bhat et al., 1996 ; Pakandl, 2009 ; Licois, 2010).

Une fois le parasite ingéré avec la nourriture, débute l'excystation caractérisée par la sortie active des sporozoïtes à partir des sporocystes sous l'action mécanique et enzymatique de l'estomac et du duodénum (Kowalik et Zahner., 1999 ; Pakandl, 2009).

La spécificité de site tissulaire et cellulaire, dont les sporozoïtes font preuve lors de l'invasion *in vivo* est fonction de l'espèce d'*Eimeria* infestante (Cf Figure 5) mettant en jeu des interactions entre la cellule hôte et le parasite (Jeurissen et al., 1996 ; Augustine, 2001).

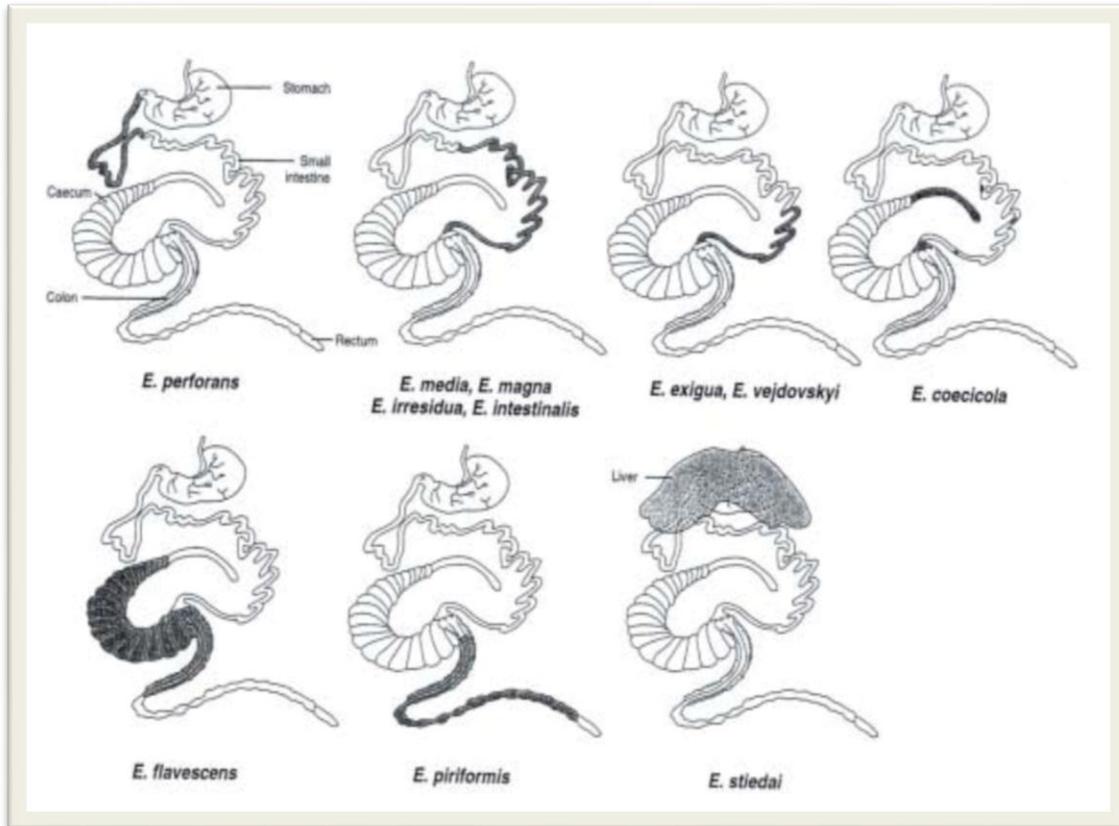


Figure 5 : Spécificité tissulaire des *Eimeria spp* infestant le lapin (Coudert et al., 2003).

Suite à la reconnaissance des sites d'adhésion sur les entérocytes (Hépatocytes pour *Eimeria stiedae*), la vacuole parasitophore se forme par invagination de la membrane cellulaire hôte permettant ainsi sa pénétration dans le cytoplasme. Afin d'empêcher la fusion de la vacuole parasitophore avec les liposomes ou les endolysosomes un changement dans l'organisation morphologique ainsi que la composition chimique est impératif (Beyer et al., 2002 ; Pakandl et al., 2003).

Le mode principal de reproduction chez les Protozoaires est la reproduction asexuée, mais la reproduction sexuée est également commune. La reproduction asexuée est énergétiquement plus économique. Chez les Protozoaires du genre *Eimeria*, les deux types de reproduction se succèdent au cours de la phase endogène. On trouve d'abord la reproduction asexuée par fission multiple ou schizogonie appelée aussi la mérogonie puis la reproduction sexuée ou gamétogonie (McDonald et Rose., 1987 ; Coudert et al., 1995 ; Cox, 2003 ; Pakandl et al., 2003).

Dans l'entérocyte infesté, le sporozoïte se transforme en trophozoïte puis en schizonte primaire (Cox, 2003). Une particularité des *Eimeria* du lapin n'existant pas chez les coccidies aviaires est la production de deux types de schizontes se développant en parallèle au

Chapitre 1 : coccidiose cunicole

cours des différentes schizogonies de la phase de multiplication asexuée caractérisée par quatre à cinq cycles selon les espèces d'*Eimeria*. Initialement décrit par STREUN et al. (1979), le premier type de schizonte, dit type A, correspondant à des schizontes hébergeant des mérozoïtes polynucléés, aboutirait à la formation des microgamontes et des microgamètes. Le second type, B, est caractérisé par des schizontes contenant davantage de mérozoïtes, mononucléés et conduirait à la constitution des macrogamontes et macrogamètes. Les mérozoïtes de la dernière génération de schizogonie comprenant des macrogamètes et des microgamètes sont les acteurs de la gamétogonie résultant en la formation d'un zygote diploïde puis l'oocyste typique sera excrété après rétraction du zygote dans la coque du macrogamète et subira la sporogonie dans des conditions définies de température, d'humidité et d'oxygénation (Clarence et Datus., 1972 ; Pakandl et al., 2003 ; Pakandl, 2009 ; Shazly et al., 2005 ; Streun et al., 1979).

La Figure 6 récapitule les principaux stades du cycle biologique d'*Eimeria* (Anonyme 3, 2005)

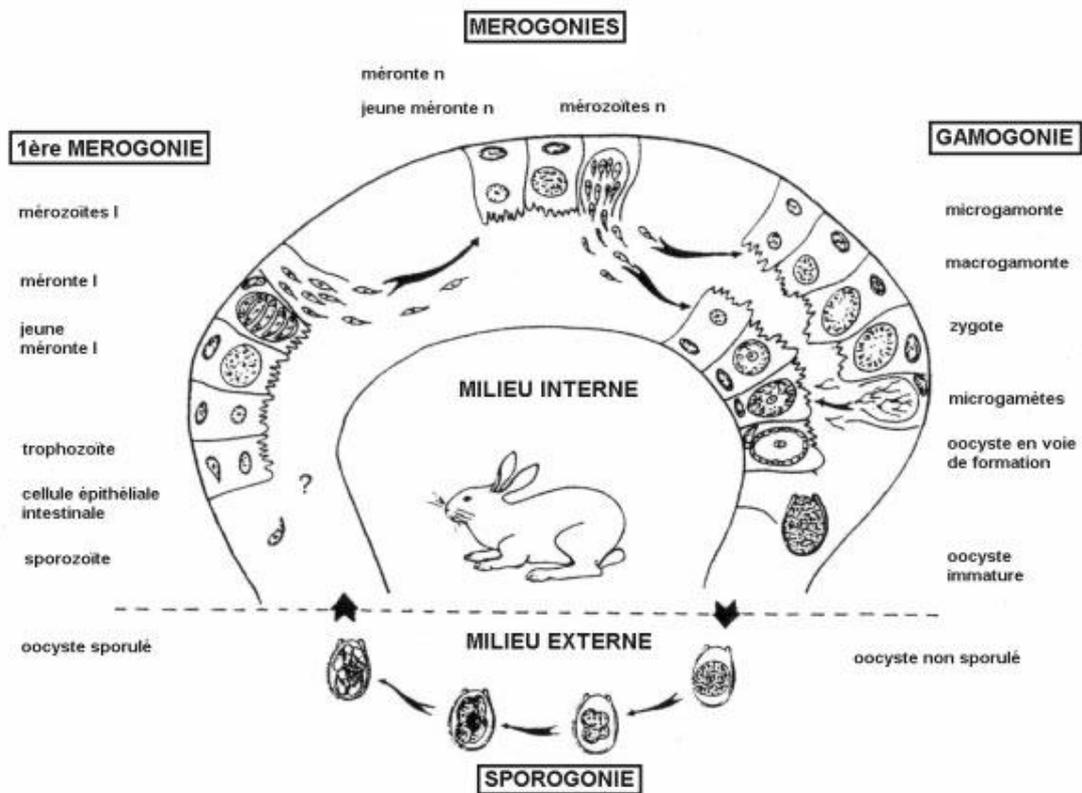


Figure 6 : Cycle biologique d'*Eimeria* spp chez le lapin (Anonyme 3, 2005)

I.6. Identification des *Eimeria* :

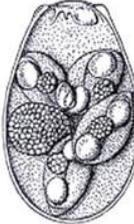
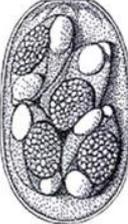
Onze espèces ont été identifiées chez le lapin. Leur description a été rapportée par ECKERT et *al.*(1995). Dans la pratique, l'identification des diverses espèces encore appelée diagnose est basée principalement sur les critères morphologiques de l'oocyste sporulé qui en raison de sa grande variabilité de taille et de forme est extrêmement difficile (Cf Tableau 1). D'autres caractéristiques permettent d'identifier les coccidies : période prépatente, durée de la sporulation, tropisme différentiel pour les segments intestinaux (Coudert et al., 1995 ; Eckert et al., 1995 ; Licois, 2004 ; Pakandl, 2009 ; Licois, 2010). Les profils génomiques de l'ADN parasite sont également utilisables au niveau de la recherche (Céré et al., 1995 ; Céré et al., 1996 ; Kvičerová et al., 2008 ; Niepceron et al., 2009_b ; Papeschi et al., 2013).

Le diagnostic peut se reposer sur les signes cliniques et le comptage d'oocystes fécaux dont un taux supérieur à 5000 OPG peut être pris en considération, ajoutons à cela les lésions nécropsiques et histologiques (Pakandl, 2009 ; Burgaud, 2010).

Le problème majeur qui se pose dans le diagnostic reste d'éviter les erreurs de confusion entre certaines espèces et de prouver que les coccidies sont la cause primaire de pathologie digestive observée dans un élevage particulier et non pas des potentialisateurs d'autres agents pathogènes comme *Escherichia. coli* (Burgaud, 2010 ; Licois, 2004).

Chapitre 1 : coccidiose cunicole

Tableau 1 : Période prépatente, dimensions (longueur x largeur) et morphologie des oocystes des différentes *Eimeria* du lapin (Licois, 2010).

<i>Espèces</i>		<i>E. exigua</i>	<i>E. perforans</i>	<i>E. coecicola</i>	<i>E. vej dovskyi</i>	<i>E. stiedai</i>
Période prépatente		7 jours	5 jours	9 jours	10 jours	14 jours
Dimensions		15.1 ± 0.5 x 13.9 ± 0.4	22.2 ± 2.8 x 13.9 ± 0.9	34.5 ± 2.4 x 19.7 ± 0.8	31.5 ± 1.2 x 19.1 ± 0.9	36.9 ± 0.4 x 19.9 ± 0.5
Morphologie de l'oocyste sporulé						
<i>Espèces</i>	<i>E. media</i>	<i>E. magna</i>	<i>E. piriformis</i>	<i>E. irresidua</i>	<i>E. intestinalis</i>	<i>E. flavescens</i>
Période prépatente	5 jours	7 jours	9 jours	9 jours	9 jours	9 jours
Dimensions	31.1 ± 2.1 x 17.0 ± 0.9	36.3 ± 1.7 x 24.1 ± 0.9	29.5 ± 2.3 x 18.1 ± 2.2	39.2 ± 1.8 x 23.1 ± 1.1	26.8 ± 1.7 x 18.9 ± 0.9	30.0 ± 2.2 x 21.0 ± 1.0
Morphologie de l'oocyste sporulé						

I.7. Pouvoir pathogène des *Eimeria* :

La pathogénicité n'est pas identique chez toutes les espèces d'*Eimeria* spécifiques aux lapins, sur la base de la mortalité et de la diarrhée causées par la coccidiose cunicole, COUDERT et *al.*(1995) ont établi une classification des coccidies intestinales cunicoles en quatre catégories : (Coudert et al., 1995 ; Licois, 2004 ; Pakandl, 2009)

- Coccidies non pathogènes : *Eimeria coecicola*
- Coccidies faiblement pathogènes : *Eimeria perforans* ; *Eimeria exigua* et *Eimeria vej dovskyi*
- Coccidies moyennement pathogènes à pathogènes : *Eimeria irresidua* ; *Eimeria magna* ; *Eimeria piriformis* et *Eimeria media*.
- Coccidies fortement pathogènes : *Eimeria intestinalis* et *Eimeria flavescens*.

Eimeria stiedae, agent étiologique de la coccidiose hépatique présente des particularités et est considérée comme espèce pathogène dose et âge dépendante (Al-Mathal, 2008 ; Licois, 2004 ; Pakandl, 2009).

D'une manière globale, la pathogénicité des coccidies cunicoles est fonction de l'espèce en cause, de la dose infestante, de l'âge et du statut immunitaire du lapin (Pakandl, 2009).

I.8. Physiopathologie de la coccidiose cunicole :

La coccidiose affecte spécialement les jeunes lapereaux sevrés âgés de cinq à six semaines (Boucher et Nouaille., 2002 ; Drouet-Viard et al., 1997_{a,b,c} ; Licois, 2004 ; Licois, 2010 ; Pakandl, 2009), mais généralement tous les lapereaux âgés de un à trois mois peuvent développer cette parasitose (Bhat et al., 1996 ; Licois, 2004). A partir de 3 mois d'âge, les lapins sont considérés comme des porteurs sains et développent rarement cette parasitose mais contribuent dans la contamination de l'environnement (Grès et al., 2003 ; Pakandl, 2009).

Les lapines reproductrices participent à la transmission des *Eimeria* à leur descendance car les variations hormonales pendant la gestation et l'allaitement ainsi que le stress au cours de la mise bas diminuent leur résistance à l'infestation parasitaire (Papeschi et al., 2013).

Après ingestion des oocystes, ceux-ci sont dégradés par le suc gastrique et les sporozoïtes sont alors libérés et aptes à rejoindre le duodénum (Boucher et Nouaille., 2002 ; Licois, 2004 ; Pakandl, 2009).

Il existe deux types de coccidiose : la coccidiose hépatique causée par *Eimeria stiedai* appelée aussi *Eimeria stiedae* qui se développe dans les canaux biliaires du foie et la coccidiose intestinale provoquée par une ou plusieurs des autres espèces d'*Eimeria* et se développant dans les différentes parties de l'intestin (Boucher et Nouaille., 2002 ; Burgaud, 2010 ; Licois, 2004 ; Pakandl, 2009).

Ces deux formes de coccidiose peuvent être associés (Coudert et al., 1995).

La coccidiose hépatique est due à *E. stiedae* qui passe du duodénum au foie par la circulation lymphatique et sanguine (Boucher et Nouaille., 2002 ; Burgaud, 2010). Dans les conditions naturelles d'infestation, la coccidiose hépatique n'est pas mortelle et peut affecter les lapins de tout âges. Elle est caractérisée par une apathie générale, de la soif, une parésie des membres inférieurs et une hépatomégalie. A l'autopsie, le foie, la vésicule biliaire et le canal biliaire sont agrandis et dilatés. Des nodules blancs dus à l'accumulation d'oocystes recouvrent la surface du foie (Boucher et Nouaille., 2002). L'examen histologique montre une

nécrose hépatique, une hyperplasie des conduits biliaires ainsi que la présence d'oocystes d'*Eimeria stiedai* et de gamétocytes dans les voies biliaires (Al-Mathal, 2008, Okumu et al., 2014).

La pathogénicité des coccidies intestinales semble être partiellement corrélée avec la localisation tissulaire. Ainsi, les coccidies intestinales les plus pathogènes à savoir *Eimeria intestinalis* et *Eimeria flavescens* parasitent les cryptes des couches profondes de l'intestin grêle ou du caecum respectivement pouvant détruire les cellules souches et endommager l'épithélium intestinal (Licois, 2010 ; Pakandl, 2009). Les espèces moins pathogènes parasitent les villosités intestinales et peuvent présenter une partie de leur développement endogène comme la dernière mérogonie ou la gamogonie au niveau des cryptes, cas d'*Eimeria magna* et *Eimeria media* (Pakandl, 2009).

La coccidiose intestinale interfère avec la fonction digestive causant une atrophie villositaire et conduisant à une mauvaise conversion alimentaire, une fuite des électrolytes et un retard de croissance (Licois, 2010 ; Hana et al., 2013).

Les signes cliniques englobent une élévation de la température, diarrhée aqueuse ou sanglante, anorexie, amaigrissement, retard de croissance, anémie et mortalité (Burgaud, 2010 ; Licois, 2004 ; Licois, 2010 ; Hana et al., 2013 ; Pakandl, 2009 ; Vadlejch et al., 2010). A l'autopsie on peut observer des lésions intestinales à savoir : congestion et œdème, pétéchies, hémorragies avec contenu mucoïde ou hémorragique. A l'histologie, une infiltration lymphocytaire et la présence d'oocystes au niveau de la *Lamina propria* de l'épithélium intestinal peuvent être observées (Grès et al., 2003, Okumu et al., 2014).

I.9. *Eimeria magna* :

Des études épidémiologiques ont rapporté qu'*Eimeria magna* est l'espèce de coccidie la plus répandue dans les élevages cunicoles (Henneb et Aissi., 2013 ; Geru et al., 2016 ; Maaziz-Bettahar, 2018). Il s'agit d'une espèce moyennement pathogène mais responsable de retard de croissance et de pertes économiques (Licois et al., 1995 ; Henneb et Aissi., 2013 ; Maaziz-Bettahar, 2018).

Une fois le cycle achevé, les oocystes sont éliminés dans le milieu extérieur avec les crottes du lapin. La période prépatente est de sept jours. Chaque oocyste ingéré s'accompagne de l'excrétion de deux à quatre millions d'oocystes (Coudert et al., 1995). Toutefois

l'excrétion est inconstante dans le temps. Elle débute après l'installation des lésions intestinales et diminue progressivement pour cesser à la fin du cycle (Pakandl, 2009).

L'oocyste rejeté sur le sol ne peut survivre, il ne peut acquérir sa capacité d'infestant qu'après sporulation ou sporogonie. Les conditions du milieu extérieur doivent être favorables :

- Humidité relative >70%. En milieu sec les oocystes n'évoluent pas et succombent rapidement (Bachene, 2012)
- Température assez élevée, l'optimum se situe aux alentours de 28°C (Bachene, 2012)
- Présence d'oxygène obligatoire, ce qui explique que la sporogonie ne commence pas dans l'intestin (Bachene, 2012). En l'absence d'oxygène, l'oocyste demeure sous forme non sporulé.

Le sporonte se divise en quatre sporoblastes qui se transforment en sporocystes contenant deux sporozoïtes (Licois et al., 1995)

Dans les meilleures conditions possibles, la sporulation peut se dérouler en 36 à 48 heures, mais sa durée peut être beaucoup plus longue si l'ambiance n'est pas optimale. L'infestation se fait par contamination d'eau et d'aliments souillés, contenant des oocystes sporulés (Licois et al., 1995).

L'oocyste d'*Eimeria magna* est entouré d'une double paroi ; la première assez fragile, la seconde extraordinairement résistante aux agents chimiques (Schneider et al, 1972). Une solution de NaCl ou de KOH à 10% pendant une heure est sans effet. L'acide sulfochromique pendant 10 mn laisse de très nombreux oocystes intacts. L'ammoniac ou le formol à 6% sous forme gazeuse ne sont efficaces qu'après 1 à 3 heures (Coudert et al., 1995).

Une solution à 25% d'ammoniaque tue les oocystes après 30 minutes de contact, la créoline à 2,5% tue seulement 50% des oocystes. Les rayons ultraviolets sont également actifs, mais seulement après irradiation d'une heure à 1 mètre de distance (Coudert et al., 1995).

La résistance d'*Eimeria magna* aux facteurs physiques (Coudert et al., 1995) est variable. Le froid (-20°C pendant 8 jours), les rayonnements UV (60 000 r) et Gamma (4.10⁵ rad), l'ultracentrifugation (2.10⁵ G pendant 14 heures) sont peu ou pas destructeurs, contrairement aux ultrasons qui éliminent le parasite (Coudert et al., 1995).

La sensibilité d'*Eimeria magna* à la chaleur (Coudert et al., 1995) et à la sécheresse est beaucoup plus grande. Certains travaux montrent qu'à partir de 31°C, la sporulation devient

anormale, à 37 °C les oocystes meurent en deux jours, à 50°C en quelques minutes et à 100°C en quelques secondes. Ainsi, une désinfection efficace ne peut être effectuée que par la chaleur (vapeur ou flamme), et une température entre 70 et 80°C pendant 10 secondes suffit à inactiver les oocystes (Coudert et al., 1995).

Une déficience immunitaire et un environnement défaillant permettent d'expliquer la fréquence d'*E. magna* dans les élevages (Pakandl, 2009). Peeters et al (1994) montrent que l'excrétion d'*E. magna* augmente significativement juste après la parturition. Ce qui correspond à un cycle de développement de la coccidie pendant la fin de la gestation. Or, il est connu par ailleurs que c'est une période particulièrement critique pour les lapines aussi bien sur le plan physiopathologique qu'immunitaire (Pakandl, 2009). Papeschi et al. (2013) mentionnent également une augmentation de l'excrétion d'oocystes chez certaines femelles en début de lactation, ce qui correspond à l'augmentation de risque de contamination des lapereaux au niveau des boîtes à nid. Plusieurs auteurs ont étudié le pouvoir pathogène d'*Eimeria magna* sur des lapereaux indemnes de coccidies en testant une gamme de doses d'*Eimeria magna* pour provoquer une infection coccidienne contrôlée. La dose de 2.10^4 oocystes sporulés permet une bonne excrétion fécale d'oocystes sans altération de la santé des lapins inoculés (Bhat et al., 1996).

Selon Peeters et al. (1994), Coudert et al. (1995) et Papeschi et al. (2013), l'inoculation de 5×10^4 oocystes d'*E. magna* réduit le gain de poids de 38% et induit une altération de la conversion alimentaire de 27%, sans provoquer de diarrhée ni de mortalité. Ainsi, un total de 139×10^6 d'oocystes est éliminé après l'infestation. Par ailleurs Licois et al. (1995) rapportent qu'une inoculation de 4×10^4 oocystes d'*Eimeria magna* engendre une chute de gain de poids entre le 2^{ième} et le 7^{ième} jour. A partir du 7^{ième} jour, le gain de poids est constant. La consommation d'aliment diminue du 2^{ième} au 7^{ième} jour mais de façon modérée surtout chez les animaux les plus légers. La diarrhée débute le 4^{ième} jour et devient très importante le 6^{ième} et 7^{ième} jour. Elle régresse ensuite pour disparaître le 9^{ième} jour. Il n'y a pas de mortalité sauf que certains animaux peuvent mourir probablement à la suite de complications infectieuses.

Selon Lammler et Dur. (1967) et Okerman . (1975) l'infestation des lapereaux par une sonde intra-œsophagienne avec 3×10^5 oocystes sporulés couplée au traitement avec différents coccidiostats dans l'eau de boisson : le pancoxin, le clopidol, la Cébégine montre qu'aucune de ces molécules n'a pu empêché le développement d'une coccidiose intestinale grave.

Les travaux de Peeters. (1994) révèlent que 20ppm de methylbenzoate, 200 à 300 ppm de meticlotpindol/methylbenzoate, 12 ppm de narasin et 35 ppm de salinomycine, réduisent nettement l'excrétion oocystale et la diarrhée et assurent un coefficient de conversion alimentaire et des gains de poids analogues ou pratiquement égaux à ceux des lapins du lot témoin.

Coudert et al. (1995) rapportent que la supplémentation d'un aliment complet en robénidine à 16,4 et 30 ppm confère aux animaux une relative protection vis-vis du développement de coccidiose mais n'assure pas une bonne protection contre la production des oocystes. Une dose de 55ppm de robénidine inhibe totalement les effets pathogènes des coccidies, et diminue l'excrétion oocystale.

Peeters et al. (1994) affirment que la supplémentation de l'aliment avec 1 ppm de diclazuril arrête la mortalité, diminue l'excrétion oocystale d'*E. magna* de 94% et réduit la chute de croissance par rapport aux animaux non inoculés.

Globalement, les sulfamides sont des produits réputés efficaces vis-à-vis des coccidies. La Sulfadiméthoxine, très active à 0,8% dans l'eau de boisson, est très utilisée dans les élevages mais se révèle de plus en plus inefficace (Coudert et al., 1995). D'autres anticoccidiens tels que la Sulphaquinoxaline, la Pyriméthamine à 0,3%, la Sulfadimérazine et le Toltrazuril (Baycox) sont aussi utilisés dans l'eau de boisson avec une efficacité modérée (Coudert et al., 1995). Ces traitements curatifs devront être appliqués à tous les animaux, avant l'apparition des premiers symptômes, c'est-à-dire au moment du sevrage (28-35jours). Un traitement à 35-36jours est souvent trop tardif dans les élevages. L'idéal est de traiter pendant 4 à 5 jours, observer une période de repos thérapeutique puis reprendre le traitement à nouveau pendant 4 à 5 jours (Coudert et al., 2003).

I.10. Traitement de la coccidiose cunicole :

La coccidiose, comme de nombreuses autres pathologies du lapin, est souvent la conséquence d'agressions non spécifiques telles que le stress. Ces agressions créent un déséquilibre au niveau du tube digestif, favorisant ainsi un terrain propice au développement des coccidies. Son contrôle s'avère délicat et est basé essentiellement sur la thérapie curative ou préventive. Des essais de vaccination par des vaccins vivants sont en cours d'étude. (Pakandl, 2009 ; Burgaud, 2010)

Les traitements utilisés à titre curatif sont basés sur l'emploi de sulfamides dont le plus efficace est la sulfadiméthoxine. Le toltrazuril et le dilclazuril employé à partir de l'an 2008 en Europe semblent également efficaces (Pakandl, 2009 ; Licois, 2010).

Chapitre 1 : coccidiose cunicole

Ces traitements sont inutiles lorsqu'ils sont administrés une fois les signes cliniques de la coccidiose déclarés (Pakandl, 2009).

CHAPITRE II
IMMUNOLOGIE DE LA COCCIDIOSE CUNICOLE

Chez le lapin, la muqueuse intestinale constitue la voie d'entrée des *Eimeria* dans l'organisme et, pour la majorité d'entre elles, le site de développement (Cox, 2003, Licois, 2010).

II.1. L'organisation du système lymphoïde associé aux muqueuses :

L'organisation du système lymphoïde chez le lapin est globalement la même que chez les autres mammifères. On distingue les organes lymphoïdes primaires, sièges de la lymphopoïèse et de la maturation des lymphocytes, des organes lymphoïdes secondaires, sièges de leur stimulation et de leur prolifération (Cox, 2003 ; Pakandl, 2009).

Les organes lymphoïdes primaires sont le thymus, dans lequel se différencient les lymphocytes T, et la moelle osseuse, dans laquelle se différencient les lymphocytes B. La rate, les ganglions lymphatiques et le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT) constituent les organes lymphoïdes secondaires (Cox, 2003 ; Pakandl, 2009).

L'organisation de la rate et des ganglions mésentériques du lapin est semblable à celle de la plupart des mammifères (Cox, 2003 ; Pakandl, 2009). En revanche, le système lymphoïde associé à la muqueuse intestinale possède une particularité, le développement considérable de l'appendice vermiforme. Cet organe intervient en tant qu'organe lymphoïde primaire dans la production et la maturation des lymphocytes B chez le jeune lapereau et en tant qu'organe lymphoïde secondaire dans l'induction de la réponse immunitaire spécifique (Cox, 2003 ; Pakandl, 2009).

La muqueuse intestinale est une surface d'échange importante avec le milieu extérieur au niveau de laquelle sont absorbés les nutriments. Elle constitue également une barrière physiologique et immunologique contre un grand nombre de micro-organismes et de substances étrangères. La régulation de la réponse immune dans la muqueuse intestinale est particulièrement complexe. D'une part, la charge antigénique dans l'intestin est importante et des mécanismes de tolérance doivent être induits vis-à-vis de la plupart des antigènes. D'autre part, des mécanismes immunitaires non spécifiques et adaptatifs doivent pouvoir se mettre en place lors de l'invasion par un micro-organisme. Dans des conditions physiologiques normales, un équilibre homéostatique est maintenu et les processus inflammatoires régulés (Cox, 2003 ; Pakandl, 2009).

Plusieurs facteurs non immunologiques permettent d'assurer la défense des muqueuses : la flore saprophyte résidente et les sécrétions digestives créent un environnement défavorable à la croissance des agents pathogènes. Le péristaltisme intestinal, le mucus et le glycocalyx permettent de réduire les interactions entre agents pathogènes et cellules épithéliales. Certaines substances (la lactoferrine, la lactoperoxydase et le lysozyme) peuvent avoir une activité inhibitrice sur le développement des agents pathogènes. Enfin, l'épithélium cohésif et les jonctions étroites entre les cellules épithéliales empêchent le passage intercellulaire des agents pathogènes (Cox, 2003).

Lorsque ces mécanismes ne permettent pas l'élimination de l'agent pathogène, des mécanismes immunitaires de défense peuvent se mettre en place. Le système lymphoïde associé au tube digestif (GALT) contient à lui seul plus de cellules immunitaires que le reste de l'organisme (Cox, 2003 ; Pakandl, 2009).

Le GALT peut être morphologiquement et fonctionnellement divisé en 2 parties :

- Les sites inducteurs de la réponse immunitaire représentés par les plaques de Peyer, l'appendice vermiforme et le *Sacculus rotundus* qui constituent le tissu lymphoïde organisé (Cox, 2003).
- Les sites effecteurs de la réponse immunitaire, représentés par le tissu lymphoïde diffus de la *lamina propria* et par les lymphocytes de l'épithélium intestinal (Cox, 2003).

II.1.1. Sites inducteurs de la réponse immune mucoale :

A la différence de la plupart des mammifères, chez lesquels les sites inducteurs de la réponse immunitaire mucoale sont principalement constitués par les plaques de Peyer, le lapin possède 2 autres structures particulièrement développées, le *Sacculus rotundus* et l'appendice vermiforme, dans lesquelles la réponse immune peut être induite (Cox, 2003).

Le tissu lymphoïde de l'appendice vermiforme, du *Sacculus rotundus* et des plaques de Peyer est constitué de follicules lymphoïdes, surmontés d'un dôme et d'un épithélium spécialisé (épithélium associé aux follicules, FAE), séparés par des zones interfolliculaires (Figure 7).

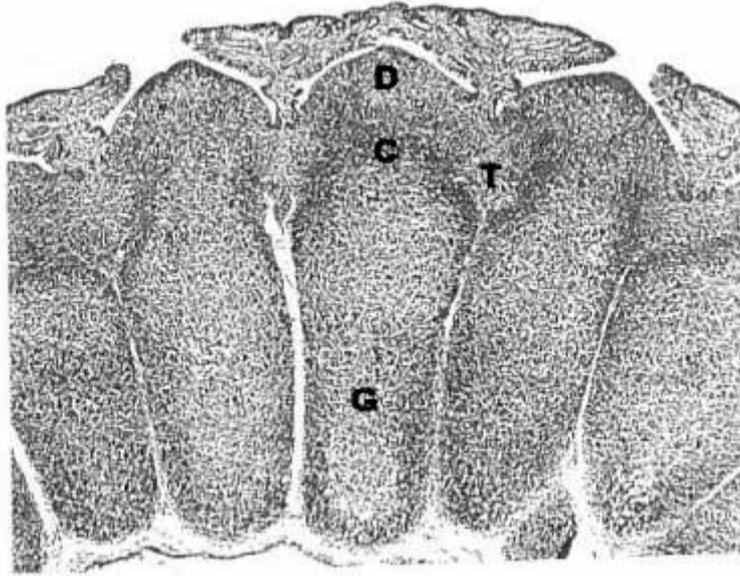


Figure 7 : Coupe histologique d'appendice vermiforme de lapin. D : Dome ; C : Corona ; T : aire thymo-dépendante interfolliculaire ; G : centre germinatif. HE x 10 (Cox, 2003).

- Les follicules sont organisés en un centre germinatif et une corona qui contiennent essentiellement des lymphocytes B-IgM⁺ (Cox, 2003) mais également des macrophages et des lymphocytes T CD₄⁺ (Cox, 2003). Le ratio des lymphocytes IgM⁺/CD₄⁺ et IgM⁺/IgA⁺ diminue dans le dôme qui surplombe la corona (Cox, 2003).
- Les zones interfolliculaires constituent les aires T-dépendantes riches en lymphocytes T CD₄⁺ et CD₈⁺ et en macrophages. C'est à ce niveau que pénètrent les lymphocytes sanguins dans la muqueuse (Cox, 2003).
- L'épithélium associé aux follicules est un épithélium très spécialisé qui a été particulièrement bien décrit chez le lapin. Il se différencie de l'épithélium intestinal, par l'absence de cellules à mucus, l'absence de sécrétion du récepteur des IgA dimériques et d'activité phosphatase alcaline (Cox, 2003), par sa capacité à fixer les lectines et par la présence de cellules épithéliales particulières, les cellules M (M pour microfold). Chez le lapin, les cellules M représentent 50% des cellules de l'épithélium associé aux follicules contre seulement 10% chez les rongeurs (Cox, 2003).
- Les cellules M se caractérisent par la présence de microvillosités atrophiées et irrégulières ainsi que par un glycocalyx et une couche de mucus clairsemés facilitant l'accès de leur membrane apicale aux antigènes luminaux. La membrane basolatérale de ces cellules est profondément invaginée et forme une poche intra-épithéliale dans

laquelle viennent se loger des lymphocytes et des macrophages. Les cellules M captent une grande variété d'antigènes et de microorganismes et les rendent accessibles à ces cellules lymphoïdes. Ainsi, des antigènes solubles mais également des virus, des bactéries, des protozoaires et des microsphères de 10 nm à 10 µm sont susceptibles d'être transportés par ces cellules de la lumière intestinale vers le tissu lymphoïde sous-jacent. L'efficacité du transport semble liée aux capacités d'adhérence des particules à la surface de ces cellules. Les cellules M du lapin assurent un transport plus efficace que celui des cellules M des rongeurs. Les antigènes luminaux délivrés aux cellules lymphoïdes présentes dans la poche intra-épithéliale peuvent être ensuite captés par les cellules présentatrices d'antigènes et acheminés vers les centres germinatifs (Cox, 2003).

Ermak *et al.* (1990) In Cox. (2003) ont montré que les lymphocytes présents dans l'épithélium associé aux follicules possèdent un phénotype particulier. En effet, ces lymphocytes sont très majoritairement CD₄₃⁺ (65% dans les plaques de Peyer, 95% dans l'appendice), expriment des molécules de classe II du CMH, ainsi que les marqueurs de surface CD₁₈ et CD₅₈, mais sont CD₄⁻CD₈⁻. Ces cellules constituent une population de lymphocytes T activés, différente de celles présentes dans le dôme, dans les aires T-dépendantes, ainsi que dans l'épithélium et la *lamina propria* des villosités. Il s'agirait en réalité de cellules dendritiques (Cox, 2003). La captation des antigènes par les macrophages ou les cellules dendritiques des dômes et des follicules permet l'activation des lymphocytes et l'induction de la réponse immunitaire spécifique (Cox, 2003).

L'appendice vermiforme joue non seulement un rôle dans l'induction de la réponse immune mais il constitue également un organe essentiel dans la production des lymphocytes B au cours des premières semaines de la vie du lapereau (Burgaud, 2010 ; Licois, 2010 ; Cox, 2003). Ces lymphocytes B, dont la différenciation se fait dans l'appendice au contact de la microflore intestinale, migrent secondairement dans le reste de l'intestin et en particulier dans les plaques de Peyer. L'appendice est essentiel à la diversification du répertoire des immunoglobulines et au développement du système immunitaire mucosal (Cox, 2003).

II.1.2. Sites effecteurs de la réponse immune mucoale :

En dehors des tissus lymphoïdes organisés, beaucoup de cellules lymphoïdes sont réparties dans la *lamina propria* et dans l'épithélium de l'intestin. La réponse immune effectrice peut donc se développer tout le long du tractus intestinal (Cox, 2003).

Les cellules épithéliales sont constituées principalement de 4 types cellulaires dérivant des cellules souches multipotentes logées dans les cryptes et qui participent à la restauration et au maintien de l'intégrité de l'épithélium (Cox, 2003).

- Les cellules absorbantes constituent la majorité des cellules de l'épithélium digestif (90%) et jouent un rôle fondamental dans l'absorption des nutriments.
- Les cellules de Paneth sont localisées dans les cryptes et sécrètent des granules riches en lysozyme possédant une forte activité bactériolytique et des peptides antibiotiques tels que la cryptidine.
- Les cellules à mucus contribuent à la formation d'une couche protectrice à la surface des entérocytes.
- Les cellules entéroendocriniennes relarguent des hormones en réponse aux changements d'environnement au niveau des capillaires du tissu conjonctif.

Toutes ces cellules, hormis les cellules de Paneth, migrent des cryptes vers le sommet des villosités et sont expulsées dans la lumière en 2 à 3 jours (Cox, 2003).

Les entérocytes qui constituent les cellules absorbantes de l'épithélium intestinal sont également impliqués dans les mécanismes de protection immunitaires. Ces cellules assurent la transcytose des IgA sécrétoires (IgAs) de leur site de synthèse, les plasmocytes de la *lamina propria*, jusqu'à la lumière intestinale. Des récepteurs aux IgA dimériques sont synthétisés et exprimés dans leur membrane basolatérale ; les complexes récepteur-Ig sont internalisés par endocytose, transportés à travers le cytoplasme et relargués dans la lumière intestinale. Le clivage du récepteur au pôle apical de la cellule libère la pièce sécrétoire qui masque ainsi les sites de clivage protéolytique sur la molécule d'IgAs. Les IgAs représentent l'isotype prédominant des muqueuses et préviennent l'attachement des microorganismes et antigènes luminaux aux épithéliums (Cox, 2003). Une des particularités du lapin est qu'il possède 13 gènes fonctionnels différents pour la chaîne C α des immunoglobulines A, alors que les autres mammifères n'en possèdent qu'un ou deux. Les entérocytes expriment également les

molécules de classe I et II du CMH et sont capables de produire certaines cytokines (Cox, 2003).

Les lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) sont également une constituante essentielle de l'épithélium intestinal. Ils se localisent au-dessus de la lame basale entre les entérocytes. A leur surface, l'intégrine $\alpha_E\beta_7$ permet la fixation à une adressine présente sur les cellules épithéliales, l'E-cadhérine. Chez la souris 90% des LIE sont des lymphocytes T et 90% expriment la molécule CD₈. Parmi ces lymphocytes CD₈⁺, on distingue 2 populations selon la nature homo- ou hétéro- dimérique de la molécule CD₈. La population CD₈ $\alpha\beta$ ⁺ porte le récepteur TCR $\alpha\beta$, est thymo-dépendante et est identique à celle que l'on trouve dans les organes lymphoïdes. La population CD₈ $\alpha\alpha$ ⁺ est en revanche atypique. Elle représente près de 60% des LIE CD₈⁺, est thymo-indépendante et possède en majorité le récepteur TCR $\gamma\delta$. Ces lymphocytes ont une cytotoxicité non restreinte par les molécules du CMH. La présence de granulations intracytoplasmiques riches en perforine, granzymes et Fas-Ligand atteste de l'activité cytotoxique des LIE (Cox, 2003).

La muqueuse intestinale est constituée, dans sa partie sous-jacente, d'une couche de tissu conjonctif formant le chorion ou *Lamina propria* contenant des cellules musculaires lisses, des fibroblastes, des vaisseaux sanguins et lymphatiques ainsi que des cellules lymphoïdes. Chez la souris, les plasmocytes à IgA constituent en moyenne 40% des cellules de la *lamina propria*. Les lymphocytes T présents sont essentiellement CD₄⁺ TCR $\alpha\beta$ et expriment des marqueurs de cellule mémoire (Cox, 2003).

II.2. Réponse immunitaire du lapin contre *Eimeria*

Les *Eimeria* sont des protozoaires parasites monoxènes qui possèdent une grande spécificité d'hôte. De manière générale, et plus particulièrement pour les *Eimeria* du lapin, une infection primaire confère une solide immunité contre la réinfection (Coudert *et al.*, 1995. Pakandl, 2009). Cependant, malgré la présence d'antigènes communs aux différentes espèces parasitaires et la présence de clones lymphocytaires dirigés contre ces antigènes, il n'y a pas d'immunité croisée entre les différentes espèces et parfois même entre 2 souches d'une même espèce (Coudert *et al.*, 1995 ; Pakandl *et al.*, 2008 ; Pakandl, 2009).

Chapitre 2 : Immunologie de la coccidiose cunicole

Tous les stades parasitaires sont immunogènes bien que les stades les plus précoces le soient davantage (Licois et al., 1995). Ainsi, les souches précoces d'*Eimeria* chez lesquelles les dernières mérogonies disparaissent sont moins pathogènes mais sont, malgré tout, immunogènes (Licois *et al.*, 1995 ; Drouet-Viard *et al.*, 1997_{a,b,c}).

Chez le lapin, l'acquisition de l'immunité permet un arrêt du développement du parasite au cours de la réinfection. Les mécanismes mis en jeu semblent dépendre de l'espèce parasitaire. Il est admis que la réponse immunitaire locale médiée par le tissu lymphoïde associé aux intestins (*G.A.L.T*) joue un rôle plus important dans l'immunité contre la coccidiose que la réponse systémique (Fortun-lamothe et Boullier., 2007 ; Pakandl, 2009). Chez le lapin, les mécanismes immunitaires mis en jeu au cours de la coccidiose n'ont jamais été étudiés jusqu'à maintenant. La réponse immunitaire contre les *Eimeria* a été étudiée essentiellement chez le poulet ou la souris. (Fortun-lamothe et Boullier., 2007 ; Pakandl, 2009).

Les travaux de DROUET-VIARD *et al.* (1996) ont démontré que l'inoculation des lapins par des coccidies engendre la formation d'anticorps circulants mais qui ne sont pas protecteurs confirmant l'absence d'immunité passive par les anticorps maternels et suggérant que l'immunité cellulaire est la seule réponse conférant une protection réelle contre cette parasitose (Drouet-Viard *et al.*, 1996 ; Pakandl, 2009).

Il n'existe aucune immunité croisée entre les espèces et l'immunogénicité varie d'une espèce à l'autre (Licois et al., 1990 ; Pakandl et al., 2008 ; Pakandl, 2009 ; Papeschi et al., 2013), ainsi des lapereaux inoculés par *Eimeria magna* développent une immunité contre la coccidiose causée par cette espèce et non pas par les autres espèces d'*Eimeria*. (Drouet-Viard *et al.*, 1997_{a,c} ; Licois, 2004 ; Licois, 2010).

Eimeria intestinalis est fortement immunogène, 600 oocystes suffiraient pour avoir une protection immunitaire complète (Renaux et al., 2003 ; Licois, 2010; Pakandl et al., 2008 ; Pakandl, 2009). A l'inverse, *Eimeria perforans* et *Eimeria flavescens* sont faiblement immunogènes (Pakandl et al., 2008 ; Pakandl, 2009). *Eimeria irresidua* ; *Eimeria magna* et *Eimeria media* sont moyennement immunogènes (Pakandl, 2009).

Chapitre 2 : Immunologie de la coccidiose cunicole

Les lapines allaitantes constituent une source de contamination pour les lapereaux mais l'infestation des lapereaux est vraisemblablement impossible avant l'âge de 19-21 jours, et devient possible à partir de 25 jours lorsque les lapereaux commencent à ingérer l'aliment solide d'où la nécessité de les vacciner le plus tôt possible après sevrage (Drouet-Viard et al., 1996 ; Drouet-Viard et al., 1997_{a,b,c} ; Pakandl, 2009, Papeschi et al., 2013).

Des souches précoces d'*Eimeria* peuvent être obtenues au laboratoire en sélectionnant, au cours de cycles parasitaires successifs, les premiers oocystes produits après inoculation, jusqu'à obtenir une souche dont la période prépatente est plus courte que celle de la souche sauvage. Ces souches possèdent un pouvoir immunoprotecteur efficace alors que leur pouvoir pathogène est fortement réduit par rapport aux souches sauvages et peuvent ainsi faire l'objet de vaccin vivant (Licois et al., 1990; Licois et al., 1995).

PARTIE EXPERIMENTALE

ETUDE 01

**PREVALENCE DE LA COCCIDIOSE CUNICOLE A
MEDEA, ALGERIE**

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

MOHAMED SADEK BACHENE^{*,a,b}, SORAYA TEMIM^a, HASSINA AINBAZIZ^a, ASMA BACHENE^b

^a Laboratoire santé et production animales. Ecole Nationale Vétérinaire Supérieure BP 161, Alger, Algérie.

^b Département des sciences de la nature et de la vie, Faculté des sciences, Médéa, Algérie.

^c Laboratoire National d'animaux et de protozoaires, Collège de Médecine Vétérinaire, Université d'agriculture de Chine, Pékin 100093, Chine

* **Auteur correspondant:** Département des sciences de la nature et de la vie, Faculté des sciences, Université Dr Yahia Farès, Médéa, Algérie. **Tel:** +213541282087. **Email:** bmsouzra@yahoo.fr

1. Introduction

La coccidiose est la principale parasitose chez les volailles et autres animaux domestiques, y compris les lapins: *Oryctolagus cuniculus* (Pakandl, 2009 ; Geru et al., 2016). Elle constitue l'une des principales causes infectieuses de troubles digestifs chez les lapins d'engraissement (Pakandl, 2009 ; Geru et al., 2016). Cette maladie est causée par des protozoaires parasites intracellulaires du genre *Eimeria* et peut être responsable d'une mortalité importante chez les lapins domestiques (Pakandl, 2009). Les symptômes de la maladie comprennent l'anorexie, la diarrhée, la perte de poids corporel, une médiocre conversion alimentaire et même la mort des lapins sevrés (Pakandl, 2009).

Onze différentes espèces d'*Eimeria* ont été identifiées chez le lapin. Parmi ces espèces, dix colonisent le tractus intestinal, envahissent et détruisent les cellules intestinales, provoquant une anémie, un déséquilibre électrolytique et une mauvaise absorption des nutriments. (Pakandl, 2009). *Eimeria stiedae* infecte les canaux biliaires du foie. La coccidiose hépatique est le plus souvent subclinique, mais peut être à l'origine d'une faible conversion alimentaire (Al-Mathal, 2008; Pakandl, 2009). Tous les lapins domestiques peuvent être infestés par les Coccidies, en particulier les plus jeunes âgés de un à quatre mois (Drouet-Viard et al., 1997^{a,b}; González-Redondo et al., 2008; Bachene et al., 2014; Bachene et al., 2018). L'identification

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

des coccidies est basée sur les caractéristiques morphologiques des oocystes et le temps de sporulation. (Coudert et al., 1995; Pakandl et al., 2008). Le site de l'infestation et les signes cliniques peuvent également guider l'identification des espèces de coccidies (Pakandl, 2009).

En Algérie, la situation épidémiologique de la coccidiose chez le lapin est presque inconnue. Henneb et Aissi (2013) ont signalé la prévalence de la coccidie chez des lapins de l'est algérien: *Eimeria magna* (43%), *Eimeria stiedai* (23%) et *Eimeria media* (19%). *Eimeria perforans* (9%), *Eimeria exigua* (3%) et *Eimeria coecicola* (3%) et Maziz-Bettahar et al. (2018) ont rapporté la prévalence de la coccidiose cunicole dans trois régions du nord de l'Algérie: *Eimeria magna* (42,5%), *Eimeria media* (17,6%) et *Eimeria irresidua* (14,9%).

La présente étude a été réalisée à Médéa, une région agricole du nord de l'Algérie, afin d'étudier la prévalence naturelle des infestations coccidiennes dans différentes exploitations de lapins selon l'âge, le sexe et la chimioprévention, et d'identifier les espèces d'*Eimeria* présentes dans ces exploitations.

2. Matériel et méthodes :

2.1. Zone d'étude et sélection de lapins :

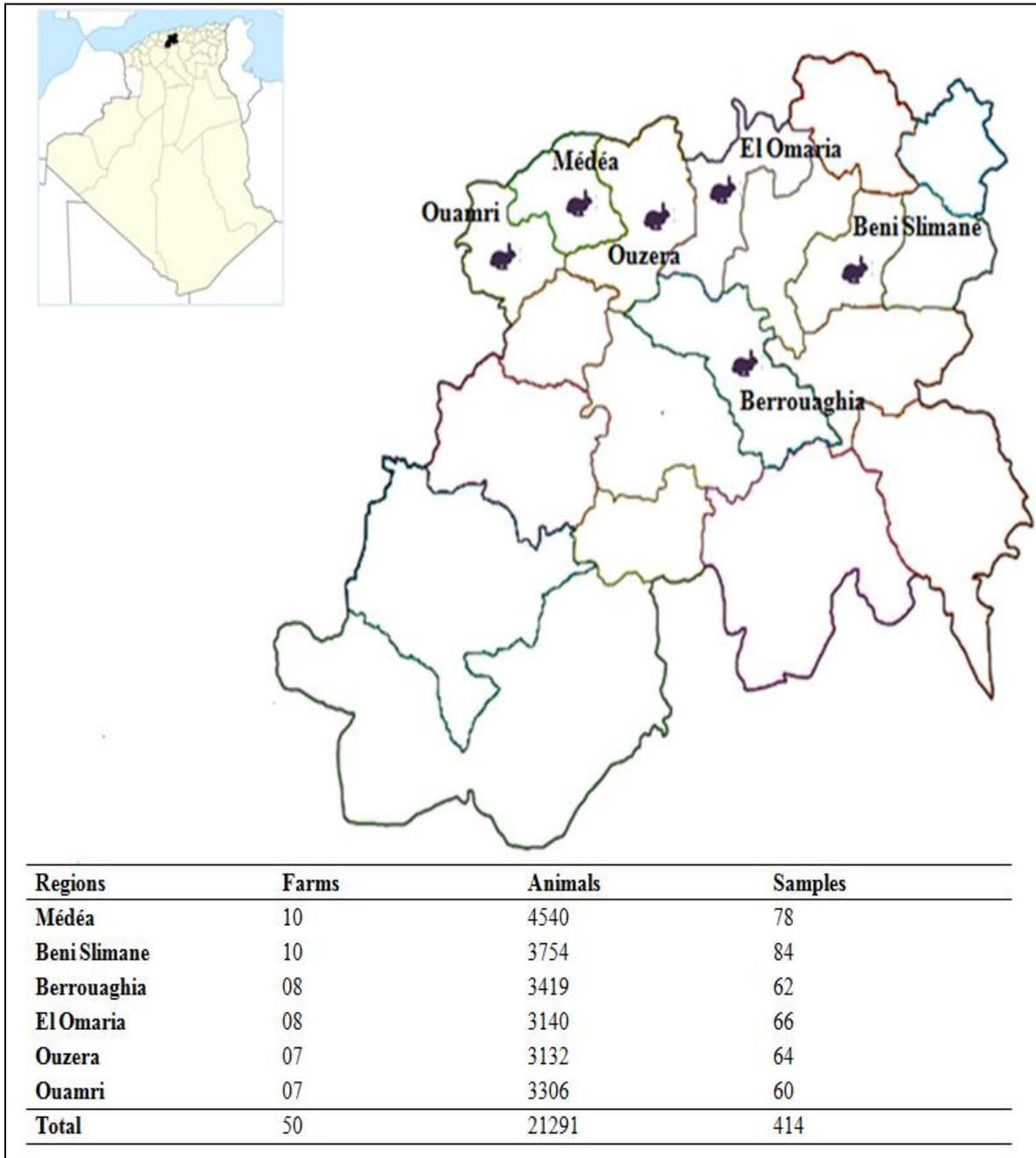
L'étude s'est concentrée sur les populations de lapins de la wilaya de Médéa, une région agricole du nord de l'Algérie (Figure 1). Cette wilaya est située à 36,26 de latitude, 2,75 de longitude et à 910 mètres d'altitude. La température moyenne annuelle est de 14,4 ° C et les précipitations annuelles moyennes sont de 736 mm.

Un total de 414 prélèvements de crottes ont été recueillies de manière aléatoire (méthode des nombres aléatoires) chez des animaux apparemment en bonne santé de 50 élevages de lapins au niveau de six régions de la wilaya (Figure 1).

Les crottes ont été prélevées chez 21291 lapins afin de rechercher les oocystes d'*Eimeria*. Ces lapins comprenaient 15923 lapereaux sevrés (âgés de 1 à 3 mois), 782 lapins en croissance (âgés de 3 à 6 mois), 502 lapins adultes (âgés de plus de 6 mois) et 4084 lapins reproducteurs, dont 585 mâles et 3 499 femelles.

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

Figure 1: Une carte de la wilaya de Médéa montrant les régions sélectionnées et le nombre d'élevages, des lapins de race locale et des prélèvements fécaux.



Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

2.2. Echantillonnage et analyse parasitologique :

A partir de chaque classe (lapereaux sevrés / lapereaux en croissance / adultes / mâles reproducteurs / femelles reproductrices), 500 g de crottes fraîchement émises ont été collectés en tant qu'échantillon. Après homogénéisation, 300 g de chaque échantillon ont été mis dans 1500 ml d'eau. Ensuite, 40 g du mélange sont mis dans 60 ml d'une solution saturée de sulfate de magnésium (MgSO₄) selon la méthode de Coudert et al. (1995). L'observation des oocystes et le calcul des OPG ont été réalisés au moyen de la lame de McMaster pour estimer le degré d'infestation (Coudert et al., 1995). La valeur limite de détection a été fixée à 200 oocystes par gramme d'échantillon de fèces.

Les oocystes purifiés ont été sporulés dans un agitateur et dilués dans une solution de Bichromate de potassium à 2,5% à 28 ° C pendant 7 jours pour assurer une bonne aération. Les oocystes concentrés à partir de chaque échantillon ont été identifiés en fonction de leur taille et de leurs caractéristiques morphologiques au moyen d'un microscope optique muni d'une caméra connectée à un ordinateur. Pour garantir la validité de l'identification des espèces, au moins 100 oocystes sporulés de chaque prélèvement ont été observés et mesurés selon la méthode de Coudert et al. (1995).

2.3. Analyse statistique :

La prévalence de la coccidiose chez le lapin au niveau de la wilaya de Médéa en fonction de l'âge, du sexe, de la chimioprévention, des espèces d'*Eimeria* isolées ainsi que des régions concernées a été calculée à l'aide du logiciel SPSS 17.0 et analysée par le test de Chi-2. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

3. Résultats :

3.1. Prévalence de la coccidiose chez les lapins de la wilaya de Médéa :

Au total, 414 échantillons ont été collectés et analysés. Globalement, des oocystes d'*Eimeria* ont été détectés dans 197 des 414 prélèvements de crottes (46,7%) prélevés dans six régions de la wilaya de Médéa, Algérie. La prévalence des oocystes coccidiens dans ces régions variait de 34,4% à 59,5% (tableau 1). La prévalence la plus élevée a été enregistrée à Benislimane (59.5%), la plus faible à Ouzera (34.4%).

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

Tableau 1 Prévalence et intensité de la coccidiose cunicole au niveau des différentes régions étudiées de la wilaya de Médéa

	Ech examinés	Ech positifs	Prévalence %	OPG	χ^2	Valeur P
Benislmane	84	50	59.5	[8×10^2 - 4.5×10^4]	15.3	P=0.0089
Médéa	78	37	47.4	[9×10^2 - 1.1×10^6]		
Berouaghia	62	36	58.1	[1×10^3 - 1.5×10^6]		
El Omaria	66	24	36.4	[7×10^2 - 2.6×10^4]		
Ouzera	64	22	34.4	[9×10^2 - 2.6×10^4]		
Ouamri	60	28	46.7	[9×10^2 - 5.9×10^4]		

Les lapereaux sevrés étaient les plus infestés avec une prévalence de 77%, suivis des lapins en croissance et adultes, avec des prévalences respectives de 46,8% et 36% (les différences étaient statistiquement significatives, $p < 0,0001$). En ce qui concerne les lapins reproducteurs, les femelles étaient plus infestées avec une prévalence de 40% (tableau 2).

Tableau 2: Prévalence et intensité de la coccidiose chez le lapin de race locale selon l'âge et le sexe au niveau de la wilaya de Médéa

	Ech examinés	Ech positifs	Prévalence %	OPG	χ^2	Valeur P
Lapins sevrés	100	77	77.0	[9×10^2 - 1.5×10^6]	56.4	<0.0001
Lapins en croissance	64	30	46.8	[1.2×10^2 - 9×10^5]		
adultes	50	18	36.0	[7×10^2 - 3×10^5]		
Mâles reproducteurs	100	32	32.0	[8×10^2 - 9×10^4]		
Femelles reproductrices	100	40	40.0	[1.3×10^2 - 1.2×10^5]		

3.2. Résultats de l'identification des espèces d'*Eimeria* :

L'identification morphologique des oocystes a révélé la présence des onze espèces connues d'*Eimeria* chez le lapin. *E. magna* et *E. media* étaient les espèces les plus répandues (47,6% et 47,3%, $p < 0,0001$), suivies dans l'ordre par *E. stiedae*, *E. exuiga*, *E. coecicola*, *E. flavescens*, *E. perforans*, *E. piriformis*, *E. vejnovskyi*, *E. irresidua* et *E. intestinalis* avec des prévalences

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

respectives de 43%, 36,2%, 21,7%, 20,8%, 20,5%, 17,9%, 17,9%, 12,8%, 11,1% et 8,7%. (Tableau 3).

Tableau 3 : Prévalence des espèces d'*Eimeria* isolées des prélèvements de crottes au niveau des élevages étudiés de la wilaya de Médéa

Espèces	Ech positifs	Prévalence %	OPG	χ^2	Valeur P
<i>E,exigua</i>	150	36.2	[0 - 9.7×10 ⁴]	650.7	<0.0001
<i>E,perforans</i>	85	20.5	[0 - 4.6×10 ⁴]		
<i>E,piriformis</i>	74	17.9	[0 - 8.1×10 ³]		
<i>E,flavescens</i>	86	20.8	[0 - 1.4×10 ⁵]		
<i>E,irresidua</i>	46	11.1	[0 - 1.1×10 ⁴]		
<i>E,stiedae</i>	178	43.0	[0 - 4.2×10 ⁵]		
<i>E,intestinalis</i>	36	8.7	[0 - 5.2×10 ⁴]		
<i>E,media</i>	196	47.3	[0 - 4.3×10 ⁵]		
<i>E,vejnovskyi</i>	53	12.8	[0 - 1.5×10 ⁵]		
<i>E,coecicola</i>	90	21.7	[0 - 2.2×10 ⁴]		
<i>E,magna</i>	197	47.6	[2.5×10 ² - 5.9×10 ⁵]		

Eimeria magna et *Eimeria media* étaient les espèces de coccidies les plus répandues à Bensilimane et à Ouzera respectivement. (Tableau 4).

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

Tableau 4 : Pourcentage des prélèvements fécaux infestés par chacune des espèces d'*Eimeria* chez les lapins de race locale de la wilaya de Médéa

	Médéa (n=37)	Benislidane (n=50)	Berouaghia (n=36)	El Omaria (n=24)	Ouzera (n=22)	Ouamri (n=28)
<i>E.exigua</i>	7.16	8.74	4.58	4.13	8.82	8.21
<i>E.perforans</i>	4.19	0.98	3.94	5.17	0.68	2.64
<i>E.piriformis</i>	3.11	3.46	2.56	3.21	2.32	1.96
<i>E.flavescens</i>	1.7	3.58	3.92	3.21	5.77	4.11
<i>E.irresidua</i>	1.03	0.76	0.67	1.5	2	1.86
<i>E.stiedae</i>	17.84	14.04	12.92	7.29	10.14	18.82
<i>E.intestinalis</i>	0.81	2.46	3.14	0.75	0.64	0.79
<i>E.media</i>	18.43	18.44	21.83	24.21	30.14	18.32
<i>E.vejdoskyi</i>	1.41	0.76	1.72	1.63	1.41	1.04
<i>E.coecicola</i>	2.59	3.14	3.72	6.21	2.95	3.71
<i>E.magna</i>	41.73	43.64	41	42.71	35.14	38.54

n : nombre de prélèvements positifs.

3.3.Prévalence de la coccidiose cunicole selon la chimio-prévention :

Tous les 50 élevages cunicoles visités utilisaient des anticoccidiens pour la prévention de la coccidiose, mais 11 d'entre eux n'ont pas précisé le type d'anti-anticoccidiens qu'ils avaient utilisé (tableau 5).

Tableau 5 : Prévalence de la coccidiose au niveau des élevages de la wilaya de Médéa selon les anticoccidiens utilisés

Anticoccidiens	Ech examinés	Ech positifs	Prévalence %	OPG	χ^2	Valeur P
Colistine+	150	98	65.3	$[8 \times 10^2 - 1.5 \times 10^6]$	72.4	<0.0001
triméthopri- me						
Sulfonamides	176	41	23.3	$[9 \times 10^2 - 1.7 \times 10^5]$		
Autres	88	58	65.9	$[9 \times 10^2 - 5 \times 10^5]$		

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

Les associations : colistine + triméthoprime (COLISULTRIX) et sulfaquinoxaline sodique + sulfadiazine sodique (COCCIDIOPAN) sont les médicaments les plus fréquemment utilisés dans les élevages étudiés. Dans les élevages utilisant l'association Colistine + Triméthoprime, des oocystes d'*Eimeria* ont été trouvés dans 65,3% (98/150) des prélèvements de crottes contre 23,3% (41/176) pour ceux utilisant l'association Sulfaquinoxaline sodium + Sulfadiazine sodium ($p < 0,0001$).

4. Discussion :

La coccidiose constitue un problème de santé majeur chez les lapins, touchant principalement les lapereaux juste après le sevrage. (Drouet-Viard et al., 1997_b, Pakandl et Hlálsková., 2007).

Dans la présente étude, la prévalence de la coccidiose au niveau de six régions de la wilaya de Médéa a été étudiée. Sur la base de l'analyse des 414 prélèvements de crottes à partir de 50 élevages de lapins de race locale, la prévalence globale était de 47,6%. En raison de l'importance de la maladie, les coccidiostatiques sont utilisés de façon continue au niveau de ces élevages mais, malgré cela, la prévalence de la coccidiose reste élevée. Ceci peut s'expliquer par la transmission maternelle de la coccidiose aux jeunes lapereaux (Henneb et Aissi., 2013, Papeschi et al., 2013). De plus, au niveau des élevages cunicoles, le traitement devrait concerner non seulement les jeunes lapereaux mais également les lapines allaitantes, principalement pendant la semaine précédant le sevrage, où la contamination de la mère aux jeunes lapereaux a lieu (Pakandl et Hlálsková., 2007).

L'existence de toutes les espèces d'*Eimeria* agent de coccidiose chez les lapins des élevages étudiés a été confirmée dans les prélèvements fécaux. Des études antérieures ont rapporté que les infestations naturelles par une seule espèce d'*Eimeria* sont rares (Abdel-Baki et Al-Quraishy., 2013, Jing et al., 2012). La prévalence d'*Eimeria magna* dans la province de Médéa était convergente avec celle rapportée par Henneb et Aissi (2013) dans l'est de l'Algérie ainsi que Maziz-Bettahar et al.(2018) dans le nord algérien (47,6% vs 43% et 42.5% respectivement). Cela peut être dû à la mauvaise hygiène constatée dans les élevages algériens (Henneb et Aissi., 2013). Gonzalez-Redondo et al. (2008) ont confirmé qu'un contrôle minutieux des conditions d'hygiène suffit à maintenir un faible niveau d'infestations coccidiennes et Schlolaut et al. (2013) ont indiqué que les conditions d'élevage pourraient avoir une incidence directe sur la santé des lapins.

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

Eimeria magna et *Eimeria media* reconnues comme espèces légèrement pathogènes (Licois et al., 1995; Drouet-Viard et al., 1997_{a,b}) étaient les plus prédominantes à Médéa, suivies par *Eimeria stiedae* mais les valeurs d'OPG calculées étaient inférieures à celles correspondant à celles de la coccidiose clinique. Ce résultat indique que la coccidiose subclinique domine dans la wilaya de Médéa. En fait, les lapins infestés de manière subclinique semblent être en bonne santé en général, mais l'infestation peut avoir un impact négatif sur la conversion alimentaire et la croissance, entraînant d'énormes pertes économiques, comme le rapportent Jing et al. (2012), Okumu et al. (2014) et Yin et al. (2016).

La prévalence des oocystes d'*Eimeria* chez les lapereaux sevrés (77%) était plus élevée ($p < 0,0001$) que chez les lapins en croissance (46,8%) et les lapins adultes (36%), ce qui pourrait être dû à une résistance plus faible ou à une immunité incomplète contre la coccidiose chez les jeunes lapereaux comparativement aux lapins plus âgés tels que décrits auparavant par Licois et al., 1995; Drouet-viard et al., 1997; Pakandl et al., 2008; Pakandl. 2009 ; El-Ghoneimy et El-Shahawy.(2017) ainsi que Geru et al.(2017).

5. Conclusion :

La présente enquête a révélé que la prévalence de la coccidiose chez les lapins de la wilaya de Médéa ne peut être négligeable. En effet, une prévalence globale de 47.6% a été enregistrée. L'étude a également montré qu'*E. magna* et *E. media* étaient les espèces les plus prédominantes et que les lapereaux sevrés étaient les plus infestés, suivis des lapins en croissance et adultes. Les femelles étaient plus infestées que les mâles et enfin, COCCIDIOPAN semblait être plus efficace que COLISULTRIX. La connaissance de la prévalence de la coccidiose et des espèces d'*Eimeria* circulant actuellement aidera à évaluer le potentiel d'infestation et les programmes de contrôle, et donc à minimiser les pertes économiques causées par cette pathologie.

Remerciements :

Les auteurs remercient M. X. SUO du laboratoire national d'animaux et des protozoaires du Collège de médecine vétérinaire de Chine pour le bon accueil et la précieuse assistance technique.

Cette recherche n'a reçu aucune subvention spécifique d'agences de financement des secteurs public, commercial ou à but non lucratif.

Conflits d'intérêts :

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêts.

Consentement à la publication :

Les auteurs accordent à l'éditeur la licence exclusive du logiciel de publication complet. En conséquence, l'éditeur a le droit exclusif de publier l'étude dans toutes les langues et toutes les autres formes de publication électronique connues ou inventées dans l'avenir dans le monde entier.

Contribution des auteurs :

MSB a proposé et mené l'étude. MSB et AB ont rédigé et révisé le manuscrit. ST et HA ont supervisé les travaux. MSB et AB ont analysé les données. Tous les auteurs ont lu et approuvé le manuscrit final.

Références bibliographiques :

Abdel-Baki AAS and Al-Quraishy S (2013).Prevalence of coccidia (*Eimeriaspp.*) infection in domestic rabbits, *Oryctolaguscuniculus*, in Riyadh, Saudi Arabia. Pakistan Journal of Zoology,45(5): 1329-1333

Al-Mathal IM (2008). Hepatic Coccidiosis of the Domestic Rabbit *Oryctolaguscuniculusdomesticus* L. in Saudi Arabia World Journal of Zoology, 3 (1): 30-35.

Bachene MS, Maziz-Betahar S, Temim S, Aissi M, AinBaziz H (2014). Evaluation of the pathogenicity of *Eimeria Magna* in the rabbit of local population *Oryctolaguscuniculus* .WASET. Animal and Veterinary Sciences, 1, 6 .

Bachene MS, Temim S, Ainbaziz H, Bachene A and Suo X, 2018.A vaccination trial with a precocious line of *Eimeria magna* in Algerian local rabbits *Oryctolaguscuniculus*. Veterinary parasitology, 261: 73–76DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.08.013

Coudert P, Licois D and Drouet-Viard F (1995).*Eimeria* species and strains of rabbits, In Biotechnology Guidelines on techniques incoccidiosis research. Eckert J Braun R, Shirley MW, Coudert P, Sc,Eds. Luxembourg: European commission : 52-73.

Drouet-viard F, Coudert P, LicoisP and Boivin M (1997_a).Acquired protection of the rabbit (*Oryctolaguscuniculus*) against coccidiosis using a precocious line of *Eimeria magna*: effect

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

of vaccine dose and age at vaccination. *Veterinary Parasitology*, 69 : 197-

201. [DOI.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01133-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01133-8)

Drouet-Viard F, Coudert P, Licois D and Boivin M (1997_b). Vaccination against *Eimeria magna* coccidiosis using spray dispersion of precocious line oocysts in the nest box. *Veterinary Parasitology*, 70(1-3): 61-66. [DOI.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01134-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01134-X)

El-Ghoneimy A and El-Shahawy I (2017). Evaluation of amprolium and toltrazuril efficacy in controlling natural intestinal rabbit coccidiosis. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18(3): 164-169. DOI: 10.22099/IJVR.2017.4217

Geru T, Wang Y, Li C, Gu X, Cui P, Fang S, Suo X and Liu X (2017). High pathogenicity and strong immunogenicity of a Chinese isolate of *Eimeria magna* Pérard, 1925. *Parasitology International*, 66(3): 207-209. DOI: 10.1016/j.parint.2017.01.014

González-Redondo P, Finzi A, Negretti P and Micci M (2008) Incidence of coccidiosis in different rabbit keeping systems. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(5): 1267-1270. DOI: 10.1590/S0102-09352008000500034

HennebM and Aissi M (2013). Etude cinétique de l'excrétion oocystale chez la lapine et sa descendance et identification des différentes espèces de coccidies. 15^{ème} Journée de la Recherche Cunicole, 19-20 novembre. Le Mans, France : 221-224.

Jing F, Yin GW, Liu XY, Suo X and QinYH (2012). Large-scale survey of the prevalence of *Eimeria* infections in domestic rabbits in China. *Parasitology Research*, 110(4):1495–1500. DOI: 10.1007/s00436-011-2653-4

Licois D, Coudert P, Drouet-Viard F and BoivinM (1995). *Eimeria magna*: pathogenicity, immunogenicity and selection of a precocious line. *Veterinary Parasitology*, 60: 27-35. [DOI.org/10.1016/0304-4017\(94\)00768-8](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)00768-8)

Maziz-Bettahar S, Aissi M, Ainbaziz H, Bachene MS, Zenia S and Ghisani F(2018). Prevalence of coccidian infection in rabbit farms in North Algeria. *Veterinary World*; EISSN 2231-0916, 1569- 1573. DOI: 10.14202/vetworld.2018.1569-1573

Okumu PO, Gathumbi PK, Karanja DN, Mande JD, Wanyoike MM, Gachuri CK, Kiarie N, Mwanza RN and Bortor DK (2014). Prevalence, pathology and risk factors for coccidiosis in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in selected regions in Kenya. *Veterinary Quarterly*, 34(4): 205-210. [DOI.org/10.1080/01652176.2014.978044](https://doi.org/10.1080/01652176.2014.978044)

Etude 1 : Prévalence de la coccidiose cunicole à Médéa, Algérie.

Pakandl M and Hlálková L (2007). Reproduction of *Eimeriaflavescens* and *Eimeriaintestinalis* in suckling rabbits. *Parasitology Research*, 101 (5): 1435-1437. DOI: [10.1007/s00436-007-0646-0](https://doi.org/10.1007/s00436-007-0646-0)

Pakandl M, Hlaskova L, Poplstein M, Chroma M, Vodicka T, Salat J and Mucksova J (2008). Dependence of the immune response to coccidiosis on the age of rabbit suckling. *Parasitology Research*, 103(6):1265–1271. DOI: [10.1007/s00436-008-1123-0](https://doi.org/10.1007/s00436-008-1123-0)

Pakandl M (2009). Coccidia of rabbit: a review. *Folia Parasitologica*, 56(3): 153–166. DOI: [10.14411/fp.2009.019](https://doi.org/10.14411/fp.2009.019)

Papeschi C, Fichi G and Perrucci S (2013). Oocyst excretion pattern of three intestinal *Eimeria* species in female rabbits. *World Rabbit Science*, 21 (2): 77-83. DOI: [10.4995/wrs.2013.1235](https://doi.org/10.4995/wrs.2013.1235)

Schlolaut W, Hudson R and Rödel HG (2013). Impact of rearing management on health in domestic rabbits: A review. *World Rabbit Science*, 21(3): 145-159. DOI: [10.4995/wrs.2013.1029](https://doi.org/10.4995/wrs.2013.1029)

Yin G, Goraya MU, Huang J, Suo X, Huang Z, and Liu X (2016). Survey of coccidial infection of rabbits in Sichuan Province, Southwest China. *SpringerPlus*, 5:87. DOI: [10.1186/s40064-016-2586-6](https://doi.org/10.1186/s40064-016-2586-6)

ETUDE 02

PATHOGENICITE DE LA SOUCHE SAUVAGE
ALGERIENNE D'*EIMERIA MAGNA*

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

MOHAMED SADEK BACHENE^{*,a,b}, SORAYA TEMIM^a, HASSINA AINBAZIZ^a, ASMA BACHENE^b, XUN SUO^c

^a Laboratoire santé et production animales. Ecole Nationale Vétérinaire Supérieure BP 161, Alger, Algérie.

^b Département des sciences de la nature et de la vie, Faculté des sciences, Université Dr Yahia Fares, Médéa, Algérie.

^c Laboratoire national d'animaux et des protozoaires, Collège de médecine vétérinaire, université d'agriculture de Chine, Pékin 100093, Chine.

* **Auteur correspondant:** Département des sciences de la nature et de la vie, Faculté des sciences, Université Dr Yahia Farès, Médéa, Algérie. **Tel:** +213541282087. **Email:** bmsouzra@yahoo.fr

Introduction :

La coccidiose est causée par des parasites protozoaires intracellulaires du genre *Eimeria* et entraîne une mortalité importante chez les lapins domestiques. Les jeunes lapereaux sont les plus susceptibles; Cependant, les adultes infestés deviennent porteurs de la maladie et source d'infestation. La maladie apparaît le plus souvent dans les établissements d'élevage où l'hygiène est médiocre [7,10].

Deux types de coccidiose, intestinale et hépatique, sont décrits chez le lapin. La coccidiose hépatique est causée par *Eimeria stiedae*. Les foies affectés sont élargis et les voies biliaires dilatées. Les lésions macroscopiques primaires du foie sont représentées par des nodules blancs observés à la surface [4]. Les espèces d'*Eimeria* causant la coccidiose intestinale peuvent être classées en trois types lorsque des paramètres cliniques tels que le gain de poids, la diarrhée et la mortalité sont pris en compte [10]. Celles-ci sont les espèces non pathogènes à légèrement pathogènes (*Eimeria media*, *Eimeria exigua*, *Eimeria perforans*, *Eimeria coecicola*), les espèces modérément pathogènes (*Eimeria irrisidua*, *Eimeria magna*, *Eimeria piriformis*) et les espèces très pathogènes (*Eimeria intestinalis*, *Eimeria flavescens*) [10]. L'atrophie villositaire consécutive entraîne une malabsorption des nutriments, un déséquilibre électrolytique, une anémie, une hypoprotéinémie et une déshydratation [10].

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

Eimeria magna est l'une des coccidies les plus courantes dans les élevages intensifs de lapins [11]. La pathologie consécutive entraîne des pertes économiques importantes: diminution du gain de poids chez les lapereaux en croissance et, dans certains cas, diarrhée et mort. Cette maladie concerne principalement les lapins sevrés (âgés de 5 à 6 semaines) qui ne sont pas protégés par l'immunité acquise de leur mère [5,6,7].

Seulement quelques études ont été publiées sur la coccidiose chez le lapin en Algérie [8, 1, 2, 9]. Ce travail représente une étude complémentaire à celle de Bachene et al. (2014) où l'expérience a été répétée avec un plus grand nombre de lapins afin d'étudier le pouvoir pathogène de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna* aux niveaux parasitologique et nécropsique.

Matériel et méthodes :

Souche sauvage d'*Eimeria magna* :

La souche sauvage d'*E.magna* a été isolée en 2014 à partir d'un mélange de différentes espèces algériennes. Des oocystes uniques d'*E. Magna* ont été sélectionnés et chacun a été administré à des lapins indemnes de coccidies. Tous les oocystes récupérés après multiplication chez ces animaux ont été rassemblés pour former la souche sauvage d'*E. magna* et conservés dans une solution de Bichromate de potassium à 2,5% à 4 ° C.

Animaux et conduite expérimentale :

Des lapins âgés de cinq semaines et exempts de coccidies, élevés dans des conditions spécifiques indemnes d'agents pathogènes [3] ont été utilisés. Tous les lapins ont été sevrés à 25 jours. Quarante lapins ont été distribués, deux par cage. Quatre groupes ont été constitués à l'âge de 35 jours: un groupe inoculé avec une dose de 10^4 oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E. Magna* (D10), un groupe inoculé avec une dose de $2,5 \times 10^4$ oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E. Magna* (D25), un groupe inoculé avec une dose de 5×10^4 oocystes sporulés de la souche sauvage d'*E. magna* (D50) et un groupe témoin. Les crottes ont été collectées quotidiennement dans chaque groupe et soumises à une analyse parasitologique selon Coudert et al. (1995). Quatre autres lapins ont été utilisés pour l'anatomopathologie (inoculés à 35 jours: D10, D25, D50 et le témoin). Ils ont été sacrifiés à l'âge de 45 jours pour étudier les éventuelles anomalies anatomiques et histologiques. Le tube digestif a été examiné macroscopiquement afin de rechercher des hémorragies ou des lésions anatomiques. Des

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

échantillons prélevés sur le jéjunum et l'iléum ont été identifiés et fixés dans une solution de formol à 10% pendant 24 h et ont fait l'objet d'une étude histopathologique.

Analyse statistique :

L'analyse statistique a été réalisée par des comparaisons multiples post hoc ANOVA à l'aide du logiciel SPSS 17.0. L'excrétion oocystale et les poids moyens par unité de temps chez les quatre groupes étudiés ont été comparées et la différence entre les groupes a été considérée comme statistiquement significative lorsque les valeurs de p étaient inférieures à 0,05.

Résultats :

Taux de multiplication et courbe d'excrétion :

Les premiers oocystes ont été détectés dans les crottes sept jours après l'inoculation. Le pic d'excrétion a eu lieu le neuvième jour après l'inoculation (figure 1).

Le nombre d'OPG maximal (pic au 9^{ème} jour post inoculation) ainsi que la production totale d'oocystes augmentent avec les doses d'inocula ($p < 0,05$).

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

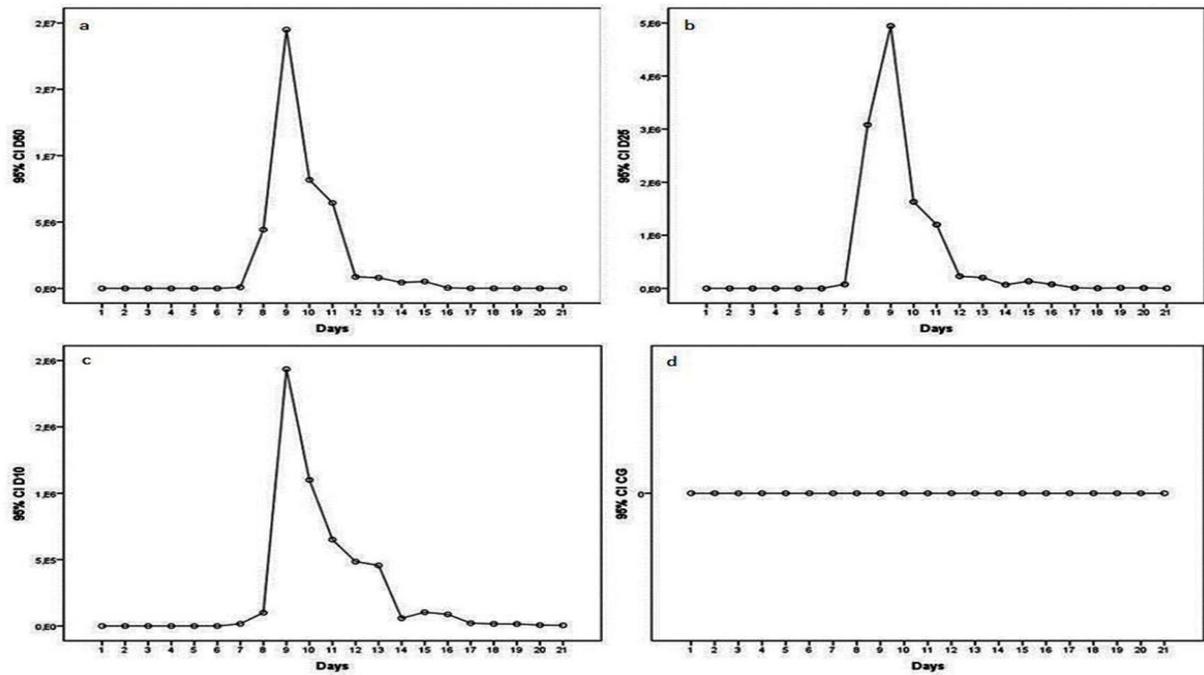


Figure-1: courbe d'excrétion des oocystes d'*Eimeria magna* chez les quatre groupes.

a: Courbe d'excrétion chez les lapereaux du groupe D50

b: Courbe d'excrétion chez les lapereaux du groupe D25

c: Courbe d'excrétion chez les lapereaux du groupe D10

d : Courbe d'excrétion chez les lapereaux du groupe témoin

Pathogénicité :

- Signes cliniques :

Aucun cas de mortalité n'a été observé chez les quatre groupes étudiés. Aucun cas de diarrhée n'a été noté dans le groupe témoin, mais cinq lapins du groupe D50, deux du groupe D25 et un lapin du groupe D10 ont présenté des signes de diarrhée légère sept jours après l'inoculation.

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

- Gain de poids :

Le groupe témoin a montré une croissance régulière tout au long de l'expérience. Une dépression significative liée à la dose dans la prise de poids ($p < 0,05$) a été observée au sixième jour après l'inoculation dans les trois autres groupes. (Figure 2, Tableau 1).

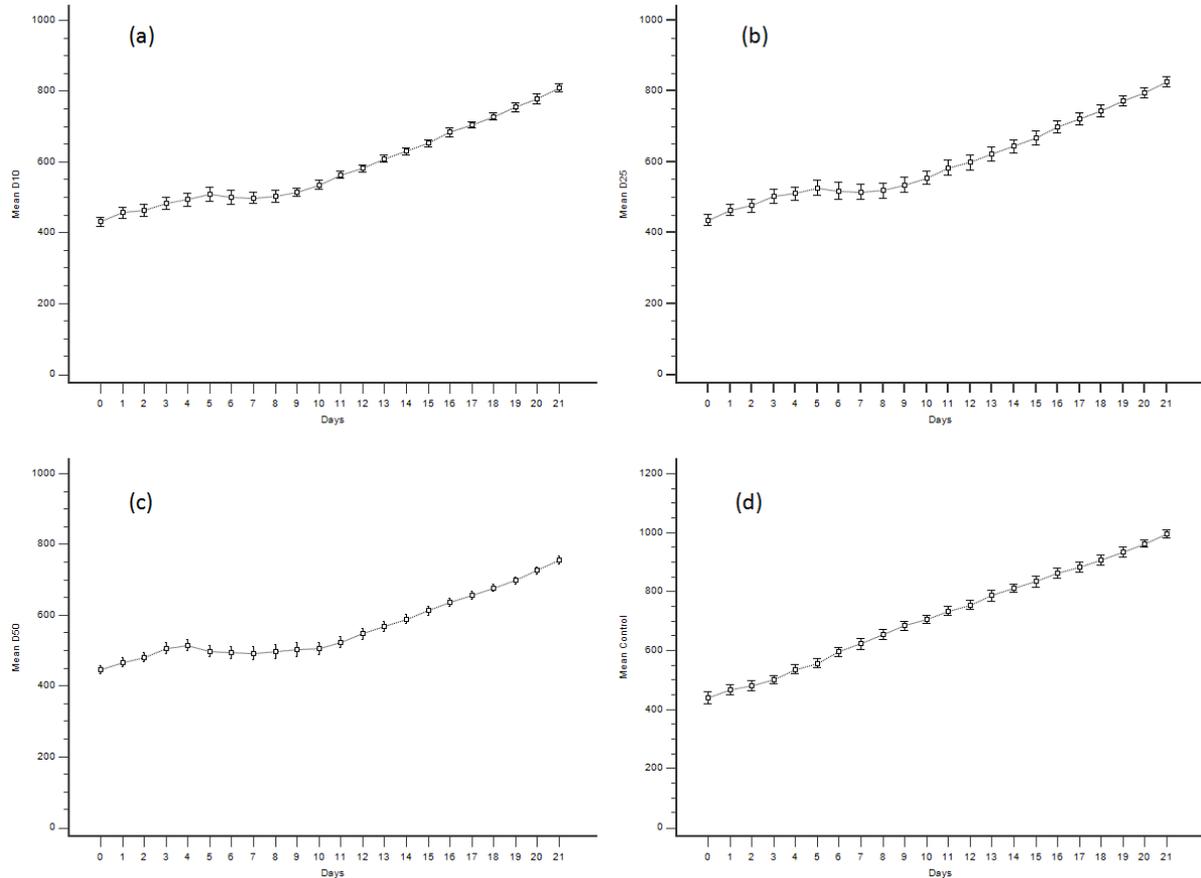


Figure-2: Poids moyens par unité de temps chez les quatre groupes.

a: Poids moyens par unité de temps chez les lapereaux du groupe D50

b: Poids moyens par unité de temps chez les lapereaux du groupe D25

c: Poids moyens par unité de temps chez les lapereaux du groupe D10

d: Poids moyens par unité de temps chez les lapereaux du groupe témoin.

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

Table- 1: Evolution des gains de poids chez les quatre groupes étudiés ± erreur standard.

Jours post inoculation	D50 (n = 10)	D25 (n = 10)	D10 (n = 10)	Témoin (n = 10)	Valeur <i>P</i>
Poids initiaux	446±5.31	431±5.76	436±6.61	441±8.93	0.451
03	20.1±0.72 ^a	17.3±0.66 ^b	22.3±1.11 ^{ab}	20.0±0.88 ^a	0.03
06	-03.8±0.43 ^a	05.9±0.82 ^b	04.9±1.31 ^b	31.0 ±0.89 ^c	<0.0001
09	02.3±1.19 ^a	04.5±1.68 ^a	05.6±1.08 ^a	29.6±1.31 ^b	< 0.0001
12	15.0±1.11 ^a	22.1±1.50 ^b	21.1±1.19 ^b	23.6±1.07 ^b	< 0.0001
15	22.1±1.11 ^a	23.8±0.5 ^{ab}	23.1±0.84 ^a	26.3±1.35 ^b	0.039
18	21.3±0.95 ^a	25.0±0.78 ^b	25.5±0.61 ^b	24.0±1.06 ^b	0.008
21	25.8±0.8 ^a	27.6±1.06 ^a	27.3±0.83 ^a	29.3±0.75 ^b	0.065
Poids finaux	755±4.77 ^a	810±5.13 ^{ab}	826±6.79 ^{ab}	994±6.09 ^b	< 0.0001

Notation: D50: lapereaux inoculés avec 5×10^4 d'oocystes sporulés d'*Eimeria magna*- D25:

lapereaux inoculés avec 2.5×10^4 d'oocystes sporulés d'*Eimeria magna* – D10: lapereaux

inoculés avec 10^4 d'oocystes sporulés d'*Eimeria magna*– Les différents indices supérieurs a,

b, c indiquent une différence significative ($p < 0,05$ ou plus) entre les groupes - n: nombre de

lapereaux par groupe.

Anatomopathologie :

Rien à signaler concernant l'examen macroscopique des prélèvements intestinaux ayant montré une apparence normale. L'étude microscopique des prélèvements histologiques du lapereau témoin a montré un aspect microscopique normal. L'observation microscopique des préparations histologiques des lapereaux inoculés (D10, D25 et D50) a révélé une infiltration inflammatoire associée à une atrophie villositaire dose-dépendante sur les sections jéjunales et iléales (Figure 3).

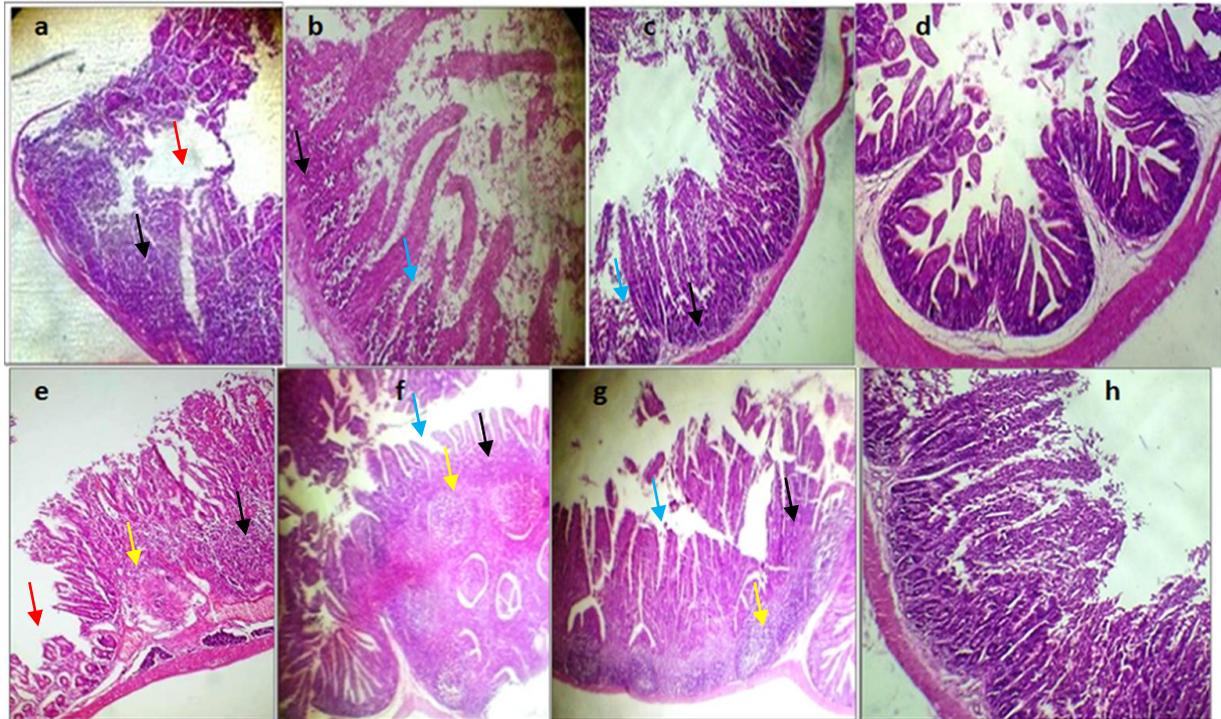


Figure-3: coupes histologiques au niveau jéjunal et iléal.

a: coupe histologique au niveau jéjunal chez le lapereau D50: infiltration inflammatoire, atrophie villositaire marquée avec destruction villositaire par endroit (HE x 100).

b: coupe histologique au niveau jéjunal chez le lapereau D25: infiltration inflammatoire et importante atrophie villositaire par endroit (HE x 100).

c: coupe histologique au niveau jéjunal chez le lapereau D10: infiltration inflammatoire avec atrophie villositaire par endroit (HE x 100).

d: coupe histologique au niveau jéjunal chez le lapereau témoin: aspect histologique sans particularité (HE x 40).

e: coupe histologique au niveau iléal chez le lapereau D50: infiltration inflammatoire, destruction villositaire par endroit and avec hyperplasie des plaques de Peyer (HE x 100).

f: coupe histologique au niveau iléal chez le lapereau D25: infiltration inflammatoire, atrophie villositaire marquée avec hyperplasie des plaques de Peyer (HE x 100).

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

g: coupe histologique au niveau iléal chez le lapereau D10: infiltration inflammatoire, atrophie villositaire avec hyperplasie des plaques de Peyer (HE x 100).

h: coupe histologique au niveau iléal chez le lapereau témoin: aspect histologique normal (HE x 100).

- Infiltration inflammatoire : flèche noire ↓
- Atrophie villositaire : flèche bleue ↓
- Destruction villositaire : flèche rouge ↓
- Hyperplasie des plaques de Peyer : flèche jaune ↓

Des coccidies à différents stades de développement ont été observées (Figure 4).

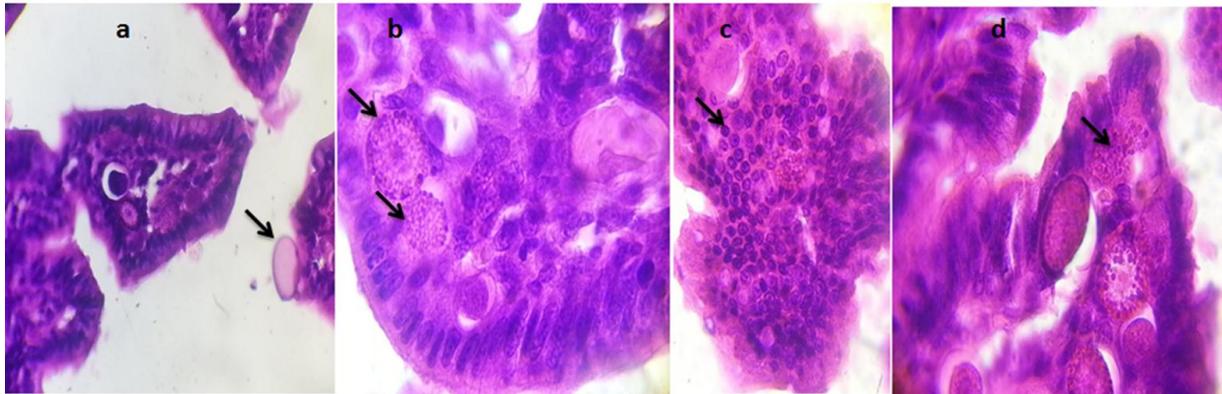


Figure-4: développement endogène et exogène d'*Eimeria magna*

a: Oocyste immature d'*Eimeria magna* (flèche).HE x 40.

b: Gamétocytes d'*Eimeria magna* (flèches). HE x 100.

c: Mérozoïtes d'*Eimeria magna* (flèche). HE x 100.

d: Mérozoïtes libérés d'un schizonte (flèche). HE x 100.

Le Tableau 2 représente une récapitulation de tous les résultats obtenus au cours de cette étude.

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

Table-2: Résultats montrant la pathogénicité d'*Eimeria magna*.

Groupes	D50 (n = 10)	D25 (n = 10)	D10 (n = 10)	Témoin (n = 10)
Réduction de poids / témoin	44.3%	31.3%	29.4%	/
Réduction de l'excrétion oocystale / D50	/	71.7%	87.8 %	/
Diarrhée	oui	oui	oui	non
Mortalité	non	non	non	non
Histopathologie	- infiltration inflammatoire - destruction villositaire par endroit	- Infiltration inflammatoire -Atrophie villositaire par endroit	- Infiltration inflammatoire -Atrophie villositaire par endroit	-RAS

Notation: D50: Lapereaux inoculés avec 5×10^4 d'oocystes sporulés d'*Eimeria magna*- D25: Lapereaux inoculés avec 2.5×10^4 d'oocystes sporulés d'*Eimeria magna* – D10: Lapereaux inoculés avec 10^4 d'oocystes sporulés d'*Eimeria magna*- RAS : Rien à signaler

Discussion :

La coccidiose est un problème majeur de santé chez les lapins. Cette étude visait à évaluer le pouvoir pathogène de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna* qui a été isolée en 2014 à partir d'élevages locaux de lapins.

Inoculée à des lapins indemnes de coccidies, cette souche a présenté une période prépatente de sept jours post inoculation et un pic d'excrétion au neuvième jour après l'inoculation, ce qui est en accord avec les résultats de Licois et al. (1995).

Au cours de l'expérience, l'excrétion oocystale a augmenté suivant les doses inoculées (D10, D25 et D50, $p < 0,05$), ce qui concorde avec les résultats rapportés par Licois et al. (1995) et Bachene et al. (2014).

Etude 2 : Pathogénicité de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna*

L'inoculation avec des doses croissantes de la souche sauvage d'*Eimeria magna* n'a pas entraîné de mortalité, mais elle a provoqué des diarrhées et des lésions histologiques dans tous les groupes faisant preuve de son pouvoir pathogène. De plus, une diminution significative des gains de poids ($p < 0,05$) dépendant de la dose d'inoculum a été notée. Ces résultats sont en accord avec ceux de Licois et al. (1995), Bachene et al. (2014) et Bachene et al. (2018).

Conclusion :

Outre les résultats de l'autopsie, le pouvoir pathogène de la souche sauvage d'*Eimeria magna* a été évalué à différentes doses (10^4 , $2,5 \times 10^4$ et 5×10^4 d'oocystes sporulés). La pathologie causée par ce parasite est relativement bénigne (pas de mortalité) mais est responsable de pertes économiques chez les lapins (perte de poids et croissance irrégulière), d'où l'importance de l'introduction d'un vaccin vivant atténué pour protéger les lapins contre la coccidiose.

Intérêts concurrents:

Les auteurs déclarent ne pas avoir d'intérêts concurrents.

Références

1. Bachene, M.S., Maziz-Betahar, S., Temim, S., Aissi, M., Ain Baziz H., 2014. Evaluation of the pathogenicity of *Eimeria Magna* in the rabbit of local population *Oryctolagus cuniculus* . *WASET. Animal and Veterinary Sciences* , 1,6 .
2. Bachene M.S., Temim S., Ainbaziz H., Bachene A. and Suo X., 2018. A vaccination trial with a precocious line of *Eimeria magna* in Algerian local rabbits *Oryctolagus cuniculus*. *Vet.parasitol.* 261 , 73–76
3. Coudert, P., Licois, D., Besnard, J., 1988. Establishment of a specified pathogen free breeding colony (SPF) without hysterectomy and hand-rearing procedures. *Proceedings of the 4th Congress of the WRSA*, 137–148.

4. Coudert, P., Licois, D., Drouet-Viard F., 1995. *Eimeria* species and strains of rabbits, In Biotechnology Guidelines on techniques in coccidiosis research. Eckert J. Braun R, Shirley MW, Coudert P, Sc, Eds. Luxembourg: European commission , 52-73.
5. Drouet-Viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997_a. Acquired protection of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) against coccidiosis using a precocious line of *Eimeria magna*: effect of vaccine dose and age at vaccination. *Vet. Parasitol.* 69, 197–201.
6. Drouet-Viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997_b. Vaccination against *Eimeria magna* coccidiosis using spray dispersion of precocious line oocysts in the nest box. *Vet. Parasitol.* 70, 61–66
7. Drouet-viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997_c. Vaccination trial against *Eimeria magna* coccidiosis using a precocious line. *World Rabbit. Sci.* 5 (2), 51–54.
8. Henneb, M., Aissi, M., 2013. Etude cinétique de l'excrétion oocystale chez la lapine et sa descendance et identification des différentes espèces de coccidies .15^{ème} Journée de la Recherche Cunicole, 19-20 novembre. Le Mans, France , 221-224.
9. Maziz-Bettahar S., Aissi M., Ainbaziz H., Bachene MS., Zenia S and Ghisani F., 2018. Prevalence of coccidian infection in rabbit farms in North Algeria. *Veterinary World* EISSN: 2231-0916 : 1569- 1573.
10. Pakandl, M., 2009. Coccidia of rabbit: a review . *Folia Parasitologica.*, 56,3, 153–166.
11. Peeters J.E., Geeroms R. and Halen P.H., 1988. Epidemiology of coccidiosis in commercial rabbits (1982-1987) and resistance against Robenidine. In Proc .: 4th World Rabbit Congress, 10-14 October, Budapest, Hungary, 1, 399-408

ETUDE 03

ESSAI DE VACCINATION PAR UNE SOUCHE
PRECOCE D'*EIMERIA MAGNA* CHEZ DES LAPINS
ALGERIENS DE RACE LOCALE *ORYCTOLOAGUS*
CUNICULUS

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'Eimeria magna chez des lapins algériens de race locale Oryctolagus cuniculus

Mohamed Sadek Bachene^{a,b} *, Soraya Temim^a, Hassina Ainbaziz^a, Asma Bachene^b, Xun Suo^c

a Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, BP 161, Alger, Algérie

b Département des sciences de la nature et de la vie, Université Dr YAHIA FARES, Médéa, Algérie

c Laboratoire National d'Animaux et des Protozoaires , Collège de médecine vétérinaire , Université d'agriculture de Chine, Pékin, 100093, Chine.

Résumé :

La coccidiose est un problème de santé majeur chez les lapins. Un vaccin à base d'oocystes d'*Eimeria* avec une sécurité et une efficacité parfaite semble être nécessaire pour faire face à cette parasitose. Pour évaluer la sécurité et l'efficacité d'un vaccin préparé avec une souche précoce algérienne d'*Eimeria magna* contre la coccidiose chez le lapin, 28 lapereaux issus de six femelles indemnes de coccidies ont été utilisés pour évaluer l'excrétion oocystale et les poids corporels, ils ont été répartis en quatre groupes (groupe vacciné - inoculé, groupe non vacciné à inoculation double, groupe non vacciné à inoculation simple et enfin un groupe témoin). Trois autres lapereaux indemnes de coccidies ont servi à la nécropsie afin de comparer l'effet des souches sauvages et précoces d'*Eimeria magna* au niveau histologique. Suite à l'inoculation d'épreuve, une diminution statistiquement significative d'environ 97% de l'excrétion d'oocystes a été observée chez les lapereaux vaccinés en signe d'une bonne réponse immunitaire acquise par la vaccination associée à une bonne croissance. En outre, une augmentation statistiquement significative de l'excrétion d'oocystes a été remarquée chez les groupes non vaccinés à inoculation double et simple : ($1,2 \times 10^8$ et $1,5 \times 10^8$ vs $4,6 \times 10^6$ oocystes / lapereau respectivement). En prenant le groupe témoin montrant une croissance régulière comme référence, les lapereaux vaccinés ont présenté une bonne croissance au cours de l'expérience ($p < 0,05$). Globalement, les groupes non vaccinés et inoculés ont présenté une croissance normale par rapport au groupe témoin, à l'exception d'une diminution temporaire du poids. Aucun cas de diarrhée n'a été enregistré dans le groupe vacciné et le groupe témoin (ni vacciné, ni inoculé), alors que plus de 50% des lapereaux relatifs aux groupes non vaccinés à inoculation simple et double ont présenté une diarrhée. En conséquence, la

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'Eimeria magna chez des lapins algériens de race locale Oryctolagus cuniculus

souche précoce algérienne d'*Eimeria magna* constitue un bon candidat pour le vaccin anticoccidien dans l'avenir.

Mots-clés : *Eimeria magna*- vaccination- inoculation d'épreuve – excrétion oocystale-coccidiose cunicole.

1. Introduction :

La coccidiose, une parasitose causée par des protozoaires du genre *Eimeria*, a un impact économique sur la volaille et le bétail, y compris les lapins (Pakandl, 2009). Les symptômes de la maladie incluent l'anorexie, la diarrhée, une perte de poids corporel, une faible conversion alimentaire et même le décès des lapereaux sevrés. Au niveau des élevages de lapins, l'administration de coccidiostatiques dans l'alimentation est la méthode la plus utilisée pour obtenir une prévention efficace de la maladie (Pakandl, 2009). Onze espèces d'*Eimeria* ont été identifiées comme agents pathogènes de la coccidiose chez le lapin (Coudert et al., 1995), parmi elles, *Eimeria magna* est reconnue comme une espèce faiblement à moyennement pathogène mais sachant sa fréquence élevée au niveau des élevages et l'émergence de souches résistantes à la robénidine, il semble important d'utiliser des souches précoces obtenues par la sélection de des premiers oocystes excrétés après plusieurs passages successifs comme stratégie immunoprophylactique (Licois et al., 1995; Pakandl, 2009). Lorsqu'elle est inoculée, la souche sauvage d'*Eimeria magna* est caractérisée par une période prépatente de 7 jours et un pic d'excrétion au 9^{ème} jour suivant l'infestation (Licois et al., 1995). Ce pathogène entraîne des pertes économiques considérables dues à la diminution des gain de poids, la diarrhée et même la mortalité. La coccidiose affecte principalement les jeunes lapereaux juste après le sevrage (âgés de 5 à 6 semaines) qui ne sont pas protégés par l'immunité acquise de leur mère, la prévention doit par conséquent être menée très tôt entre vingt et trente jours d'âge (Drouet- Viard et al., 1997_{a,b,c}).

En Algérie, très peu d'études ont porté sur la coccidiose touchant les lapins de race locale *Oryctolagus cuniculus*, Henneb et Aissi. (2013) ont montré qu'*Eimeria magna* est l'espèce la plus dominante au niveau des élevages cunicoles algériens avec une prévalence de 43%, Bachene et al. (2014) ont montré que la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna* (5×10^5 oocystes / animal) a entraîné une perte de poids de 35% par rapport au groupe témoin. Cette étude vise à évaluer la protection acquise par les lapereaux vaccinés en testant l'innocuité et l'efficacité de la souche précoce d'*Eimeria magna* qui a été isolée pour la première fois en

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'*Eimeria magna* chez des lapins algériens de race locale *Oryctolagus cuniculus*

Algérie dans l'espoir de l'utiliser comme vaccin atténué contre la coccidiose cunicole dans ce pays.

2. Matériel et méthodes :

2.1. Animaux :

Les trente et un lapereaux utilisés dans cette expérience étaient la progéniture de six femelles indemnes de Coccidies de la population locale élevées dans des conditions exemptes d'agents pathogènes telles que décrites par Coudert et al. (1988). L'administration des granulés supplémentée de Robénidine a été arrêtée 4 jours avant la vaccination. Les lapereaux étaient sevrés à 25 jours, parmi eux, 28 lapereaux ont été distribués en quatre groupes en fonction de leur poids initiaux afin d'avoir des poids homogènes à l'intérieur des groupes et même entre les groupes (groupe vacciné –inoculé (VCG), groupe non vacciné à inoculation double (DCG), groupe non vacciné à inoculation simple (SCG) et groupe témoin (CG, ni vacciné ni inoculé). Les trois lapereaux restants ont servis pour la nécropsie (vacciné, inoculé et témoin). Tous les lapereaux ont été nourris *ad libitum* avec un aliment commercial exempt de médicaments anti-coccidiens.

2.2. Parasites :

2.2.1. Souche précoce d'*Eimeria magna* :

La souche précoce d'*Eimeria magna* a été obtenue à partir de la souche sauvage correspondante par la sélection des premiers oocystes excrétés et ce après neuf passages chez des lapereaux indemnes de coccidies selon le protocole de Licois et al. (1990) (tableau 1). Cette souche a été conservée dans une solution de Bichromate de potassium à 2,5% à 4 ° C.

Tableau 1: Sélection de la souche précoce d'*Eimeria magna*.

Souche d'<i>E magna</i>	Inocula (nombre d'oocystes)	Temps requis pour la collection des premiers oocystes à partir du caecum (heures)
WS <i>E mag</i> 2014	10 ⁴ oocystes	168
S1	2 x 10 ⁴ oocystes	162
S2	3 x 10 ⁴ oocystes	156*
S3	10 ⁵ oocystes	126
S4	10 ⁵ oocystes	110**
S5	10 ⁵ oocystes	110
S6	10 ⁵ oocystes	110
S7	10 ⁵ oocystes	110
PS <i>E mag</i> 2016	10 ⁵ oocystes	110

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'*Eimeria magna* chez des lapins algériens de race locale *Oryctolagus cuniculus*

WS *E mag* 2014: souche sauvage d'*Eimeria magna* obtenue en 2014

PS *E mag* 2016: souche précoce d'*Eimeria magna* obtenue en 2016.

*: Premiers oocystes apparus contenant un large corps réfringent: souche précoce.

** : A partir de ce passage tous les oocystes sont typiques de la souche précoce (les sporocystes contiennent de larges corps réfringents).

2.2.2. Souche sauvage d'*Eimeria magna* :

La souche sauvage d'*Eimeria magna* a été isolée à partir d'un élevage de lapins de race locale, inoculée et purifiée chez des lapins indemnes de coccidies et conservée dans une solution de bichromate de potassium à 2,5% à 4 ° C.

2.3.Vaccination :

Huit lapereaux âgés de 25 jours: sept appartenant au groupe VCG et un servant à la nécropsie ont été vaccinés avec la souche précoce d'*Eimeria magna* ($3,5 \times 10^3$ oocystes / 0,2 ml).

2.4.Inoculation d'épreuve :

Les lapereaux vaccinés (VCG) ont été inoculés à l'âge de 36 jours avec la souche sauvage d'*Eimeria magna* (5×10^4 oocystes / 0,2 ml). Sept lapereaux appartenant au groupe non vacciné à inoculation double (DCG) ont tout d'abord été inoculés avec la souche sauvage d'*Eimeria magna* (2×10^4 oocystes / 0,2 ml) à 25 jours, puis ré-inoculés avec une dose plus élevée de la même souche sauvage (5×10^4 oocystes / 0,2 ml) à 36 jours. Sept lapereaux appartenant au groupe non vacciné à inoculation simple (SCG) ont été inoculés avec la souche sauvage d'*Eimeria magna* (5×10^4 oocystes / 0,2 ml) à l'âge de 36 jours. Enfin, un lapereau servant à la nécropsie a été inoculé avec 2×10^4 oocystes / 0,2 ml) à 25 jours.

2.5.Prélèvements et analyse parasitologique :

Les crottes des lapereaux ont été collectées quotidiennement à partir de chaque groupe (VCG, DCG, SCG et CG) du 2^{ème} jour après la vaccination au 21^{ème} jour après le deuxième challenge. La numération des oocystes a été effectuée comme décrit par Coudert et al. (1995).

2.6.Pesée des lapereaux :

Une pesée quotidienne des 28 lapereaux (VCG, DCG, SCG et CG) a été faite pendant 32 jours. Les animaux ont été examinés pour détecter une diarrhée ou une autre anomalie.

2.7. Anatomopathologie :

Trois lapereaux ont été utilisés pour la nécropsie, ils ont été mis dans des cages individuelles (vacciné, inoculé et témoin). Ils ont été sacrifiés à l'âge de 35 jours.

Le tube digestif a été examiné macroscopiquement afin de déceler des hémorragies ou des lésions anatomiques. Des prélèvements ont été réalisés au niveau du duodénum, du jéjunum et de l'iléum, identifiés et fixés dans une solution de formol à 10% pendant 24 h pour faire l'objet d'une étude histopathologique.

2.8. Analyse statistique :

L'analyse statistique a été réalisée par ANOVA post hoc à comparaisons multiples à l'aide du logiciel SPSS 17.0. L'excrétion oocystale et l'évolution des poids moyens par unités de temps entre les quatre groupes étudiés ont été comparées et la différence entre les groupes a été considérée comme statistiquement significative lorsque les valeurs de p étaient inférieures à 0,05.

3. Résultats et discussion :

3.1. Résultats :

3.1.1. Excrétion oocystale post- vaccination et inoculation d'épreuve :

Les lapereaux vaccinés ($3,5 \times 10^3$ oocystes / animal) ont multiplié la souche précoce d'*Eimeria magna* avec une excrétion de $2,5 \times 10^6 \pm 8 \times 10^4$ oocystes (tableau 2). Après l'inoculation d'épreuve (à l'âge de 48 jours), L'excrétion oocystale a diminué de manière significative avec un pourcentage de 96% et 97% par rapport au groupes non vaccinés à inoculation double et simple respectivement ($4,6 \times 10^6 \pm 1,6 \times 10^4$ oocystes vs $1,2 \times 10^8 \pm 3,3 \times 10^6$ et $1,5 \times 10^8 \pm 3,9 \times 10^6$ oocystes respectivement).

Les lapereaux non vaccinés à inoculation double âgés de 25 jours (2×10^4 oocystes / animal, puis 5×10^4 oocystes / animal 11 jours plus tard) ont excrété les oocystes d'*Eimeria* avec une production totale d'oocystes de $3,1 \times 10^6 \pm 1 \times 10^5$ après la première inoculation à l'âge de 36 jours et de $1,2 \times 10^8 \pm 3,3 \times 10^6$ après la deuxième inoculation à l'âge de 48 jours alors que les lapereaux non vaccinés à inoculation simple (5×10^4 oocystes / animal) ont excrété les oocystes d'*Eimeria* avec une production totale de $1,5 \times 10^8 \pm 3,9 \times 10^6$ à l'âge de 48 jours (tableau 2).

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'*Eimeria magna* chez des lapins algériens de race locale *Oryctolagus cuniculus*

Tableau 2: Excrétion totale d'oocystes après la vaccination et l'inoculation d'épreuve

Age des lapereaux (jours)	VCG (n=07)	DCG (n=07)	SCG (n=07)	CG (n=07)
25 jours	/	/	/	/
36 jours	$2.5 \times 10^{6a} \pm 8 \times 10^4$	$3.1 \times 10^{6a} \pm 1 \times 10^5$	/	/
48 jours	$4.6 \times 10^{6a} \pm 1.6 \times 10^4$	$1.2 \times 10^{8b} \pm 3.3 \times 10^6$	$1.5 \times 10^{8b} \pm 3.9 \times 10^6$	/
Pourcentage de réduction de l'excrétion oocystale des lapereaux VCG comparé aux lapereaux DCG et SCG	/	96.1%	97%	/

Notation: VG: groupe vacciné inoculé, DCG: groupe non vacciné à inoculation double, SCG: groupe non vacciné à inoculation simple, CG: groupe témoin, a, b, représentent une différence significative entre les groupes vacciné et inoculés ($p < 0.05$)

3.1.2. Poids moyens par unité de temps :

Le groupe témoin (ni vacciné ni inoculé) a montré une croissance régulière tout au long de l'expérience. Les lapereaux vaccinés ont montré une croissance **acceptable** pendant l'expérience par rapport au groupe témoin ($p < 0,05$). Les lapereaux appartenant aux groupes inoculés ont atteint un poids final normal par rapport au groupe témoin (Figure 1).

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'*Eimeria magna* chez des lapins algériens de race locale *Oryctolagus cuniculus*

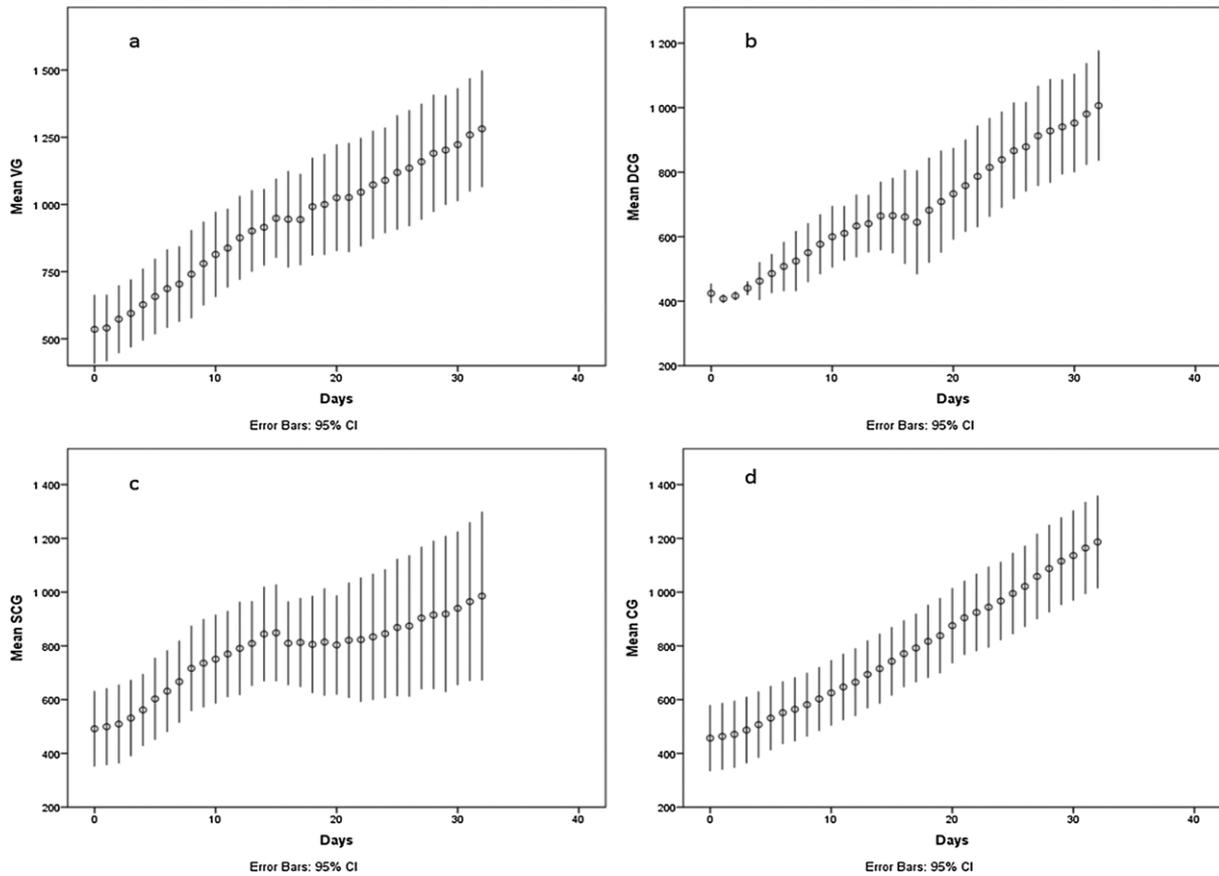


Figure 1: Poids moyens par unité de temps chez les quatre groupes étudiés.

- a: Poids moyens par unité de temps chez le groupe vacciné.
- b: Poids moyens par unité de temps chez le groupe non vacciné à inoculation double.
- c: Poids moyens par unité de temps chez le groupe non vacciné à inoculation simple.
- d: Poids moyen par unité de temps chez le groupe témoin.

Barres d'erreur IC 95%: Intervalle de confiance, une gamme de valeurs à 95% de confiance incluant la vraie moyenne.

3.1.3. Mortalité et signes cliniques :

Aucun cas de mortalité n'a été observé dans aucun groupe pendant la période de l'étude. Aucun cas de diarrhée n'a été observé chez le groupe vacciné ainsi que le groupe témoin, alors que certains cas de diarrhée ont été notés à la fois chez le groupe non vacciné à inoculation double et le groupe non vacciné à inoculation simple. Trois lapereaux appartenant au groupe non vacciné à inoculation double ont présenté la diarrhée du 7^{ème} au 10^{ème} jour suivant la première inoculation et deux autres ont présenté la diarrhée du 5^{ème} au 9^{ème} jour

suivant la deuxième inoculation. Concernant le groupe non vacciné à inoculation simple, la diarrhée a été notée chez 4 lapereaux du 5^{ème} au 10^{ème} jour après l'inoculation.

3.1.4. Anatomopathologie :

Rien à signaler à propos de l'examen macroscopique des prélèvements intestinaux ayant montré une apparence normale. L'étude microscopique des prélèvements histologiques du lapereau témoin a montré un aspect microscopique normal. L'observation microscopique des prélèvements histologiques relatifs au lapereau vacciné a révélé une infiltration inflammatoire folliculaire et une infiltration diffuse de plasmocytes et de lymphocytes sur les sections jéjunales, en plus d'une infiltration focale et diffuse de plasmocytes, de lymphocytes et de rares éosinophiles au niveau iléal. L'étude microscopique des préparations histologiques relatives au lapereau inoculé a révélé une infiltration principalement lymphocytaire au niveau folliculaire avec une atrophie villositaire dans certaines zones au niveau jéjunal. Une hyperplasie des plaques de Peyer a été observée sur les coupes iléales associée à une infiltration principalement lymphocytaire avec la présence de rares éosinophiles.

3.2. Discussion :

La souche précoce algérienne d'*Eimeria magna* a été obtenue en laboratoire à partir d'une souche sauvage isolée d'un élevage de lapins de race locale. C'est la première fois qu'une souche précoce d'*Eimeria cunicole* est isolée en Afrique du Nord dans le but de préparer un vaccin vivant atténué immunisant des lapins.

Après la vaccination, les lapereaux ont multiplié la souche précoce d'*Eimeria magna* sans exprimer la maladie, témoignant de sa viabilité et de l'atténuation de son pouvoir pathogène. En effet, cette souche a permis de protéger des lapereaux sevrés âgés de 25 jours contre l'inoculation d'épreuve (5×10^4 oocystes / animal, 11 jours après la vaccination) lorsque vaccinés à l'âge de 25 jours. Dans cette expérience, une dose de $3,5 \times 10^3$ d'oocystes de la souche précoce d'*Eimeria magna* / animal a conféré une partielle protection: diminution d'environ 97% de la production d'oocystes par rapport aux groupes non vaccinés, absence de mortalité ou de symptômes cliniques et une croissance régulière. Cependant, les groupes non vaccinés à inoculation simple et double ont multiplié la souche sauvage d'*Eimeria magna* tout en exprimant la maladie (diarrhée). Ce résultat montrant l'atténuation de la pathogénicité de la souche précoce d'*Eimeria magna* est globalement en accord avec les résultats de Licois et al. (1995) et Drouet-Viard et al. (1997_{a,b,c}).

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'Eimeria magna chez des lapins algériens de race locale Oryctolagus cuniculus

En ce qui concerne les résultats de la nécropsie, l'étude macroscopique des prélèvements des lapereaux vacciné, inoculé et témoin était sans particularités, mais l'étude microscopique a montré des infiltrations inflammatoires jéjunales et iléales dans les prélèvements relatifs aux lapereaux vacciné et inoculé similaires à l'observation d'Okumu et al. (2014). De plus, des éosinophiles ont été observés témoignant d'une réponse immunitaire anti-parasitaire. L'inflammation observée dans les coupes intestinales du lapereau inoculé était plus prononcée que dans les coupes intestinales du lapereau vacciné (atrophie villositaire et hyperplasie des plaques de Peyer) comme preuve de l'atténuation de la pathogénicité de la souche précoce d'*Eimeria magna* au niveau histologique.

4. Conclusion :

Outre les résultats de l'autopsie, l'innocuité de la souche précoce algérienne d'*Eimeria magna* a été démontrée, car elle se multipliait sans être virulente pour les jeunes lapereaux. D'autre part, son efficacité a été vérifiée par l'inoculation d'épreuve avec une souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna* donnant un résultat satisfaisant en termes de protection acquise conduisant à l'absence de mortalité et de pathologie, à une diminution de la production d'oocystes après l'inoculation d'épreuve et une croissance correcte. La vaccination semble être efficace lorsqu'elle est pratiquée dès l'âge de 25 jours, laissant ainsi aux jeunes lapereaux le temps de développer une immunité suffisante au sevrage. Ces résultats encourageants devraient nous permettre d'appliquer prochainement la vaccination à grande échelle sur les élevages cunicoles algériens.

Conflit d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêts.

Remerciements :

Les auteurs remercient M. X. SUO du Laboratoire National d'animaux et des Protozoaires, Collège de médecine vétérinaire, Chine pour le bon accueil et la précieuse assistance technique.

Cette recherche n'a reçu aucune subvention spécifique d'agences de financement des secteurs public, commercial ou à but non lucratif.

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'Eimeria magna chez des lapins algériens de race locale Oryctolagus cuniculus

Références :

- Bachene, M.S., Maziz-Betahar, S., Temim, S., Aissi, M., Ain Baziz, H., 2014. Evaluation of the pathogenicity of Eimeria Magna in the rabbit of local population Oryctolagus cuniculus. World Acad. Sci. Eng. Technol. Anim. Vet. Sci. 1 (6).
- Coudert, P., Licois, D., Besnard, J., 1988. Establishment of a specified pathogen free breeding colony (SPF) without hysterectomy and hand-rearing procedures. Proceedings of the 4th Congress of the World Rabbit Science Association. pp. 137–148.
- Coudert, P., Licois, D., Drouet-Viard, F., 1995. Eimeria species and strains of rabbits. In: Eckert, J., Braun, R., Shirley, M.W., Coudert, P, Sc (Eds.), Biotechnology Guidelines on Techniques in coccidiosis Research. European commission, Luxembourg, pp. 52–73.
- Drouet-viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997b. Vaccination trial against Eimeria magna coccidiosis using a precocious line. World Rabbit. Sci. 5 (2), 51–54.
- Drouet-viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997c. Acquired protection of the rabbit (Oryctolagus cuniculus) against coccidiosis using a precocious line of Eimeria magna: effect of vaccine dose and age at vaccination. Vet. Parasitol. 69, 197–201.
- Drouet-Viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997a. Vaccination against Eimeria magna coccidiosis using spray dispersion of precocious line oocysts in the nest box. Vet. Parasitol. 70, 61–66.
- Henneb, M., Aissi, M., 2013. Etude cinétique de l'excrétion oocystale chez la lapine et sa descendance et identification des différentes espèces de coccidies. 15^{ème} Journée de la Recherche Cunicole, 19-20 novembre 221–224.
- Licois, D., Coudert, P., Boivin, M., Drouet-Viard, F., Provot, F., 1990. Selection and characterization of a precocious line of Eimeria intestinalis, an intestinal rabbit coccidium. Parasitol. Res. 76, 192–198.
- Licois, D., Coudert, P., Drouet-Viard, F., Boivin, M., 1995. Eimeria magna: pathogenicity, immunogenicity and selection of a precocious line. Vet. Parasitol. 60, 27–35.
- Okumu, P.O., Gathumbi, P.K., Karanja, D.N., Mande, J.D., Wanyoike, M.M., Gachuri, C.K., Kiarie, N., Mwanza, R.N., Borter, D.K., 2014. Prevalence, pathology and risk factors for coccidiosis in domestic rabbits (Oryctolagus cuniculus) in selected regions in Kenya. Vet. Q. 34 (4), 205–210.
- Pakandl, M., 2009. Coccidia of rabbit: a review. Folia Parasitol. 56 (3), 153–166.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

La coccidiose cunicole est une pathologie digestive majeure qui représente un frein pour la rentabilité des élevages sur le plan économique et sanitaire.

Au terme de cette étude la prévalence de la coccidiose chez les lapereaux de la wilaya de Médéa a été abordée car la connaissance des espèces d'*Eimeria* circulantes permettra d'évaluer le potentiel d'infestation et les programmes de contrôle, et donc de minimiser les pertes économiques causées par cette pathologie. En effet il s'est avéré que toutes les espèces d'*Eimeria* touchant le lapin (11 espèces) étaient bien présentes. *Eimeria magna* était l'espèce la plus dominante avec une prévalence de 47.6%.

Il s'est avéré donc utile de déterminer le pouvoir pathogène de la souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna* tant sur le plan parasitologique que nécropsique.

L'espèce sauvage d'*Eimeria magna* a été isolée en 2014 à partir d'un mélange de différentes espèces algériennes isolées d'un élevage cunicole algérien. Des oocystes uniques d'*E. Magna* ont été sélectionnés et chacun a été administré à des lapins indemnes de coccidies. Tous les oocystes récupérés après multiplication chez ces animaux ont été rassemblés pour former la souche sauvage d'*E. magna* et conservés dans une solution de bichromate de potassium à 2,5% à 4 ° C. Le pouvoir pathogène de la souche sauvage d'*Eimeria magna* a été évalué à différentes doses (1×10^4 , $2,5 \times 10^4$ et 5×10^4 d'oocystes sporulés).

Les résultats obtenus indiquent que la pathologie causée par ce parasite est relativement bénigne (pas de mortalité) mais est responsable de pertes économiques chez les lapins (perte de poids et croissance irrégulière), d'où l'importance de l'introduction d'un vaccin vivant atténué pour protéger les lapins contre la coccidiose.

Pour ce faire, la souche précoce d'*Eimeria magna* a été préparée à partir de la souche sauvage correspondante par la sélection des premiers oocystes excrétés et ce après neuf passages chez des lapins indemnes de coccidies.

Conclusion et perspectives

L'innocuité de la souche précoce algérienne d'*Eimeria magna* a été démontrée, car elle se multipliait sans être virulente pour le lapin tant sur le plan parasitologique que nécropsique. D'autre part, son efficacité a été vérifiée par l'inoculation d'épreuve avec une souche sauvage algérienne d'*Eimeria magna* donnant un résultat satisfaisant en termes de protection acquise conduisant à l'absence de mortalité et de pathologie, à une diminution de la production d'oocystes après l'inoculation d'épreuve et à une croissance correcte.

La vaccination semble être efficace lorsqu'elle est pratiquée dès l'âge de 25 jours, laissant ainsi aux jeunes lapins le temps de développer une immunité suffisante au sevrage. Ces résultats encourageants devraient nous permettre d'appliquer dans le prochain avenir la vaccination à grande échelle sur les élevages cynicoles algériens.

D'autres études sont attendues pour permettre la standardisation de la préparation des souches précoces et le contrôle de leur innocuité et efficacité.

REFERENCES

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

Abdel-Baki AAS. and Al-Quraishy S., 2013. «Prevalence of coccidia (*Eimeriaspp.*) infection in domestic rabbits, *Oryctolaguscuniculus*, in Riyadh, Saudi Arabia». Pakistan Journal of Zoology, 45(5): 1329-1333pp.

Abdeli M.et Mouloud Y., 2003. « Etude préliminaire de la coccidiose expérimentale du lapin de population locale (*Oryctolagus cuniculus*) ». Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'El-Harrach. Algérie .62p.

Abdelmadjit M.S., 1978. « Contribution a l'étude des coccidioses des petits ruminants en élevage traditionnel tchadien ». Thèse de doctorat en sciences vétérinaires. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires de Dakar. 117p.

Akpo Y., Kpodekon M.T., Djago Y., Licois D. et Youssao I.A.K., 2011_a. « Evaluation de l'innocuité des souches précoces de *Eimeria magna* et de *Eimeria media* issues du Bénin en vue de leur utilisation comme souches vaccinales ». Int. J. Biol. Chem. Sci. 5(4): 1682-1687pp.

Akpo Y., Kpodekon M.T., Djago Y., Licois D. et Youssao I.A.K., 2011_b. « Vaccination of rabbits against coccidiosis using precocious lines of *Eimeria magna* and *Eimeria media* in Benin». Veterinary Parasitology. 102 :1-4pp.

Al-Mathal I.M., 2008. « Hepatic Coccidiosis of the Domestic Rabbit *Oryctolagus cuniculus domesticus* L. in Saudi Arabia». World Journal of Zoology .3 (1): 30-35pp.

Anonyme 1., 1982. « Commission de l'O.I.E. pour l'étude des maladies aviaires ». *Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz.*1(3) :861-862pp.

Anonyme 2., 2002. OIE et OMSA: Office International des Epizootie et l'Organisation Mondiale de la Santé Animale. «Code zoosanitaire international : mammifères, oiseaux et abeilles».11^{ème} édition, 533p.

Anonyme 3., 2005. <http://biology.unm.edu/biology/coccidia/eimeriabiol.html>.27/03/2017

Augustine E.P.C., 2001. «a Cell: sporozoite interactions and invasion by apicomplexan parasites of the genus *Eimeria*». *Int J. Parasitol.* 31(1):1-8pp.

Références bibliographiques

Bachene M.S., 2012. « Contribution A L'étude De La Pathogénicité D'*Eimeria magna* Chez La Population Locale *Oryctolagus cuniculus* ». Mémoire de Magister en sciences vétérinaires. Option Elevage, Pathologie et Industrie des Animaux de Basse-cour. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'EL-Harrach , Alger.Algérie. 71p.

Bachene M.S., Maziz-Betahar S., Temim S, Aissi M. and AinBaziz H., 2014. «Evaluation of the pathogenicity of *Eimeria Magna* in the rabbit of local population *Oryctolagus cuniculus* ».WASET. Animal and Veterinary Sciences.1: 6 .

Bachene M.S., Temim S., Ainbaziz H., Bachene A. and Suo X., 2018. «A vaccination trial with a precocious line of *Eimeria magna* in Algerian local rabbits *Oryctolagus cuniculus*». Veterinary parasitology. 261: 73–76pp.

Balicka-Ramis A., Wróbel M. et Adadyńska K., 2014. « Epidemiology and economic benefits of treating rabbits coccidiosis in small farms from West Pomerania province, Poland». Annals of Parasitology . 60(4): 247–251pp.

Beyer T.V., Svezhova N.V. et Radchenko A.I ., 2002. « Parasitophorous vacuole: morphofunctional diversity in different coccidian genera (a short insight into the problem) ». *Cell. Biol. Int.* 26(10) : 861-871pp.

Bhat T.K., Jithendran K.P. et Kurade N.P., 1996. «Rabbit coccidiosis and its control: a review ». World Rabbit Science.4(1): 37-41pp.

Boucher S. et Nouaille L., 2002. « Maladies des lapins ».Edition France Agricole. 2^{ème} édition.271p.

Burgaud A., 2010. « La pathologie digestive du lapin en élevage rationnel ». Thèse de doctorat en sciences vétérinaires. École Nationale Vétérinaire D'Alfort. France.124p

Céré N., Licois D. et Humbert J.F., 1995. «Study of the inter- and intra-specific variation of *Eimeria* spp. from the rabbit using Random Amplified Polymorphic DNA». Parasitol. Res. 81:324–328pp.

Références bibliographiques

Céré N., Humbert J.F., Licois D., Corvione M., Afanassieff M. et Chanteloup N. 1996. «A new approach for the identification and the diagnosis of *Eimeria media* parasite of rabbit». Exp. Parasitol. 82: 132–138pp.

Clarence A.S. et Datus M. H., 1972. «Development of Gametocytes and Oocysts of *Eimeria magna* from Rabbits in Cell Culture». The Helminthological Society of Washington. 39 (1):114-117pp.

Coudert P., Licois D., Besnard J., 1988. « Establishment of a specified pathogen free breeding colony (SPF) without hysterectomy and hand-rearing procedures ». Proceedings of the 4th Congress of the WRSA: 137–148 pp.

Coudert P., Licois D. et Drouet-Viard F., 1995. « *Eimeria* species and strains of rabbits». In Biotechnology Guidelines on techniques in coccidiosis research. Eckert J. Braun R, Shirley MW, Coudert P, Sc, Eds. Luxembourg: European commission». 52-73pp.

Coudert P., Licois D. et Drouet-Viard F., 2003. « Pathologie Intestinale du Lapin : Coccidies et coccidioses ». Nouzilly: INRA.

Cox F.E.G., 2003. « Modern parasitology ». Edition Blackwell Science. 4^{ème} édition. 276p.

Cui P., Liu H., Fang S., Gu X., Wang P., Liu C., Tao G., Liu X et Xun Suo., 2017. « A new species of *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) from Californian rabbits in Hebei Province, China». Parasitology International: 1-14 pp.

Diouf J.N., 1993. «Etude taxonomique, ultrastructurale et biologique des coccidies (Protozoaires, Apicomplexes) parasites de poissons des cotes Sénégalaises ». Thèse de doctorat en biologie animale. Université de Dakar. Sénégal. 230p.

Drouet-Viard F., Coudert P., Roux C., Licois D. et Boivin M., 1996. « Etude de la résistance acquise par la lapine reproductrice immunisée avec une lignée précoce d'*Eimeria magna* et de sa transmission à sa portée ». *World Rabbit Science*. 4:159-153pp.

Références bibliographiques

Drouet-viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997a. « Acquired protection of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) against coccidiosis using a precocious line of *Eimeria magna*: effect of vaccine dose and age at vaccination». *Vet. Parasitol.* 69: 197–201pp.

Drouet-Viard F., Coudert P., Licois D. et Boivin M., 1997b. « Vaccination against *Eimeria magna* coccidiosis using spray dispersion of precocious line oocysts in the nest box». *Veterinary Parasitology.*70:61-66pp.

Drouet-viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997c. «Vaccination trial against *Eimeria magna* coccidiosis using a precocious line». *World Rabbit. Sci.* 5 (2): 51–54pp.

Eckert J., Taylor M., Licois D., Coudert P., Catchpole J. et Bucklar H., 1995. «Identification of *Eimeria* and *Isospora* Species and Strains. Morphological and biological characteristics». In: *Biotechnology Guidelines on Techniques in Coccidiosis Research.*. Office for official publications of the European communities. Luxembourg: 103-119pp.

El-Ghoneimy A. and El-Shahawy I., 2017.« Evaluation of amprolium and toltrazuril efficacy in controlling natural intestinal rabbit coccidiosis». *Iranian Journal of Veterinary Research.*18(3): 164-169 pp.

Farsi H. et Debbazi R., 2009. « Enquête sur la coccidiose chez le lapin dans la région du Zaccar et comparaison épidémiologique entre les deux versants de cette montagne ». Thèse de docteur vétérinaire. Université Saad Dahleb-Blida. Algérie. 48p.

Forse B., 1999.«Where there is no vet».Edition Karthala, 380p

Fortun-lamothe L. et Boullier S., 2007. «A review on the interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity. Possible ways to improve the health of rabbits livestock». *Science.*107: 1-18pp.

Geru T., Tuanyuan S., Xinming T., Donald W. D., Yunzhou W., Chao L., Jingxia S., Xiuling T., Xianyong L. et Xun S., 2017. «Transgenic *Eimeria magna* Pérard, 1925 Displays

Références bibliographiques

similar Parasitological Properties to the Wild-type strain and induces an exogenous Protein-specific immune response in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)». *Frontiers in Immunology*.8(2): 1-8pp.

González-Redondo P., Finzi A., Negretti P. and Micci M., 2008. « Incidence of coccidiosis in different rabbit keeping systems». *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 60(5): 1267-1270pp.

Grès V., Voza T., Chabaud A. et Landau I., 2003. « Coccidiosis Of The Wild Rabbit (*Oryctolagus Cuniculus*) In France». *Parasite* (10): 51-57pp.

Guaguere E., 1998. «Dermatologie du lapin, de la souris et du rat ». *Action Vétérinaire*.1453 : 25-30pp.

Guangwen Y., Mohsan U. G., Juhui H., Xun S., Zhijian H. et Xianyong L., 2016. «Survey of coccidial infection of rabbits in Sichuan Province, Southwest China ». *SpringerPlus* . 5:870p.

Hana A., Salasia S., Mangkoewidjojo S. et Kusindarto D.L., 2013. « Blood Profile of Rabbits Infected with *Eimeria magna* ». *Animal Production* .13(3):185-190pp.

Henneb M., 2011. « Contribution à l'étude de la coccidiose du lapin de population locale au niveau des wilaya de Bourmerdes et Tizi ousou ».Thèse de magistère en sciences vétérinaires. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El-Harrach Alger. Algérie. 70p.

Henneb M.et Aissi M., 2013. « Etude cinétique de l'excrétion oocystale chez la lapine et sa descendance et identification des différentes espèces de coccidies ». 15^{ème} Journée de la Recherche Cunicole. 19-20 novembre 2013. Le Mans, France : 221-224pp.

Jeurissen S.H., Janse E.M.et Vermeulen A.N., 1996. «*Eimeria tenella* infections in chickens : aspects of host-parasite interaction». *Vet. Immunol. Immunopathol*. 54: 231-238pp.

Références bibliographiques

Khelladi K. et Djouab W., 2009. «Prévalence de la coccidiose du lapin en station expérimentale ».Thèse de docteur en sciences vétérinaires .Université Saad Dahleb-Blida. Algérie .52p.

Jing F., Yin G.W., Liu X.Y., Suo X. and QinY.H., 2012. « Large-scale survey of the prevalence of *Eimeria* infections in domestic rabbits in China».Parasitology Research. 110(4):1495–1500pp.

Kowalik S. et Zahner H., 1999. « *Eimeria separata*: method for the excystation of sporozoites». *Parasitol Res.* 85(6): 496-499pp.

Kvíčerová J., Pakandl M.et Hypša V., 2008. «Phylogenetic relationships among *Eimeria* spp. (Apicomplexa, Eimeriidae) infecting rabbits: evolutionary significance of biological and morphological features». *Parasitology* 135: 443–452pp.

Lammler.G et Durr.U.,1967. «Zur therapie der darmkokzidiose des kaninctens mit formosulfathiazol ». *Berliner Munchener Tierarztliche Wochenschrift*,80(23),45-458 pp.

Lefèvre P.C., Blancou J. et Chermette R., 2003. «Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail : Europe et régions chaudes».Edition TEC et DOC. 764p.

Licois D., Coudert P., Boivin M., Drouet-Viard F.et Provot F., 1990. « Selection and characterization of a precocious line of *Eimeria intestinalis*, an intestinal rabbit coccidium». *Parasitol. Res.* 76 : 192-198pp.

Licois D., Coudert P., Drouet-Viard F.et Boivin M., 1995. « *Eimeria magna*: pathogenicity, immunogenicity and selection of a precocious line ». *Veterinary Parasitology* 60: 27-35pp.

Licois., 2004. « Domestic Rabbit Enteropathies ». INRA, UR86 BioAgresseurs, Santé, Environnement, 37380, Nouzilly, France. Proceedings - 8th World Rabbit Congress – September 7-10, 2004 .Puebla, Mexico.

Licois D., 2010. « Pathologie d'origine bactérienne et parasitaire chez le Lapin : Apports de la dernière décennie». *Cuniculture Magazine.* 37 : 40-42pp.

Références bibliographiques

Maziz-Bettahar S., Aissi M., Ainbaziz H., Bachene M.S., Zenia S. and Ghisani F., 2018. «Prevalence of coccidian infection in rabbit farms in North Algeria». *Veterinary World*; EISSN 2231-0916: 1569- 1573pp.

Mcdonald V.et Rose M.E., 1987. « *Eimeria tenella* and *Eimeria necatrix*: a third generation of schizogony is an obligatory part of the developmental cycle». *J. Parasitol.* 73(3): 617-622pp.

Mouafo A.N., Richard F.et Entzeroth R., 2000. «Observation of sutures in the oocyst wall of *Eimeria tenella* (Apicomplexa) ». *Parasitol. Res.*86 (12): 1015-1017pp.

Niepceron A., Brossier F. et Licois D., 2009.a « Invasion cellulaire *in vitro* comparée entre une souche sauvage et une souche précoce d' *Eimeria intestinalis* ». 13^{ème} journée de la recherche cunicole.17-18 Novembre 2009. INRA. UR 1282. IASP 37380. Nouzilly. Le Mans. France.

Niepceron A., Audinet-Pouvreau B., Garrido S. et Licois D., 2009.b « Développement d'un outil de diagnostic sensible (PCR) pour détecter spécifiquement *Eimeria intestinalis*». 13^{ème} journée de la recherche cunicole.17-18 Novembre 2009. INRA. UR 1282. IASP 37380. Nouzilly.Le Mans. France.

Okerman I., 1975. « Ziekten van konijnen ». *Fakulteit Diergeneeskunde Rijks-universiteit Gent*, 34-75.

Okumu P.O., Gathumbi P.K., Karanja D.N., Mande J.D., Wanyoike M.M., Gachuri C.K., Kiarie N., Mwanza R.N. et Borter D.K., 2014. « Prevalence, pathology and risk factors for coccidiosis in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in selected regions in Kenya». *Veterinary Quarterly*. DOI: 10.1080/01652176.2014.978044: 1-6pp.

Oncel T., Gulegen E., Senlik B. et Bakirci S., 2011. « Intestinal coccidiosis in Angora rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) caused by *Eimeria intestinalis*, *Eimeria perforans* and *Eimeria coecicola*». *YYU Veteriner Fakultesi Dergisi*. 22(1): 27-29pp.

Références bibliographiques

Pakandl, M., Cernik F. et Coudert P., 2003. « The rabbit coccidium *Eimeria flavescens*: an electron microscopic study of its life cycle». *Parasitol. Res.* 91(4): 304-311pp.

Pakandl M. and Hlásková L., 2007. « Reproduction of *Eimeria flavescens* and *Eimeria intestinalis* in suckling rabbits». *Parasitology Research.* 101 (5): 1435-1437pp.

Pakandl M., Hlásková L., Poplštejn M., Nevečeřalová M., Vodička T., Salát J. et Mucksová J., 2008. «Immune response to rabbit coccidiosis: a comparison between infections with *Eimeria flavescens* and *E. intestinalis*». *Folia Parasitologica* 55: 1–6pp.

Pakandl M., 2009. «Coccidia of rabbit: a review ». *Folia Parasitologica.* 56[3]: 153–166pp.

Papeschi C., Fichi G. et Perrucci S., 2013. « Oocyst excretion pattern of three intestinal *Eimeria* species in female rabbits». *World Rabbit Sci.* 21: 77-83pp.

Peeters J.E., Geeroms R. and Halen P.H., 1988. «Epidemiology of coccidiosis in commercial rabbits (1982-1987) and resistance against Robenidine». In Proc: 4th World Rabbit Congress, 10-14 October, Budapest, Hungary. 1 : 399-408pp.

Peeters J.E., Geeroms R. et Chow T.T., 1994. « Pathogenicity of six strains of *Eimeria magna*, *media* and *perforans* in weanling rabbits and anticoccidial effect of 1 ppm of Diclazuril». 6^{ème} journée de la recherche cunicole en France. INRA-ITAVI. La Rochelle 6-7 décembre : 99-104pp.

Renaux S., Quere P., Buzoni-Gatel D., Sewald B., Le Vern Y., Coudert P. et Drouet-Viard F., 2003. « Dynamics and responsiveness of T-lymphocytes in secondary lymphoid organs of rabbits developing immunity to *Eimeria intestinalis*». *Vet. Parasitol.* 110:181-95pp.

Références bibliographiques

Saoudi N., 2008. «Coccidioses et coccidies chez le lapin, Etude dans la region de Bejaia». Thèse de docteur en sciences vétérinaires. Université Saad Dahleb- Blida. Algérie.39p.

Schlolaut W., Hudson R. and Rödel H.G., 2013. « Impact of rearing management on health in domestic rabbits: A review». World Rabbit Science, 21(3): 145-159pp.

Scholtyssek E., 1973. « Ultrastructure, The Coccidia: *Eimeria Isospora*, *Toxoplasma*, and related genera» .Edition M. Hammond and P.L. Long.188p.

Shazly, M., Muborak M.B., AL-Rasheid K.A.S.B., AI-Ghamdy A.A.B. et Bashtar A.R.b., 2005. « Light and Electron Microscopic Studies of *Eimeria magna* Infecting the Domestic Rabbit, *Oryctolagus cuniculus* from Saudi Arabia. I. Asexual Developmental Cycles». *Saudi Journ of Biol Sci.*12(1) :1-10pp.

Streun A., Coudert P. et Rossi G.L., 1979. « Characterization of *Eimeria* species. II. Sequential morphologic study of the endogenous cycle of *Eimeria perforans*) in experimentally infected rabbits». *Z. Parasitenkd.*60: 37-53pp.

Tomley F.M., Bumstead J.M.et Billington K.J., 1996. «Molecular cloning and characterization of a novel acidic microneme protein (Etmic-2) from the apicomplexan protozoan parasite, *Eimeria tenella*». *Mol. Biochem. Parasitol.* 82(2): 271p

Tuanyuan S., Geru T., Guolian B., Jingxia S., Lili H., Yuan F. et Xun S., 2016. « Stable Transfection of *Eimeria intestinalis* and Investigation of Its Life Cycle, Reproduction and Immunogenicity». *Frontiers in Microbiology.* 807(7): 1-8pp.

Vadlejch J., Knižkova I., Makovcova K., Kunc P., Jankovska I., Janda K., Borkovcova M. et Langrova I., 2010. «Thermal profile of rabbits infected with *Eimeria intestinalis*». *Veterinary Parasitology* 171 : 343–345pp.

Valigurova A., Jirku M., Koudela B., Gelnar M., Modry D.et Slapeta, J., 2008. «Cryptosporidia: epicellular parasites embraced by the host cell membrane». *Int J Parasitol* 38: 913-922pp.

Références bibliographiques

Yin G., Goraya M.U., Huang J., Suo X., Huang Z., and Liu X., 2016. «Survey of coccidial infection of rabbits in Sichuan Province, Southwest China». SpringerPlus. 5:87.

ANNEXES

**11 espèces
de coccidies**



Eimeria flavescens



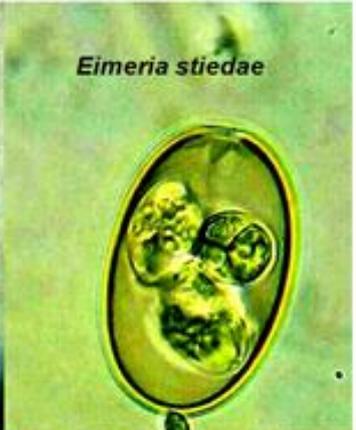
Eimeria ,coecicola



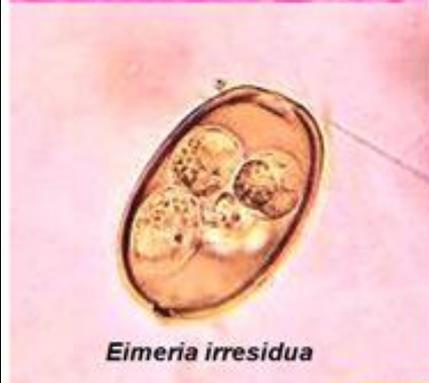
Eimeria exigua



Eimeria piriformis



Eimeria stiedae



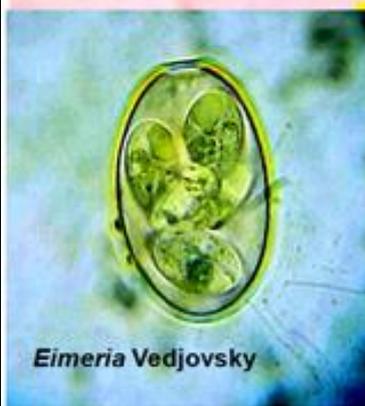
Eimeria irresidua



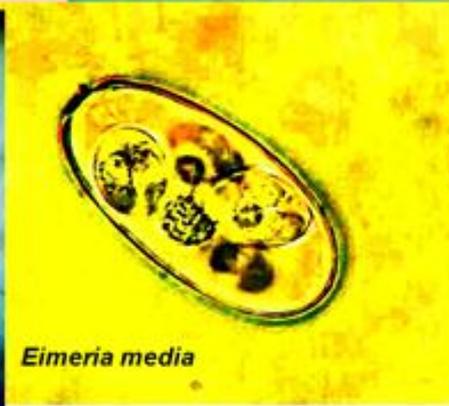
Eimeria intestinalis



Eimeria perforans



Eimeria Vedjovsky



Eimeria media



Eimeria magna

Animaux et conduite expérimentale

Des lapins âgés de cinq semaines et exempts de coccidies, élevés dans des conditions spécifiques indemnes d'agents pathogènes ont été utilisés

Tous les lapins ont été sevrés à 25 jours

40 lapins ont été distribués en quatre groupes à l'âge de 35 jours

	D10 n=(10+1)	D25 n=(10+1)	D50 n=(10+1)	CG n=(10+1)
Sevrage	25 jours	25 jours	25 jours	25 jours
35 jours/ inoculation	1×10^4	$2,5 \times 10^4$	5×10^4	/
45 jours sacrifice des 04 lapereaux	×	×	×	×

Etude 3 : Essai de vaccination par une souche précoce d'*Eimeria magna* chez des lapins Algériens de race locale *Oryctolagus cuniculus*

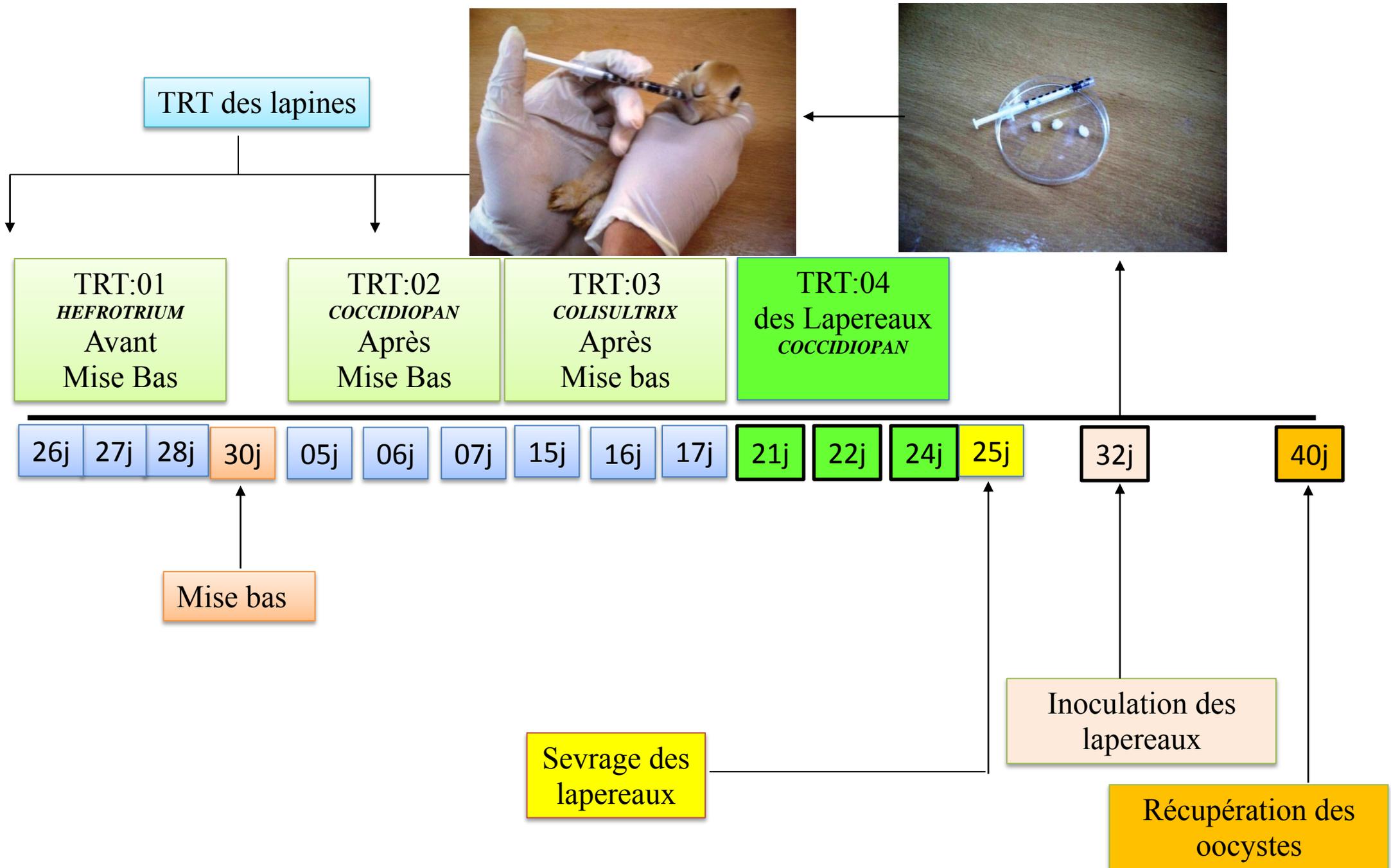
Matériel et méthodes :

Protocole de cette étude

	VCG n=(07+1)	DCG n=(07+1)	SCG n=(07)	CG n=(07+1)
Sevrage	25 jours	25 jours	25 jours	25 jours
	Vaccination à 25 j par la souche précoce d' <i>Eimeria magna</i> ($3,5 \times 10^3$ oocystes / 0,2 ml)	Inoculation à 25 j par la souche sauvage d' <i>Eimeria magna</i> (2×10^4 oocystes / 0,2 ml)		
Sacrifice à <u>35 jours</u>	×	×		×
<u>36 jours</u> /inoculation avec la souche sauvage d' <i>E magna</i> (5×10^4 oocystes / 0,2 ml)	×	×	×	

Les crottes des lapereaux ont été collectées quotidiennement à partir de chaque groupe (VCG,DCG, SCG et CG) du **2ème** jour après la vaccination au **21ème** jour après le deuxième challenge.

Production des lapins indemnes de coccidies / Multiplication du parasite





Prevalence of Rabbit Coccidia in Medea Province, Algeria

Mohamed Sadek Bachene^{*1,2}, Soraya Temim¹, Hassina Ainbaziz¹ and Asma Bachene²

¹Research of Animal Health and Production Laboratory, Higher National Veterinary School, BP 161, Rue Issad Abbas, OuedSmar, Algiers, Algeria

²Department of Nature and Life Sciences, DrYahiaFarès University, Médéa, Algeria

* Corresponding author's Email: bmsouzra@yahoo.fr; ORCID: [0000-0001-7192-8437](https://orcid.org/0000-0001-7192-8437)

ABSTRACT

Coccidiosis has an economic impact for poultry and livestock. The current study examined the prevalence of *Eimeria* infections in domestic rabbits in Medea province, North of Algeria. A total of 414 faecal samples were collected from 50 farms in six regions of the province. Each faecal sample was subjected to oocyst counting and isolation. The *Eimeria* species from samples containing isolated and sporulated oocysts were morphologically identified microscopically. The overall prevalence of coccidial infections was 47.6% (197/414). Weaners had the highest prevalence (77%, 77/100, $p < 0.0001$), followed by growing rabbits (46.8%, 30/64) and the adult rabbits showed the lowest prevalence (36 %, 18/50). In breeding rabbits, females were more infected with a prevalence of 40% ($p < 0.0001$). Eleven rabbit *Eimeria*'s species were present and identified from oocyst positive samples. *Eimeria magna* and *Eimeria media* were the most prevalent species (47.6% and 47.3%). Sulfonamides showed a better protection against rabbit coccidiosis than colistin and trimethoprim association ($p < 0.0001$, prevalence of 23.3% vs. 65.3% respectively). These results indicated that the prevalence of coccidiosis is high among the rabbit population in Medea province, North of Algeria. As a conclusion, it seems that the epidemiological situation of rabbit coccidiosis in Medea province must be taken into consideration in order to minimize the economic losses caused by this parasitosis.

Key words: *Eimeria*, *Oryctolagus cuniculus*, Rabbit, Sulfonamides

ORIGINAL ARTICLE
 pii: S2322-45681900016-9
 Received: 01 May 2019
 Accepted: 29 May 2019

INTRODUCTION

Coccidiosis is the major parasitosis in poultry and other domestic animals, including rabbits: *Oryctolagus cuniculus* (Pakandl, 2009; Geru et al., 2016). It is one of the most important infectious causes of digestive disorders in rabbits (Pakandl, 2009; Geru et al., 2016). This disease is caused by intercellular protozoa parasites of the genus *Eimeria* and can be responsible for significant mortality in domestic rabbits (Pakandl, 2009). The symptoms of the disease include anorexia, diarrhea, body weight loss, poor feed conversion and even death to weaning rabbits (Pakandl, 2009). Eleven distinct *Eimeria* species have been identified in rabbits. Among these species, ten colonise the intestinal tract, invading and destroying intestinal cells, and causing anaemia, electrolyte imbalance and poor absorption of nutrients (Pakandl, 2009). *Eimeria stiedae* infects the biliary ducts of the liver. Hepatic coccidiosis is most often subclinical, but it can be the cause of poor feed conversion (Al-Mathal, 2008; Pakandl, 2009). All domesticated rabbit breeds can be infected by coccidia, especially the younger animals between one and four months of age (Drouet-Viard et al., 1997a; González-Redondo et al., 2008; Bachene et al., 2014; Bachene et al., 2018). The identification of these coccidia is based on the morphological characteristics of the oocysts and the sporulation time (Coudert et al., 1995; Pakandl et al., 2008). The site of infection and clinical signs can also guide the identification of coccidian species (Pakandl et al., 2008). In Algeria, the epidemiological situation of rabbit coccidiosis is almost unknown, Henneb and Aissi (2013) reported the prevalence of coccidia in Eastern Algeria rabbit breeding: *Eimeria magna* (43%), *Eimeria stiedae* (23%), *Eimeria media* (19%), *Eimeria perforans* (9%), *Eimeria exigua* (3%) and *Eimeria coecicola* (3%) and Maziz-Bettahar et al. (2018) reported the prevalence of rabbit coccidial infection in three regions in the north of Algeria: *Eimeria magna* (42.5%), *Eimeria media* (17.6%) and *Eimeria irresidua* (14.9%).

The present study was undertaken in Medea, a Northern agricultural province of Algeria, first, to investigate the natural prevalence of coccidial infections in different rabbit farms according to age, sex as well as chemoprevention, and second, to identify *Eimeria* species present in these farms.

MATERIALS AND METHODS

Ethical approval

This work was approved by the scientific council of the Higher National Veterinary School of Algiers, Algeria.

Study area and selection of rabbitories

The study focused on the rabbit populations in Medea province, a Northern agricultural province of Algeria (Figure 1). This province is located 36.26 latitude, 2.75 longitude and 910 meters above sea level. It has an average annual temperature of 14.4 °C and an average annual rainfall of 736 mm. A total of 414 faecal samples were collected randomly (random numbers table method) from apparently healthy animals of 50 rabbit breeding farms of six regions in this province (Figure 1). Faeces were collected from 21291 rabbits in order to test the presence of oocysts. These rabbits included 15923 weaners (1 to 3 months old), 782 growing rabbits (3 to 6 months old), 502 adult rabbits (older than 6 months) and 4084 breeding rabbits including 585 males and 3499 does.

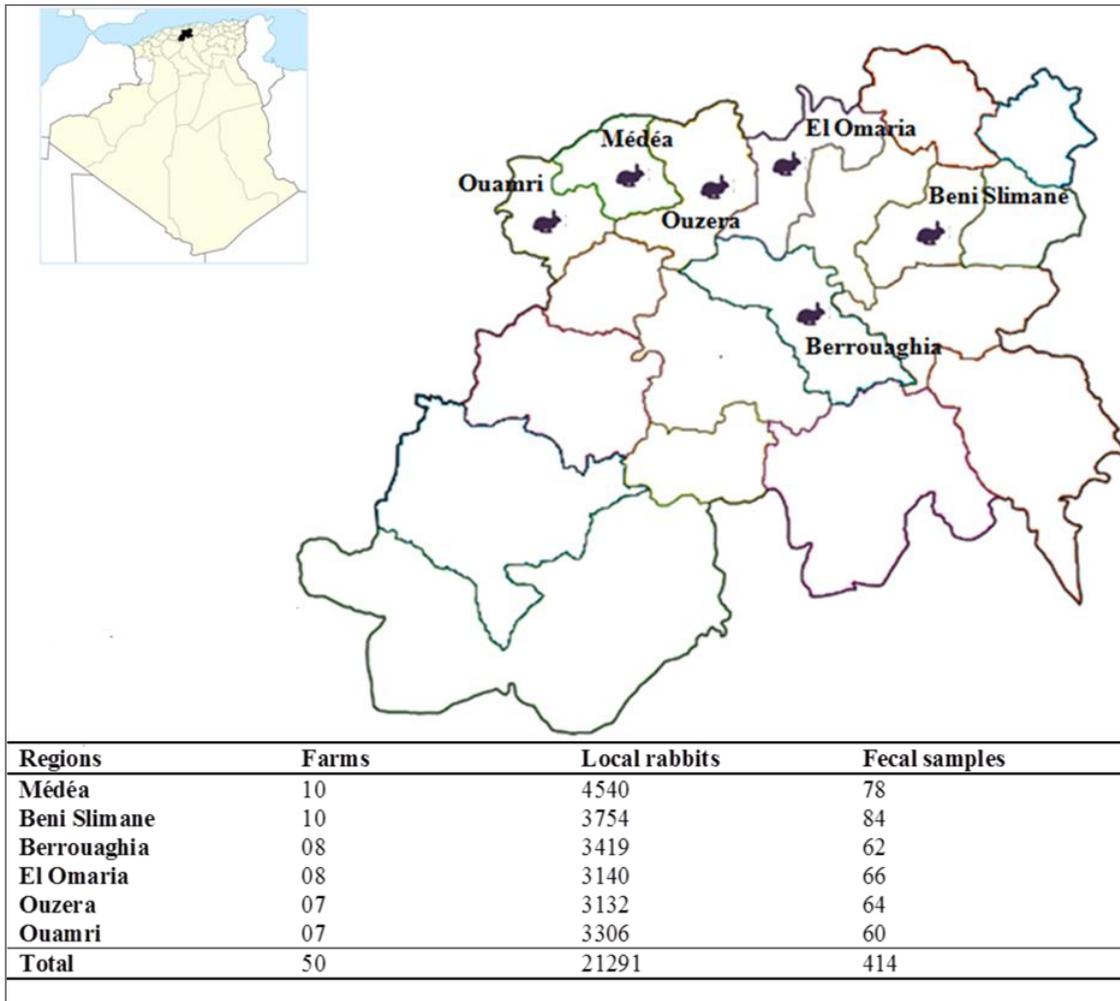


Figure 1. A map of Medea's province, Algeria showing the selected regions and the number of farms of local rabbits breed and fecal samples

Fecal sampling and parasitological analysis

From each class (weaners /growing/ adults/ breeding males/ breeding females), 500 g of fresh faecal pellets were collected as one sample. After homogenization, 300g of each sample were mixed in 1500 ml of water, and then 40g of the mixture were put into 60 ml of saturated magnesium sulfate ($MgSO_4$) solution (Coudert et al., 1995). The suspension was then emptied into a modified McMaster chamber to check the oocysts, and the Oocyst Per Gram (OPG) was calculated to estimate the degree of infection (Coudert et al., 1995). The limitation of detection value was set as 200 oocysts per gram faecal sample. Purified oocysts were sporulated in a shaker and diluted into a 2.5 % potassium dichromate solution at 28 °C for seven days to ensure good aeration. Concentrated oocysts in each sample were identified based on their sizes and morphological characteristics using a microscope equipped with a camera connected to a computer. To ensure that species identification is valid, at least 100 sporulated oocysts from each species were observed and measured according to Coudert et al. (1995) method.

Statistical analysis

Prevalence of rabbit coccidiosis according to age, sex, chemoprevention, *Eimeria's* species and regions was calculated using SPSS (version 17 package) and analysed by Chi square test, and a value of $p < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

Prevalence of coccidial infection in rabbits of Medea province

A total of 414 samples were collected and analysed. Overall, coccidian oocysts of *Eimeria* were found in 197 of 414 faecal samples (46.7 %) obtained from six regions of Medea Province, Algeria. The prevalence of coccidian oocysts in these regions ranged from 34.4% to 59.5 % (Table 2). Benislimane region had the highest prevalence (59.5 %) and Ouzera region had the lowest prevalence (34.4 %). Weanling rabbits were the most infected with a prevalence of 77%, followed by growing and adult rabbits with prevalence of 46.8% and 36% respectively (differences were statistically significant, $P < 0.0001$). Concerning breeding rabbits, females were more infected with a prevalence of 40% (Table 1).

Eimeria's species identification results

The morphological identification of *Eimeria* oocysts revealed the presence of the eleven known species of rabbits' *Eimeria*. *E. magna* and *E. media* were the most prevalent species (47.6 % and 47.3%, $p < 0.0001$), followed in order by *E. stiedae*, *E. exigua*, *E. coecicola*, *E. flavescens*, *E. perforans*, *E. piriformis*, *E. vej dovskyi*, *E. irresidua* and *E. intestinalis* with prevalence of 43%, 36.2%, 21.7%, 20.8%, 20.5%, 17.9%, 12.8%, 11.1% and 8.7 %, respectively. (Table 3). *E. magna* and *E. media* were most prevalent in Bensilimane and Ouzera respectively (Table 4).

Prevalence of coccidial infection in rabbits according to chemo-prevention

All of the 50 farms used anticoccidials to their rabbits for coccidiosis prevention, but 11 farms did not provide us the kinds of anticoccidials that they had used (Table 5). Colistine+Trimethoprim association (COLISULTRIX) and Sulfaquinoxaline sodium + Sulfadiazine sodium association (COCCIDIOPAN) are the most frequently used drugs in these farms. In farms using Colistine+Trimethoprim association, oocysts were found in 65.3% (98/150) of faecal samples compared to 23.3% (41/176) for those using Sulfaquinoxaline sodium + Sulfadiazine sodium association ($p < 0.0001$).

Table 1. Prevalence and intensity of coccidial infection in local rabbits breed according to age and sex in Medea province, Algeria

Rabbit classes	Examined no	Positive no	Prevalence %	OPG	χ^2	P value
Weanling	100	77	77.0	[9×10^2 - 1.5×10^6]	56.4	<0.0001
Growing	64	30	46.8	[1.2×10^2 - 9×10^5]		
Adults	50	18	36.0	[7×10^2 - 3×10^5]		
Breeding male	100	32	32.0	[8×10^2 - 9×10^4]		
Breeding female	100	40	40.0	[1.3×10^2 - 1.2×10^5]		

Examined no: number of fecal samples analyzed, OPG: Oocyst per gram counting

Table 2. Prevalence and intensity of coccidial infection in local rabbits breed in different regions of Medea province, Algeria

Examined regions	Examined no	Positive no	Prevalence %	OPG	χ^2	P value
Benislimane	84	50	59.5	[8×10^2 - 4.5×10^4]	15.3	P=0.0089
Medea	78	37	47.4	[9×10^2 - 1.1×10^6]		
Berouaghia	62	36	58.1	[1×10^3 - 1.5×10^6]		
El Omaria	66	24	36.4	[7×10^2 - 2.6×10^4]		
Ouzera	64	22	34.4	[9×10^2 - 2.6×10^4]		
Ouamri	60	28	46.7	[9×10^2 - 5.9×10^4]		

Examined no: number of fecal samples analyzed, OPG: Oocyst per gram counting

Table 3. Prevalence of faecal samples infected with coccidia species in local rabbits breed in Medea province, Algeria

Species	Positive no	Prevalence %	OPG	χ^2	P value
<i>E. exigua</i>	150	36.2	[0 - 9.7×10^4]	650.7	<0.0001
<i>E. perforans</i>	85	20.5	[0 - 4.6×10^4]		
<i>E. piriformis</i>	74	17.9	[0 - 8.1×10^3]		
<i>E. flavescens</i>	86	20.8	[0 - 1.4×10^5]		
<i>E. irresidua</i>	46	11.1	[0 - 1.1×10^4]		
<i>E. stiedae</i>	178	43.0	[0 - 4.2×10^5]		
<i>E. intestinalis</i>	36	8.7	[0 - 5.2×10^4]		
<i>E. media</i>	196	47.3	[0 - 4.3×10^5]		
<i>E. vej dovskyi</i>	53	12.8	[0 - 1.5×10^5]		
<i>E. coecicola</i>	90	21.7	[0 - 2.2×10^4]		
<i>E. magna</i>	197	47.6	[2.5×10^2 - 5.9×10^5]		

Examined no: number of fecal samples analyzed, OPG: Oocyst per gram counting

Table 4. Percentage of faecal samples infected with coccidia species in local rabbits breed in Medea province, Algeria

<i>Eimeria</i> species	Medea (n=37)	Benislimane (n=50)	Berouaghia (n=36)	El Omaria (n=24)	Ouzera (n=22)	Ouamri (n=28)
<i>E. exigua</i>	7.16%	8.74%	4.58%	4.13%	8.82%	8.21%
<i>E. perforans</i>	4.19%	0.98%	3.94%	5.17%	0.68%	2.64%
<i>E. piriformis</i>	3.11%	3.46%	2.56%	3.21%	2.32%	1.96%
<i>E. flavescens</i>	1.7%	3.58%	3.92%	3.21%	5.77%	4.11%
<i>E. irresidua</i>	1.03%	0.76%	0.67%	1.5%	2%	1.86%
<i>E. stiedae</i>	17.84%	14.04%	12.92%	7.29%	10.14%	18.82%
<i>E. intestinalis</i>	0.81%	2.46%	3.14%	0.75%	0.64%	0.79%
<i>E. media</i>	18.43%	18.44%	21.83%	24.21%	30.14%	18.32%
<i>E. vejnovskyi</i>	1.41%	0.76%	1.72%	1.63%	1.41%	1.04%
<i>E. coecicola</i>	2.59%	3.14%	3.72%	6.21%	2.95%	3.71%
<i>E. magna</i>	41.73%	43.64%	41%	42.71%	35.14%	38.54%

n: positive fecal samples

Table 5. Prevalence of local rabbits breed coccidial infection on farms according to the anticoccidial used in Medea province, Algeria

Anticoccidials	Examined no	Positive no	Prevalence %	OPG	χ^2	P value
Colistin+ trimethoprim	150	98	65.3	$[8 \times 10^2 - 1.5 \times 10^6]$	72.4	<0.0001
Sulfonamides	176	41	23.3	$[9 \times 10^2 - 1.7 \times 10^5]$		
Unknown	88	58	65.9	$[9 \times 10^2 - 5 \times 10^5]$		

Examined no: number of fecal samples analyzed, OPG: Oocyst per gram counting

DISCUSSION

Coccidiosis constitutes a major health problem in rabbit breeding affecting mainly young rabbits after weaning (Drouet-Viard et al., 1997b, Pakandl and Hlálková, 2007). In the present study, the prevalence of coccidia infection in six regions of Medea Province was surveyed. Based on the analysis of 414 faecal samples collected from 50 rabbit farms, the overall infection rate was 47.6 %. Due to the importance of the disease there is a continuous use of coccidiostat at farm level but in spite of this the prevalence of coccidiosis is still high. This may be explained by maternal transmission of coccidiosis to young rabbits (Henneb and Aissi, 2013; Papeschi et al., 2013). Furthermore, in rabbit breeding, therapy should concern not only the young rabbits but also the nursing females mainly during the week preceding weaning where the contamination from mother to young rabbits takes place (Pakandl and Hlálková, 2007). The existence of all rabbits' *Eimeria* species was confirmed in these faecal samples. As reported previously, the natural infections with a single *Eimeria* species are rare (Abdel-Baki and Al-Quraishy, 2013; Jing et al., 2012). The prevalence of *E. magna* in Medea province was convergent to the reported by Henneb and Aissi (2013) in Eastern Algeria and Maziz-Bettahar et al. (2018) in Northern Algeria (47.6% versus 43% and 42.5% respectively) which could be due to poor hygiene noticed in Algeria's farms (Henneb and Aissi, 2013). Gonzalez-Redondo et al. (2008) confirmed that a fair control of hygienic conditions is sufficient to maintain a low level of coccidia and also Scholaut et al. (2013) indicated that housing conditions could have an impact on health of rabbits. *E. magna* and *E. media* which are recognized as mildly pathogenic (Licois et al., 1995; Drouet-Viard et al., 1997a, Drouet-Viard et al., 1997b) were the most predominant in Medea followed by *E. stiedae* but OPG values for these samples were less than concerning clinical coccidiosis. This result indicated that sub-clinical coccidiosis is common in Medea province. In fact sub-clinically infected rabbits looked to be healthy in general, but have reduced feed conversion and growth performance, resulting in huge economic losses as reported by Jing et al. (2012), Okumu et al. (2014) and Yin et al. (2016). The prevalence of coccidian oocysts in weaner rabbits was higher than growing rabbits and adult rabbits, this could be due to lower resistance or incomplete immunity against coccidiosis in young rabbits compared to elder animals as described previously by Licois et al. (1995); Drouet-Viard et al. (1997a,b); Pakandl et al. (2008); Pakandl (2009); El-Ghoneimy and El-Shahawy (2017) and Geru et al. (2017).

CONCLUSION

The present survey revealed that rabbit coccidiosis prevalence in Medea Province, Algeria, is not negligible. In fact, an overall infection rate of 47.6% has been registered. The study revealed that *E. magna* and *E. media* were the most predominant species and weanling rabbits were the most infected followed by growing and adult rabbits. Females were more infected than males and coccidiopan seems to be more effective than colisultrix. Knowledge about the prevalence of coccidiosis and current *Eimeria* species will help to evaluate the infection potential and control programs, and therefore minimizing the economic losses caused by this disease.

DECLARATIONS

Acknowledgements

The authors are grateful to Mr X. SUO from *the* National Animal Protozoa Laboratory, College of Veterinary Medicine, China for the good welcome and the valuable technical assistance. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Competing interests

The authors declare that they have no conflict of interests.

Consent to publish

The authors grant the publisher the sole and exclusive license of the full copyright in the contribution. Consequently, the publisher shall have the exclusive right throughout the world to publish and sell the contribution in all languages and all other forms of electronic publication.

Author's contributions

MSB proposed and conducted the study. MSB and AB drafted and revised the manuscript. ST, HA supervised the work. MSB and AB analyzed the data. All authors read and approved the final manuscript.

REFERENCES

- Abdel-Baki AAS and Al-Quraishy S (2013). Prevalence of coccidia (*Eimeria* spp.) infection in domestic rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, in Riyadh, Saudi Arabia. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(5): 1329-1333.
- Al-Mathal IM (2008). Hepatic Coccidiosis of the Domestic Rabbit *Oryctolagus cuniculus domesticus* L. in Saudi Arabia *World Journal of Zoology*, 3(1): 30-35.
- Bachene MS, Maziz-Betahar S, Temim S, Aissi M and Ain Baziz H (2014). Evaluation of the pathogenicity of *Eimeria Magna* in the rabbit of local population *Oryctolagus cuniculus*. *International Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 8(6): 3.
- Bachene MS, Temim S, Ainbaziz H, Bachene A and Suo X (2018). A vaccination trial with a precocious line of *Eimeria magna* in Algerian local rabbits *Oryctolagus cuniculus*. *Veterinary parasitology*, 261: 73–76. DOI:10.1016/j.vetpar.2018.08.013
- Coudert P, Licois D and Drouet-Viard F (1995). *Eimeria* species and strains of rabbits, In *Biotechnology Guidelines on techniques in coccidiosis research*. Eckert J Braun R, Shirley MW, Coudert P, Sc,Eds. Luxembourg: European commission, pp. 52-73.
- Drouet-viard F, Coudert P, Licois P and Boivin M (1997a). Acquired protection of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) against coccidiosis using a precocious line of *Eimeria magna*: effect of vaccine dose and age at vaccination. *Veterinary Parasitology*, 69: 197-201. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01133-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01133-8)
- Drouet-Viard F, Coudert P, Licois D and Boivin M (1997b). Vaccination against *Eimeria magna* coccidiosis using spray dispersion of precocious line oocysts in the nest box. *Veterinary Parasitology*, 70(1-3): 61-66. DOI.org/10.1016/S0304-4017(96)01134-X
- El-Ghoneimy A and El-Shahawy I (2017). Evaluation of amprolium and toltrazuril efficacy in controlling natural intestinal rabbit coccidiosis. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18(3): 164-169. DOI : 10.22099/IJVR.2017.4217
- Geru T, Wang Y, Li C, Gu X, Cui P, Fang S, Suo X and Liu X (2017). High pathogenicity and strong immunogenicity of a Chinese isolate of *Eimeria magna* Pérard, 1925. *Parasitology International*, 66(3): 207-209. DOI:10.1016/j.parint.2017.01.014
- González-Redondo P, Finzi A, Negretti P and Micci M (2008) Incidence of coccidiosis in different rabbit keeping systems. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(5): 1267-1270. DOI:10.1590/S0102-09352008000500034
- Henneb M and Aissi M (2013). Etude cinétique de l'excrétion oocystale chez la lapine et sa descendance et identification des différentes espèces de coccidies. 15th day of research about rabbits, November 19th – 20th France: 221-224.
- Jing F, Yin GW, LiuXY, Suo X and QinYH (2012). Large-scale survey of the prevalence of *Eimeria* infections in domestic rabbits in China. *Parasitology Research*, 110(4):1495-1500. DOI: 10.1007/s00436-011-2653-4
- Licois D, Coudert P, Drouet-Viardand F and Boivin M (1995). *Eimeria magna*: pathogenicity, immunogenicity and selection of a precocious line. *Veterinary Parasitology*, 60: 27-35. DOI:[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)00768-8](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)00768-8)
- Maziz-Bettahar S, Aissi M, Ainbaziz H, Bachene MS, Zenia S and Ghisani F (2018). Prevalence of coccidian infection in rabbit farms in North Algeria. *Veterinary World*, 11(11): 1569-1573. DOI: 10.14202/vetworld.2018.1569-1573
- Okumu PO, Gathumbi PK, KaranjaDN, Mande JD,Wanyoike MM, GachuirCK, KiarieN, MwanzaRN and Borter DK (2014). Prevalence, pathology and risk factors for coccidiosis in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in selected regions in Kenya. *Veterinary Quarterly*, 34(4): 205-210.DOI.org/10.1080/01652176.2014.978044
- Pakandl M and Hlálková L (2007). Reproduction of *Eimeria flavescens* and *Eimeria intestinalis* in suckling rabbits. *Parasitology Research*, 101 (5): 1435-1437. DOI:10.1007/s00436-007-0646-0
- Pakandl M, HlaskovaL, Poplstein M, ChromaM, Vodicka T, Salat J and Mucksova J (2008). Dependence of the immune response to coccidiosis on the age of rabbit suckling. *Parasitology Research*, 103(6): 1265–1271. DOI:10.1007/s00436-008-1123-0
- Pakandl M (2009). Coccidia of rabbit: a review. *Folia Parasitologica*, 56(3): 153–166. DOI: 10.14411/fp.2009.019
- Papeschi C, Fichi G and Perrucci S (2013). Oocyst excretion pattern of three intestinal *Eimeria* species in female rabbits. *World Rabbit Science*, 21 (2): 77-83. DOI: 10.4995/wrs.2013.1235

Schlolaut W, Hudson R and Rödel HG (2013). Impact of rearing management on health in domestic rabbits: A review. *World Rabbit Science*, 21(3): 145-159. DOI:10.4995/wrs.2013.1029

Yin G, Goraya MU, HuangJ, SuoX, Huang Z and Liu X (2016).Survey of coccidial infection of rabbits in Sichuan Province, Southwest China .*SpringerPlus*, 5:87. DOI: 10.1186/s40064-016-2586-6



Short communication

A vaccination trial with a precocious line of *Eimeria magna* in Algerian local rabbits *Oryctolagus cuniculus*Mohamed Sadek Bachene^{a,b,*}, Soraya Temim^a, Hassina Ainbaziz^a, Asma Bachene^b, Xun Suo^c^a Superior National Veterinary School, BP 161, Algiers, Algeria^b Department of Nature and Life Sciences, Dr Yahia Farès University, Médéa, Algeria^c National Animal Protozoa Laboratory, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing, 100093, China

ARTICLE INFO

Keywords:

E. Magna

Vaccination

Challenge inoculation

Oocyst excretion

Rabbit coccidiosis

ABSTRACT

Coccidiosis is a major health problem in rabbits. A vaccine using *Eimeria* with perfect safety and effectiveness seems to be necessary to face this parasitosis. To assess the safety and the efficacy of a vaccine based on the Algerian precocious line of *Eimeria magna* against rabbit coccidiosis, twenty eight young rabbits from six litters of Coccidia free females were used to monitor oocystal excretion and body weights, they were distributed into four groups (vaccinated-challenged group, double challenged non vaccinated group, simple challenged non vaccinated group and control group). Three other Coccidia free rabbits served for the necropsy in order to compare the effect of the wild and the precocious strains of *Eimeria magna* at the histological level. Following the challenge inoculation, a statistically significant decrease of about 97% in the oocyst excretion was noticed in the vaccinated rabbits as a sign of a good immune response acquired by the vaccination associated to a good growth rate. Moreover, a statistically significant increase in oocyst output following the challenge in both double challenged non vaccinated group and simple challenged non vaccinated one was noticed: (1.2×10^8 and 1.5×10^8 vs 4.6×10^6 oocysts/rabbit respectively). Taking the control group showing a steady growth as a reference, the vaccinated rabbits showed a good growth during the experiment ($p < 0.05$). Globally the challenged groups showed a normal growth compared with the control group except for a temporary decrease in weights. No case of diarrhea was recorded in the vaccinated – challenged group and the control one (neither vaccinated nor challenged) whereas more than 50% of the young rabbits from both simple and double challenged – non vaccinated groups presented diarrhea. Consequently, the Algerian precocious strain of *Eimeria magna* constitute a good candidate for anticoccidian vaccine in the future.

1. Introduction

Coccidiosis, a parasitosis caused by protozoa of the genus *Eimeria*, has an economic impact for poultry and livestock, including rabbits (Pakandl, 2009). The symptoms of the disease include anorexia, diarrhea, body weight loss, poor feed conversion and even death to weaning rabbits. In rabbitries, the administration of coccidiostats in feed is the most used method to obtain an efficacious prevention of the disease (Pakandl, 2009). Eleven species of *Eimeria* have been identified as pathogens of rabbit coccidiosis (Coudert et al., 1995), among them, *Eimeria magna* is recognized as a mildly pathogenic species but knowing its high frequency in rabbit breeding and the emergence of some resistant strains against robenidine, it seems crucial to use precocious strains obtained by the selection of the early oocyst output after successive passages as an immunoprophylactic strategy (Licois et al., 1995;

Pakandl, 2009). When inoculated, the wild strain of *Eimeria magna* is characterized by a prepatent period of 7 days and an excretion peak on the 9th day following the infection (Licois et al., 1995). This pathogen causes considerable economic losses due to decrease in weight gain, diarrhea and even mortality. Coccidiosis mostly affects young rabbits just after weaning (5- to 6-week-old animals) which are not protected from the immunity acquired by their mother, thereby prevention must be conducted very early between twenty and thirty days of age (Drouet-Viard et al., 1997a, 1997b, 1997c). In Algeria, very few studies dealt on local rabbit *Oryctolagus cuniculus* coccidiosis, Henneb and Aissi (2013) showed that *Eimeria magna* was the most ubiquitous species in Algerian rabbit breeding with 43%, Bachene et al. (2014) showed that the wild Algerian strain of *Eimeria magna* (5×10^5 oocysts/ animal) caused a weight loss of 35% compared with control group. This study aims to evaluate the protection acquired by young rabbits by testing the

* Corresponding author at: Department of Nature and Life Sciences, Dr Yahia Farès University, Médéa, Algeria.

E-mail address: bmsouzra@yahoo.fr (M. Sadek Bachene).

safety and the efficacy of the precocious strain of *Eimeria magna* that has been isolated for the first time in Algeria in the hope to use it as a live attenuated vaccine against rabbit coccidiosis in this country.

2. Material and methods

2.1. Animals

The thirty one young rabbits used in this experiment were the offspring of six *Coccidia* free females of local population reared in specific pathogen free conditions as described by Coudert et al. (1988). The administration of the robenidine supplemented pelleted food to the does was stopped 4 days before vaccination. The young rabbits were weaned at 25 days old, among them, 28 young rabbits were distributed into four groups according to their weights in order to have homogenous weights in each group and between groups (vaccinated – challenged group (VCG), double challenged non vaccinated group (DCG), simple challenged non vaccinated group (SCG) and control group (CG, neither vaccinated nor inoculated). The three remaining rabbits served for the necropsy (vaccinated, inoculated and control). All the young rabbits were fed *ad libitum* with a commercial pelleted food free from anti-coccidial drugs.

2.2. Parasites

2.2.1. Precocious strain of *Eimeria magna*

A precocious strain of *Eimeria magna* was obtained from the corresponding Algerian wild strain by the selection of the early oocyst excretion after nine passages in *Coccidia* free rabbits according to Licois et al. (1990) method (Table 1). This strain was preserved in 2.5 % potassium dichromate solution at 4 °C.

2.2.2. Wild strain of *Eimeria magna*

The wild strain of *Eimeria magna* was isolated from local rabbits, purified in *Coccidia* free rabbits and preserved in 2.5% potassium dichromate solution at 4 °C.

2.3. Vaccination

Eight 25 day-aged rabbits: seven belonging to the VCG and one serving for the necropsy were vaccinated with the precocious strain of *Eimeria magna* (3.5×10^3 oocysts/ 0.2 ml).

Table 1

Selection of the precocious strain of *Eimeria magna*.

<i>E magna</i> strain	Inocula (number of oocysts)	Time corresponding to the collection of the first oocysts in the caecum (hours)
WS <i>E mag</i> 2014	10^4 oocysts	168
S1	2×10^4 oocysts	162
S2	3×10^4 oocysts	156 ^a
S3	10^5 oocysts	126
S4	10^5 oocysts	110 ^b
S5	10^5 oocysts	110
S6	10^5 oocysts	110
S7	10^5 oocysts	110
PS <i>E mag</i> 2016	10^5 oocysts	110

WS *E mag* 2014: wild strain of *Eimeria magna* obtained in 2014.

PS *E mag* 2016: precocious strain of *Eimeria magna* obtained in 2016.

^a First appearance of sporocysts including a large refractile body: precocious strain.

^b From this passage all the oocysts are typical of the precocious strain (sporocysts including large refractile bodies).

2.4. Challenge inoculation

The vaccinated young rabbits (VCG) were challenged at 36 days old with *Eimeria magna* wild strain (5×10^4 oocysts / 0.2 ml). Seven young rabbits belonging to the double challenged non vaccinated group (DCG) were first inoculated with *Eimeria magna* wild strain (2×10^4 oocysts/ 0.2 ml) at 25 days old and then re-inoculated with a higher dose of the same wild strain (5×10^4 oocysts/ 0.2 ml) at 36 days old. Seven young rabbits belonging to the simple challenged non vaccinated group (SCG) were inoculated with *Eimeria magna* wild strain (5×10^4 oocysts/ 0.2 ml) at 36 days old. At last, one rabbit serving for the necropsy was inoculated with 2×10^4 oocysts / 0.2 ml) at 25 days old.

2.5. Fecal sampling and parasitological analysis

Young rabbits faeces were daily collected from each group (VCG, DCG, SCG and CG) from the 2nd day post vaccination to the 21st day post second challenge. Oocysts counting was performed as described by Coudert et al. (1995).

2.6. Weighing of the rabbits

Daily weighing of the 28 rabbits (VCG, DCG, SCG and CG) were done for 32 days. Animals have been examined to detect a diarrhea or an other abnormality.

2.7. Necropsy

Three young rabbits were used for the necropsy, they were separated in individual cages (vaccinated, inoculated and control). They were sacrificed at 35 days old.

The digestive system was macroscopically examined to check for hemorrhage or anatomic lesions. Samples were taken from the duodenum, the jejunum and the ileum, identified and fixed in 10% formalin solution for 24 h and have been the subject of a histopathological study.

2.8. Statistical analysis

Statistical analysis was performed by ANOVA post hoc multiple comparisons using the SPSS 17.0 software. Oocyst excretion and means of average weights per time between the four studied groups were compared and the difference between groups was considered statistically significant when *p* values were less than 0.05.

3. Results and discussion

3.1. Results

3.1.1. Oocyst output after vaccination and challenge inoculation

Vaccinated rabbits (3.5×10^3 oocyst/ animal) multiplied the precocious strain of *Eimeria magna* with a shedding of $2.5 \times 10^6 \pm 8 \times 10^4$ oocysts (Table 2). After the challenge inoculation (48 days old), the oocyst excretion decreased significantly with a percentage of 96% and 97% compared with double challenged non vaccinated group and simple challenged non vaccinated group respectively ($4.6 \times 10^6 \pm 1.6 \times 10^4$ oocysts vs $1.2 \times 10^8 \pm 3.3 \times 10^6$ and $1.5 \times 10^8 \pm 3.9 \times 10^6$ oocysts respectively).

25 day - aged double challenged rabbits (2×10^4 oocysts/animal, then 5×10^4 oocysts/animal 11 days later) excreted *Eimeria*'s oocysts with a total oocyst output of $3.1 \times 10^6 \pm 1 \times 10^5$ after the first challenge (36 days old) then $1.2 \times 10^8 \pm 3.3 \times 10^6$ at 48 days old whereas simple challenged rabbits (5×10^4 oocysts/animal) showed a total oocyst output of $1.5 \times 10^8 \pm 3.9 \times 10^6$ at 48 days old (Table 2).

3.1.2. Average weights per time

The control group (neither vaccinated nor challenged) showed a

Table 2
Total oocyst output per rabbit after vaccination and challenge inoculation.

Rabbit age (days)	VCG (n = 07)	DCG (n = 07)	SCG (n = 07)	CG (n = 07)
25 days	/	/	/	/
36 days	2.5×10^{6a} $\pm 8 \times 10^4$	3.1×10^{6a} $\pm 1 \times 10^5$	/	/
48 days	4.6×10^{6a} $\pm 1.6 \times 10^4$	1.2×10^{8b} $\pm 3.3 \times 10^6$	1.5×10^{8b} $\pm 3.9 \times 10^6$	/
Reduced percentage of oocyst excretion in VCG compared with DCG and SCG	/	96.1%	97%	/

Notation: VG: vaccinated – challenged group, DCG: double challenged non vaccinated group, SCG: simple challenged non vaccinated group, CG: control group, a, b, represent statistically significant difference between vaccinated group and challenged ones ($p < 0.05$).

regular growth throughout the experiment. The vaccinated rabbits showed a good growth during the experiment in comparison with the control group ($p < 0.05$). Rabbits belonging to challenged groups reached normal final weights compared to the control group (Fig. 1).

3.1.3. Mortality and clinical symptoms

No mortality occurred in any group throughout the study period. No case of diarrhea was noticed in the vaccinated – challenged group as well as the control one whereas some cases occurred in both simple challenged non vaccinated group and double challenged non vaccinated one. Three rabbits from the double challenged non vaccinated group showed diarrhea after the first challenge from the 7th to the 10th day and two others showed diarrhea after the second challenge from the 5th to the 9th day. In simple challenged non vaccinated group, diarrhea was noticed in 4 rabbits from the 5th to the 10th day post inoculation.

3.1.4. Anatomopathology

Nothing to report about the macroscopic examination of the intestinal samples that showed a normal appearance. The microscopic study of the control rabbit’s histological samples showed a normal microscopic appearance. The microscopic observation of the vaccinated rabbit’s histological samples showed follicular inflammatory infiltration and diffuse infiltration of plasmocytes and lymphocytes on the jejunal sections, in addition to a focal and diffuse infiltration of plasmocytes, lymphocytes and rare eosinophils on the ileal sections. The microscopic study of the inoculated rabbit’s histological preparations showed mostly

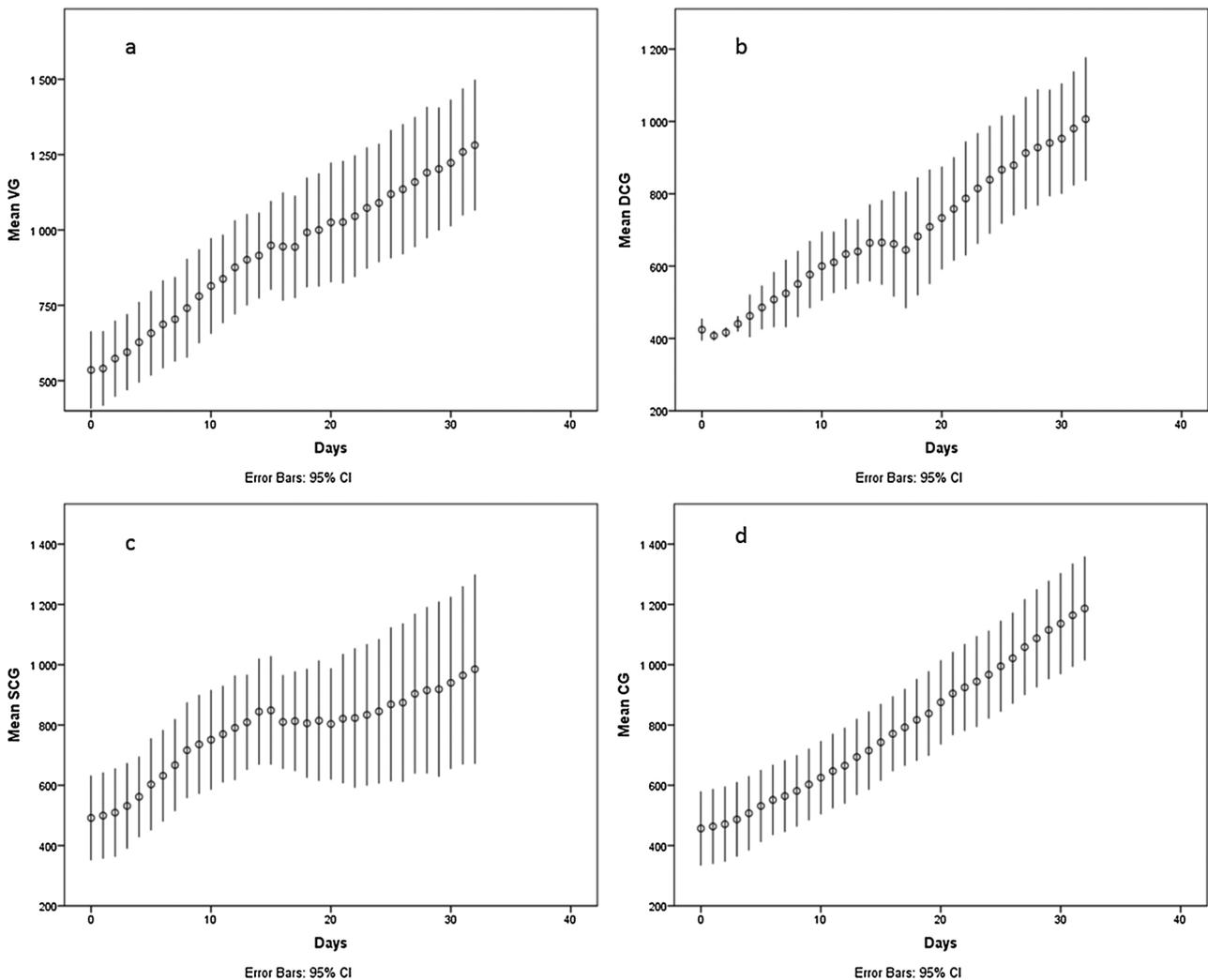


Fig. 1. Average weights per time in the four groups.
a: Vaccinated group’s average weights per time.
b: Double challenged non vaccinated group’s average weights per time.
c: Simple challenged non vaccinated group’s average weights per time.
d: control group’s average weights per time Error bars 95% CI: Confidence Interval, a range of values of 95% confidence containing the true mean.

lymphocytic follicular infiltration with villous atrophy in some areas on the jejunal sections. Peyer's patches hyperplasia was observed on ileal sections associated to mostly lymphocytic infiltration and rare eosinophils.

3.2. Discussion

The Algerian precocious strain of *Eimeria magna* was obtained in laboratory from a wild strain isolated from local rabbit breeding. It is the first time that a precocious strain of rabbits *Eimeria* is isolated in the north – Africa in the aim to prepare a live attenuated vaccine immunizing rabbits.

Following vaccination, young rabbits multiplied the precocious line of *Eimeria magna* without expressing the disease, testifying the viability of this strain and the attenuation of its pathogenicity. Indeed, it was able to protect 25 day-aged weaned rabbits against challenge inoculation (5×10^4 oocysts/ animal, 11 days after the vaccination) when vaccinated at 25 days old. In this experiment, a dose of 3.5×10^3 oocysts of precocious strain of *Eimeria magna*/ animal gave a partial protection: a decrease in oocyst output about 97% compared with challenged non vaccinated groups, no mortality or clinical symptoms and a steady growth. However double and simple challenged non vaccinated groups multiplied the wild strain of *Eimeria magna* while expressing the disease (diarrhea). This result showing the attenuation of *Eimeria magna* precocious strain's pathogenicity is globally in agreement with the results of Licois et al. (1995) and Drouet-Viard et al. (1997a, 1997b, 1997c).

Concerning the findings of the necropsy the macroscopic study of the control, vaccinated and inoculated rabbit samples was without particularities but the microscopic study showed jejunal and ileal inflammatory infiltrations in vaccinated and inoculated rabbit samples which is similar to the observation of Okumu et al. (2014). In addition, eosinophils were observed testifying an anti-parasite immune response. The inflammation observed in the inoculated rabbit intestinal sections was more pronounced than in vaccinated rabbit intestinal sections (villous atrophy and Peyer's patches hyperplasia) as evidence of the attenuation of the pathogenicity of the precocious strain of *Eimeria magna* at the histological level.

4. Conclusion

Besides the necropsy findings, the safety of the Algerian precocious strain of *Eimeria magna* has been demonstrated as it multiplied without being virulent to the rabbits. On the other hand, its effectiveness has been verified by the challenge inoculation using an Algerian wild strain of *Eimeria magna* giving a satisfactory result in terms of acquired protection leading to the absence of mortality and pathology, a decrease in

oocyst output after the challenge inoculation and a correct growth. Vaccination seems to be efficient when performed as early as 25 days old giving time to young rabbits to develop sufficient immunity at weaning. These encouraging results should enable us to apply vaccination in a large scale on the Algerian rabbit breeding in the near future.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interests.

Acknowledgements

The authors are grateful to Mr X. SUO from the National Animal Protozoa Laboratory, College of Veterinary Medicine, China for the good welcome and the valuable technical assistance.

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

- Bachene, M.S., Maziz-Betahar, S., Temim, S., Aissi, M., Ain Baziz, H., 2014. Evaluation of the pathogenicity of *Eimeria Magna* in the rabbit of local population *Oryctolagus cuniculus*. World Acad. Sci. Eng. Technol. Anim. Vet. Sci. 1 (6).
- Coudert, P., Licois, D., Besnard, J., 1988. Establishment of a specified pathogen free breeding colony (SPF) without hysterectomy and hand-rearing procedures. Proceedings of the 4th Congress of the World Rabbit Science Association. pp. 137–148.
- Coudert, P., Licois, D., Drouet-Viard, F., 1995. *Eimeria* species and strains of rabbits. In: Eckert, J., Braun, R., Shirley, M.W., Coudert, P., Sc (Eds.), Biotechnology Guidelines on Techniques in coccidiosis Research. European commission, Luxembourg, pp. 52–73.
- Drouet-viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997b. Vaccination trial against *Eimeria magna* coccidiosis using a precocious line. World Rabbit. Sci. 5 (2), 51–54.
- Drouet-viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997c. Acquired protection of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) against coccidiosis using a precocious line of *Eimeria magna*: effect of vaccine dose and age at vaccination. Vet. Parasitol. 69, 197–201.
- Drouet-Viard, F., Coudert, P., Licois, D., Boivin, M., 1997a. Vaccination against *Eimeria magna* coccidiosis using spray dispersion of precocious line oocysts in the nest box. Vet. Parasitol. 70, 61–66.
- Henneb, M., Aissi, M., 2013. Etude cinétique de l'excrétion oocystale chez la lapine et sa descendance et identification des différentes espèces de coccidies. 15^{ème} Journée de la Recherche Cunicole, 19-20 novembre 221–224.
- Licois, D., Coudert, P., Boivin, M., Drouet-Viard, F., Provot, F., 1990. Selection and characterization of a precocious line of *Eimeria intestinalis*, an intestinal rabbit coccidium. Parasitol. Res. 76, 192–198.
- Licois, D., Coudert, P., Drouet-Viard, F., Boivin, M., 1995. *Eimeria magna*: pathogenicity, immunogenicity and selection of a precocious line. Vet. Parasitol. 60, 27–35.
- Okumu, P.O., Gathumbi, P.K., Karanja, D.N., Mande, J.D., Wanyoike, M.M., Gachuri, C.K., Kiarie, N., Mwanza, R.N., Borter, D.K., 2014. Prevalence, pathology and risk factors for coccidiosis in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in selected regions in Kenya. Vet. Q. 34 (4), 205–210.
- Pakandl, M., 2009. Coccidia of rabbit: a review. Folia Parasitol. 56 (3), 153–166.

在阿尔及利亚当地的兔子*Oryctolagus cuniculus*进行的早熟艾美耳球虫疫苗接种试验

在阿尔及利亚当地的兔子*Oryctolagus cuniculus*进行的早熟艾美耳球虫疫苗接种试验
球虫病是兔子的主要健康问题。使用艾美耳球虫的疫苗具有完美的安全性和有效性，似乎有必要面对这种寄生虫病。为了评估基于阿尔及利亚艾美球虫早熟线对兔球虫病的疫苗的安全性和有效性，使用来自6窝无球虫的雌性的28只幼兔监测卵囊排泄和体重，将它们分成四组。（接种疫苗的组，双重攻击非接种组，简单攻击非接种组和对照组）。另外三只球虫免疫兔用于尸体解剖，以比较野生和早熟的艾美球虫菌株在组织学水平上的作用。在攻击接种后，在接种的兔子中注意到卵囊排泄的统计学显著降低约97%，这是通过与良好生长速率相关的疫苗接种获得的良好免疫应答的标志。此外，在双重攻击的非接种疫苗组和简单挑战的非接种疫苗组中，在攻击后卵囊输出的统计学显著增加被注意到：（1.2 10⁸和1.5 10⁸ vs 4.6 10⁶ oocysts /分别是兔子）。以对照组显示稳定生长为参照，接种的兔子在实验期间显示出良好的生长（ $p < 0.05$ ）。在全球范围内，受试组显示与对照组相比正常增长，除了体重暂时减少。在接种疫苗的受试组和对照组（未接种疫苗或未接种过疫苗）中均未记录腹泻病例，而超过50%的来自单次和双重接种的未接种疫苗组的幼兔均出现腹泻。因此，阿尔及利亚艾美耳球虫早熟品种将成为未来抗球虫疫苗的良好候选者。

X科研网 <http://www.xkeyan.com/Journal/J7422/30253853.html>

影响因子：2.422

发表日期：20180915

作者：Mohamed Sadek Bachene. Soraya Temim .Hassina Ainbaziz .Asma Bachene. Xun Suo

期刊：Vet Parasitol



www.waset.org

WORLD ACADEMY OF SCIENCE, ENGINEERING AND TECHNOLOGY

ICMLCV 2014 : XII International Conference on Machine Learning and Computer Vision



ICMLCV 2014

June 5-6 2014, New York, USA

New York's Hotel Pennsylvania 401 Seventh Avenue (at 33rd St.) New York, N.Y. 10001-2062 Tel: +1 212.736.5000 Fax: +1 212.502.8712

CALL FOR PAPERS

The ICMLCV 2014 : XII International Conference on Machine Learning and Computer Vision is the premier interdisciplinary forum for the presentation of new advances and research results in the fields of Machine Learning and Computer Vision. The conference will bring together leading academic scientists, researchers and scholars in the domain of interest from around the world. Topics of interest for submission include, but are not limited to:

- | | |
|--|---|
| Computer Vision | Occlusion and shadow detection |
| Vision sensors | Stereo and multiple view geometry |
| Early vision | Reconstruction and camera motion estimation |
| Low-level vision | Vision for graphics |
| Biologically motivated vision | Vision for robotics |
| Illumination and reflectance modeling | Cognitive and embodied vision |
| Image based modeling | Pattern Recognition and Machine Learning |
| Physics-based vision | Statistical, syntactic and structural pattern recognition |
| Perceptual organization | Machine learning and data mining |
| Shape modeling and encoding | Artificial neural networks |
| Computational photography | |
| 3D shape recovery | |
| Motion, tracking and video analysis | |
| 2D/3D object detection and recognition | |
| Scene understanding | |

Evaluation of the Pathogenicity of *Eimeria magna* in the Rabbit of Local Population *Oryctolagus cuniculus*

Authors : Mohamed Sadek Bachene, Samia Maziz-Betahar, Soraya Temim, Miriem Aissi, Hacina Ain Baziz

Abstract : The aim of this work is to appreciate the evolution of *Eimeria magna* in the rabbits of local population, by studying the effect of the inoculum size of *Eimeria magna* on rabbit growth. Thus, 16 rabbits were used to study the pathogenicity and the development of this strain. The study of the growth of *Eimeria magna* strain revealed a pure power multiplication equal on average to 1.106 oocysts. Concerning the pathogenicity of the strain *Eimeria magna*, the results show that the prepatent period of *Eimeria magna* is 6 days and the peak excretion of oocysts occurs in the ninth day after inoculation. The rabbits inoculated with the highest dose (5×10^4 sporulated oocysts) are lagging behind significant growth compared to other doses. Weight gain of these rabbits is altered by 35% compared to uninoculated rabbits. However, this weight loss is less than 13% compared to the average weight gains recorded among rabbits inoculated with two doses (1×10^4 and $2,5 \times 10^4$ oocysts).

Keywords : coccidiosis, *Eimeria*, oocysts, rabbit, Algeria

Conference Title : ICASVM 2014 : 16th International Conference on Animal Science and Veterinary Medicine

Conference Location : New York, USA

Conference Dates : June 05-06, 2014

Book of Abstracts of the 65th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science



Book of abstracts No. 20 (2014)
Copenhagen, Denmark
25 - 29 August 2014

A cross-sectional study on risk factors of gestating sow leg disorders in group-housing systems

C. Cador¹, F. Pol², M. Hamoniaux³, V. Dorenlor¹, E. Eveno¹, C. Guyomarc'h³, N. Rose¹ and C. Fablet¹
¹Anses, Unité Epidémiologie et Bien-Etre du Porc, B.P. 53, 22440 Ploufragan, France, ²Anses, Unité Epidémiologie et Bien-Etre en Aviculture et Cuniculture, B.P. 53, 22440 Ploufragan, France, ³Cooperl Arc Atlantique, 7 Rue de la Jeannaie, 22400 Lamballe, France; christelle.fablet@anses.fr

Group-housing, in place of individual-housing systems, is mandatory for gestating sows in the European Union (2008/120/EEC). However, leg problems occur more frequently in group-housing than in individual-housing systems and are a welfare and health concern. A cross-sectional epidemiological study involving 108 farrow-to-finish farms in western France has been carried out to see whether the type of the 4 main group-housing systems (i.e. large groups with electronic feeder station in stable or in dynamic groups, small groups in walk-in lock-in stalls or partial feeding stalls), the type of floor, and other husbandry practices, were associated with leg disorders. On each farm, the sows were examined visually for claw lesions, scored for lameness and their breeding characteristics were recorded. Our results showed that lameness was positively correlated with heel lesions and dewclaw lesions. Concrete slatted floor was a major risk factor (unadjusted relative risk (RR)=9.9; 95% confidence interval (CI): 4.4-34.5) compared to straw bedding. Walk-in lock-in stalls was found to be the most protective system. Using a multivariable logistic regression model, housing in large groups (RR=1.5; CI [1.1; 2.4]), dirty floors (RR=1.6; CI [1.0; 2.9]), high level of ammonia (RR=1.5; CI [1.1; 2.1]), strong feeding restriction in particular at the last stage of pregnancy (RR=1.5; CI [1.0; 2.1]) and a high number of sows per stockman (RR=1.5; CI [1.0; 2.4]) were identified as factors significantly associated with leg troubles.

Evaluation of the pathogenicity of *Eimeria magna* in the rabbit of local population

M.S. Bachene¹, S. Maziz-Betahar¹, S. Temim², M. Aissi² and H. Ainbaziz²

¹University Saad Dahleb, Institute of veterinary sciences, Blida, 25000, Algeria, ²High Veterinary School, Laboratory Research of Animal health and production, Algiers, 16000, Algeria; ainbaziz@yahoo.fr

The aim of this study was to evaluate the effect of *Eimeria magna* infection induced through three different inoculum sizes (1×10^4 , 2.5×10^4 and 5×10^4 oocysts) on growth performance of local rabbits. A total of 16 male rabbits were distributed in 4 groups of four rabbits each at an age of 4 weeks. The rabbits were previously treated with an anticoccidial between 21 and 24 days of age. Oocyst excretion and body weight gain were determined for 8 weeks post-infection (p.i.). Oocyst excretion data revealed a power multiplication equal on average to 1.10^6 oocysts. Concerning the pathogenicity of *E. magna*, the results showed a prepatent period of 6 days p.i. and a peak excretion of oocysts at 9 days p.i. At 12 weeks of age, the rabbits inoculated with the higher dose (5×10^4 oocysts) showed significantly lower daily gains (-35%; $P < 0.05$) compared to uninfected controls. The weight loss was less than 13% in rabbits inoculated with the lower inoculums (1×10^4 and 2.5×10^4 oocysts; $P > 0.05$). In conclusion, growth of local rabbit was significantly impaired by *Eimeria magna*.