

ETUDE RETROSPECTIVE SUR LA MALADIE DE MAREK EN FRANCE : FOCUS SUR LES FORMES ENCEPHALITIQUES

M. Pinson^{a,b,d}, M. Crispo^b, O. Albaric^c, B. Sraka^d, C. Facon^d, G. Perreul^e, T. Delquigny^e,
S. Lemièrre^e, C. Belloc^a et J.-L. Guérin^b

^aINRAE, Oniris, BIOEPAR, Route de Gachet, 44300 Nantes, France, ^bUniversité de Toulouse, ENVT, INRAE, UMR IHAP, 23 chemin des Capelles, 31076 Toulouse, France, ^cAnatomopathologiste indépendant, 625 Chemin Lembeye, 64290 Lasseube, France, ^dLabovet Conseil, Réseau Cristal, 15 rue Christophe Colomb, 85300 Challans, France, ^eBoehringer Ingelheim AH, 29, avenue Tony Garnier, 69007 Lyon, France
jean-luc.guerin@envt.fr

RÉSUMÉ

Le virus de la maladie de Marek reste une préoccupation majeure en élevage de poulet dans le monde. Contrairement aux formes classiques de la maladie (paralysie des pattes, tumeurs viscérales et cutanées), la forme encéphalitique est peu étudiée malgré des descriptions fréquentes en France ces dernières années. Cette étude a pour objectif d'en décrire l'expression clinique et lésionnelle. Les cas sélectionnés ont été enregistrés comme des cas cliniques de maladie de Marek dans la base de données des cabinets vétérinaires aviaires du Réseau Cristal en Pays de la Loire entre 2016 et 2020. Sur les 40 signalements enregistrés, 13 correspondaient à une forme encéphalitique, révélant la fréquence de cette forme particulière. Les cas cliniques étaient surtout décrits sur des poulets à croissance intermédiaire (10/13), non vaccinés contre la maladie de Marek, en fin de lot (principalement entre 6 et 8 semaines d'âge), avec présence dans certains cas d'une augmentation significative de la mortalité. Les signes cliniques nerveux observés (paralysie du cou, tics nerveux et torticolis) étaient associés à des lésions histologiques similaires dans tous les lots concernés, à savoir une infiltration légère à sévère de cellules lymphoïdes dans l'encéphale sous forme de manchons périvasculaires. Par ailleurs, des infiltrations lymphoïdes similaires étaient également fréquemment observées, moins sévères, au niveau des nerfs périphériques et des organes viscéraux, en l'absence d'hypertrophie macroscopique des nerfs ou de tumeur viscérale. Une analyse par immunohistochimie a permis de montrer qu'il s'agit essentiellement de lymphocytes T et de mieux évaluer l'intensité et l'extension des infiltrats. Il apparaît donc que la maladie de Marek est toujours une maladie courante en France, et que les formes encéphalitiques, précisées dans cet article, doivent être prises en compte. Elles affectent des poulets dès six semaines d'âge et peuvent avoir un impact significatif sur la santé des animaux atteints. La sensibilisation des vétérinaires avicoles est nécessaire pour mieux détecter cette forme atypique de la maladie de Marek et ainsi évaluer son impact sur la santé et les performances des poulets de chair.

ABSTRACT

Retrospective Study of Marek's Disease in Commercial Broilers in France: Focus on Central Nervous System Syndromes

Marek's disease (MD) remains a major concern for the chicken industry worldwide. Unlike the classical forms of the disease (leg paralysis, visceral and cutaneous tumors), scientific publications focusing on central nervous system (CNS) syndromes appear scarce, despite frequent reports involving French broiler farms during the last few years. We investigated the frequency of CNS syndromes and their clinical-pathological presentation. Selected cases occurred between 2016 and 2020 and originated from farms distributed in the Pays de la Loire. On a total of 40 cases, 13 were characterized by a CNS syndrome. Clinical cases, exhibiting neck paralysis, nervous tics and torticollis, were mostly observed in certified, non-vaccinated broilers (10/13) ranging between 45 and 56 days of age, and were associated with a significant increase of mortality in 4 cases. Clinical signs were consistently associated with moderate to severe lymphocytic infiltration of the CNS. In addition, peripheral nerves and visceral organs were also commonly affected, less severely, and without concurrent identification of nerve enlargement or visceral tumors at necropsy. Immunohistochemistry identified infiltrating lymphocytes as T cells, further characterizing severity and distribution of the lesions observed. In conclusion, MD is still a concern in France. The CNS syndromes described should be considered in commercial broilers starting from 6 weeks of age as they could compromise the health and welfare of affected birds. Poultry veterinarians should be aware of this atypical form of MD to ensure proper diagnosis and assess the impact of the disease.

INTRODUCTION

La maladie de Marek est une maladie virale contagieuse touchant les volailles, principalement les gallinacés, causée par un alpha-herpesvirus, le Marek's Disease Virus (MDV) du genre *Mardivirus* (Boodhoo et al., 2016 ; Nair et al., 2020). Le MDV est transmis horizontalement via l'inhalation de plumes ou squames contaminés. Le virus peut ainsi persister des mois voire des années dans l'environnement (Nair et al., 2020). Les vaccins contre la maladie de Marek protègent les animaux contre le développement des signes cliniques de la maladie, mais n'induisent pas d'immunité stérilisante expliquant le caractère ubiquiste du virus dans la production avicole malgré leur utilisation dans une partie des élevages (Boodhoo et al., 2016 ; Davidson, 2020). D'un point de vue pathologique, le MDV peut provoquer un large panel de syndromes. Les syndromes lymphoprolifératifs sont les plus fréquemment décrits (OIE, 2017 ; Nair et al., 2020) : paralysie des pattes associée à une hypertrophie des nerfs périphériques, nodules tumoraux dans les organes viscéraux, infiltration cutanée et lésions oculaires. De plus, la maladie de Marek peut induire des syndromes lymphodégénératifs et certaines souches récemment isolées peuvent provoquer une immunosuppression sévère (Shi et al., 2020). La maladie de Marek peut également induire une expression clinique liée à une atteinte inflammatoire du système nerveux central (SNC). En raison d'une telle variété de présentations cliniques, le diagnostic de maladie de Marek est toujours délicat, rendant difficile l'obtention d'une image fiable de l'importance actuelle de la maladie de Marek dans les élevages de volailles français. Depuis 2002, les praticiens de terrain décrivent des formes encéphalitiques de maladie de Marek dans les lots de poulets commerciaux, caractérisées par des signes nerveux associés à des lésions histopathologiques typiques retrouvés dans le SNC et les nerfs périphériques (données non publiées). Dans le but d'améliorer les connaissances sur la maladie de Marek en France, cette étude examine les formes encéphalitiques causées par le MDV dans les élevages de volailles situés dans la région des Pays de la Loire entre 2016 et 2020. Les signes cliniques et les lésions histopathologiques associées à cette forme encéphalitique de la maladie de Marek sont décrits.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Plan d'étude et échantillonnage

Une recherche rétrospective a été réalisée dans les laboratoires du Réseau Cristal à l'aide d'un logiciel d'enregistrement d'analyses (RESANALYSE). Les cas ont été sélectionnés sur la présence du mot clé « Maladie de Marek » dans les conclusions d'analyses réalisées sur les élevages de volailles suivis par ces laboratoires entre 2016 et 2020 dans la région des Pays de la Loire. Lorsqu'elles étaient disponibles, les informations sur la production, l'âge, les signes

cliniques, la mortalité quotidienne et le statut vaccinal des animaux ont été recueillies à partir des formulaires de recueil des commémoratifs.

1.2. Examen macroscopique

Les oiseaux, vivants ou morts, ont été amenés dans un laboratoire de diagnostic vétérinaire. Les oiseaux vivants ont été rendus inconscients par électrocution puis immédiatement euthanasiés par exsanguination. Une autopsie a été effectuée selon les procédures de laboratoire de routine et les lésions macroscopiques observées ont été enregistrées.

1.3. Examen histopathologique

Des prélèvements d'encéphale, nerf sciatique, foie, pancréas, rein, proventricule, intestin, bourse de Fabricius, cœur, poumons, ovaires, testicules et glande surrénale ont été réalisés lors de l'autopsie et fixés dans du formol à 10%. Tous les tissus ont été recoupés et inclus en blocs de paraffine selon les procédures classiques. Des coupes de 4 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome ont été réalisées, colorées à l'hématoxyline et éosine (H&E) et examinées à l'aide d'un microscope optique.

1.3. Examen immunohistochimique

Les antigènes CD3 et CD268/BAFF-R (B cell activating factor receptor) ont été détectés par immunohistochimie pour identifier respectivement les lymphocytes T et B (Kurokawa et al., 2020). Cet examen a été effectué lorsque les prélèvements étaient disponibles (n=10/13) et a concerné les tissus d'intérêt suivants : SNC, nerfs périphériques, foie, reins, proventricule, poumons, pancréas, cœur, testicule, glande surrénale.

2. RESULTATS

2.1. Commémoratifs et observations cliniques

Quarante cas, pour lesquels un diagnostic présumé de maladie de Marek a été établi, ont été sélectionnés. Le diagnostic a été conforté par une histologie dans 24 cas. Parmi eux, 13 étaient des formes encéphalitiques avec des signes nerveux, des lésions macroscopiques minimales ou absentes et des résultats histopathologiques et immunohistochimiques typiques de maladie de Marek impliquant le SNC, les nerfs périphériques et les organes viscéraux. Les données cliniques et épidémiologiques des 13 cas présentant la forme encéphalitique signes cliniques et mortalité quotidienne sont fournis dans le tableau 1. La majorité des formes encéphalitiques a été identifiée dans des élevages de poulets de chair certifiés (10/13), âgés de 45 à 56 jours, avec une moyenne de 51 jours. Un cas concernait des poulets de chair conventionnels âgés de 32 jours, tandis que 2 cas ont été enregistrés chez des poulets de chair label à 9 semaines et à 11 semaines. Les poulets de chair certifiés et conventionnels n'ont pas été vaccinés contre le MDV, tandis que les 2 lots de poulets label ont été vaccinés contre le MDV

(vaccin vecteur HVT-IBD *in ovo*). La paralysie du cou était le principal signe clinique observé. Le cou était bloqué, tendu vers le sol avec le bec posé sur la litière. Dans les cas plus graves, le cou est apparu complètement paralysé (paralysie flasque) et était étendu sur le sol (Figure 1). D'autres signes nerveux, comprenant des tics nerveux et torticolis, ont été observés dans 4 élevages. Dans ces cas, les poulets avaient une position anormale de la tête et une perte de coordination des mouvements (Figure 1). Il n'y avait pas de signe clinique signalé dans la ferme K, dans laquelle la maladie de Marek a été suspectée en raison de l'apparition de nombreux cas cliniques aux alentours. La mortalité journalière a été considérée comme normale (<0,1% par jour) dans 9 lots, mais cette limite a été dépassée pour 4 lots. Les oiseaux morts se trouvaient sur le ventre avec le cou étendu sur le sol. Le taux de morbidité n'a pas été renseigné.

2.2. Examen macroscopique

Des lésions macroscopiques ont été enregistrées sur 11 des 13 cas. Ces lésions concernaient principalement la rate (splénomégalie dans 6/11), le foie (congestion dans 5/11) et les reins (hypertrophie dans 3/11). Une congestion du thymus a pu être notée dans l'élevage A. Une atrophie des bourses de Fabricius a été notée dans les élevages F et J. Aucun lot n'a présenté d'hypertrophie des nerfs périphériques ou de tumeur viscérale, comme décrit dans les formes classiques de maladie de Marek.

2.2. Examen histopathologique

Une méningo-encéphalite non suppurée, légère à sévère, a été identifiée dans tous les lots dont l'encéphale a été prélevé (n=12). Les lésions spécifiques comprenaient une infiltration, multifocale à diffuse, périvasculaire (manchons périvasculaires) et des leptoméniges avec des lymphocytes et/ou des cellules lymphoïdes pléomorphes, comprenant des cellules blastiques, organisées en une ou plusieurs couches (Figure 2A). Des cellules lymphoïdes ont été observées jusqu'au sein du neuropile (n=8). Une gliose, légère à modérée, a aussi (n=9) été décrite. Les lésions sont réparties dans les substances blanche et grise, à tous les niveaux de l'organe (hémisphères cérébraux, cervelet, tronc cérébral et lobes optiques), avec la même intensité.

Une névrite lymphocytaire ou lymphoplasmocytaire légère à modérée a été identifiée dans les sections du nerf sciatique (n=10). Les infiltrations comprenaient des lymphocytes de petite à grande taille avec des noyaux hyperchromatiques et des plasmocytes occasionnels, disposés en petits amas ou de manière diffuse (Figure 2B). Des lésions similaires ont également été détectées dans les nerfs mésentériques (n=4), des nerfs ganglionnaires du proventricule (n=3), des surrénales (n=1), des ovaires (n=1) et de la bourse de Fabricius (n=1). Une infiltration périvasculaire et/ou interstitielle, légère à modérée, avec des cellules lymphocytaires et/ou lymphoïdes ont été observées

dans le foie (n=8), le rein (n=8), le poumon (n=2), le testicule (n=2) et occasionnellement le cœur, le pancréas, l'ovaire et la glande surrénale (n=1), ainsi que dans la muqueuse et la sous-muqueuse du proventricule (n=6). Une atrophie de la bourse de Fabricius, modérée à sévère, était présente dans les trois cas pour lesquels la bourse de Fabricius a été prélevée.

2.2. Examen immunohistochimique

Dans le SNC, les cellules lymphoïdes des manchons périvasculaires et infiltrats méningés étaient systématiquement positives pour CD3 (Figure 2C). Des cellules CD3 en plus ou moins grand nombre sont présentes dans le neuropile (n=10) et de rares cellules CD268 ont été détectées dans les leptoméniges et manchons périvasculaires (n=7). De même, la majorité des cellules lymphoïdes infiltrant les nerfs périphériques étaient positives pour CD3 (Figure 2D), avec seulement de rares cellules CD268 positives détectées occasionnellement dans les nerfs sciatiques. Des cellules CD3 positives ont également été identifiées dans l'interstitium, autour des vaisseaux sanguins et formant des lésions micronodulaires dans le foie (n=8), les reins (n=8), la muqueuse et sous-muqueuse proventriculaire (n=5), le testicule (n=2), le poumon (n=2), le cœur (n=1), le pancréas (n=1) et la glande surrénale (n=1). Une réaction positive forte et généralisée a également été remarquée dans les capillaires sinusoides hépatiques. Un nombre rare à faible de cellules CD268 positives a été observé autour des zones portales et dans les sinusoides hépatiques (n=8), dans l'interstitium rénal (n=7), la muqueuse proventriculaire (n=5) et formant des nodules discrets élargissant la lamina propria des bronches secondaires et tertiaires (n=2).

DISCUSSION

Nous avons décrit ici un ensemble de cas de maladie de Marek impliquant des lots de poulets de chair situés dans la région des Pays de la Loire, entre 2016 et 2020. Les cas ont été observés principalement entre octobre 2017 et octobre 2019 (92 %). Les oiseaux touchés étaient pour la plupart des poulets de chair non vaccinés et avaient entre 6 et 8 semaines (77 %). Le principal motif de consultation était l'apparition de signes nerveux. Chez les poulets infectés expérimentalement par le MDV, deux schémas cliniques impliquant le SNC sont observés : la paralysie transitoire (TP) et la maladie neurologique persistante (PND). La TP se caractérise par l'apparition d'une paralysie flasque du cou, qui tend ensuite à se généraliser. Dans la forme classique de TP, les signes cliniques disparaissent après 1-2 jours, tandis que dans la forme aiguë, les oiseaux affectés meurent rapidement. La PND est un syndrome caractérisé par le développement et la persistance de tics nerveux, d'ataxie et de torticolis (Swayne et al, 1989 ; Gimeno et al., 1999 ; Wajid et al, 2015). La PND peut apparaître

après une rémission de paralysie mais les 2 syndromes (TP et PND) semblent régulés de manière différente (Gimeno et al., 2001). Dans notre étude, les signes nerveux les plus fréquemment observés étaient une paralysie flasque du cou (69%), suggérant une TP. Les signes non paralytiques (tics nerveux et torticolis), compatibles avec la PND, représentaient 31 % des cas. Les signes cliniques observés dans cette étude sont donc compatibles avec une forme encéphalitique de maladie de Marek. Les 2 schémas cliniques (TP et PND) ont même été observés dans le même lot (Figure 1).

Les lésions macroscopiques n'ont été observées ni dans le SNC ni dans les nerfs périphériques. Les lésions viscérales, lorsqu'elles étaient présentes, étaient modérées et non spécifiques. Il est donc nécessaire de réaliser des examens complémentaires pour établir un diagnostic de la forme encéphalitique de maladie de Marek.

D'après la littérature, les lésions histologiques cérébrales sont séparées en 2 groupes suivant l'apparition des lésions. Durant la première étape inflammatoire transitoire, les premières lésions observées sont une vascularite suivie d'un œdème vasogénique. Ces lésions sont ensuite remplacées par des lésions prolifératives permanentes caractérisées par des infiltrations lymphoïdes périvasculaires et du neuropile souvent associées à une gliose dans toutes les parties du cerveau (Swayne et al., 1987 ; Cho et al., 1998 ; Gimeno et al., 1999). Les lésions décrites dans notre étude correspondent à ces lésions prolifératives, les lésions transitoires n'ayant pas été observées ici. Des infiltrations lymphoïdes similaires à celles décrites lors de forme classique de maladie de Marek (Nair et al., 2020 ; OIE, 2017) ont été observées sur différents organes viscéraux et nerfs périphériques malgré l'absence de lésions macroscopiques sur ces derniers. Ces lésions étaient moins sévères que celles observées

dans l'encéphale. L'immunohistochimie a permis de révéler que la très grande majorité des cellules lymphoïdes présentes dans les infiltrations dans les différents organes (cerveau, nerfs périphériques et organes viscéraux) étaient des lymphocytes T, comme classiquement décrit lors d'infection à MDV (Mete et al., 2016 ; Nair et al., 2020 ; OIE, 2017).

D'après Nair et al., les formes encéphalitiques de maladie de Marek, décrites sur le terrain sur des lots commerciaux de poulets de chair entre cinq et sept semaines d'âge, sont occasionnelles et causent rarement une surmortalité (Nair et al., 2020). Toutefois, en marge de formes lymphoprolifératives, des signes neurologiques sont occasionnellement décrits : paralysies flasques du cou (Biswas et al., 2018 ; Mescolini et al., 2019), torticolis (Sani et al., 2017), tics nerveux (Mete et al., 2016). Cependant, nous avons vu dans notre étude un nombre significatif de cas cliniques caractérisés par une forme encéphalitique exclusive. De plus, dans 4/13 cas, une surmortalité a été notée sans autre diagnostic établi.

CONCLUSION

La maladie de Marek est toujours d'actualité en France. La forme encéphalitique, décrite ici, touche principalement des poulets non-vaccinés à partir de 6 semaines d'âge et doit faire partie intégrante du diagnostic différentiel en cas de signes nerveux chez le poulet. La suspicion est établie par l'observation d'une paralysie (principalement du cou) associés ou non à d'autres signes neurologiques. Le diagnostic est confirmé par l'identification histologique d'une infiltration lymphoïde (majoritairement par des lymphocytes T) dans l'encéphale mais aussi des nerfs périphériques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Biswas D, Ruba T, Yasmin A, Nazneen MR, Hossain MM, Khan M., 2018. SAARC J Agric., (16), 181–192.
- Boodhoo N, Gurung A, Sharif S, Behboudi S., 2016. Vet Res., 47:119.
- Cho KO, Endoh D, Qian JF, Ochiai K, Onuma M, Itakura C., 1998. Avian Path., (27), 512-517.
- Davidson I., 2020. Animals., (10), 1319.
- Gimeno IM, Witter RL, Reed WM., 1999. Avian Dis., (43), 721-737.
- Gimeno IM, Witter RL, Hunt HD, Reddy SM, Neumann U., 2001. Avian Path., (30), 397-409.
- Kurokawa A., Yamamoto Y., 2020. Vet. immunology and immunopathology (228), 110088.
- Mescolini G, Lupini C, Felice V, Guerrini A, Silveira F, Cecchinato M, Catelli E., 2019. Poult. Sci. (98), 3130–3137.
- Mete A, Gharpure R, Pitesky ME, Famini D, Sverlow K, Dunn J., 2016. Avian Dis., (60), 826–836.
- Nair V, Gimeno I, Dunn J., 2020. In : Marek's Disease. In: Diseases of poultry 14th ed. (Swayne DE et al. editors) Hoboken, NJ : Wiley-Blackwell. p. 550–587.
- [OIE] World Organisation for Animal Health., 2017 In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris, Chapter 3.3.13.
- Sani NA, Aliyu HB, Musa IW, Wakawa AM, Abalaka SE, Oladele SB, Sa'idu L, Abdu PA., 2018. Sokoto J. Vet. Sc., (15) 36-41.
- Shi M, Li M, Wang W, Deng Q, Li Q, Gao Y, Wang P, Huang T, Wei P., 2020. Viruses. (12), 1048.
- Swayne DE, Fletcher OJ, Schierman LW., 1989. Avian Path., (18), 385–431.
- Wajid S, Walkden-Brown S, Vanselow B, Islam A, Renz K., 2015. Aust. Vet. Jour., (93), 240–247.

Tableau I. Données cliniques et épidémiologiques des 13 lots diagnostiqués « forme encéphalitique de la maladie de Marek » ; - = mortalité journalière <0,1%, sinon le pic de mortalité journalière a été noté.

Elevage	Mois/ Année	Age (j)	Production (poulet de chair)	Mortalité journalière	Paralysies	Autres signes neurologiques	Vaccin contre la maladie de Marek
A	02/18	32	Standard	1,3%	Aucune	Tics nerveux	Aucun
B	10/17	45	Certifié	-	Cou	Tics nerveux	Aucun
C	07/18	46	Certifié	0,7%	Cou	Aucun	Aucun
D	10/19	46	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
E	12/17	48	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
F	01/17	49	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
G	01/18	53	Certifié	0,2%	Cou et ailes	Aucun	Aucun
H	09/19	54	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
I	11/17	55	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
J	10/19	56	Certifié	0,9%	Aucune	Torticollis	Aucun
K	08/19	56	Certifié	-	Aucune	Aucun	Aucun
L	05/19	61	Label	-	Ailes	Tics nerveux, torticollis	HVT
M	08/19	77	Label	-	Cou	Aucun	HVT

Figure 1. Photographie de poulets présentant des signes neurologiques dans le lot B : Paralysie flasque du cou (flèche du bas), tics nerveux (flèche du haut)



Figure 2. Microphotographies histopathologiques du système nerveux central et périphérique. Coloration hématoxyline et éosine (H&E) x20 : infiltration lymphocytaire multifocale modérée dans le cerebellum (A) et dans le nerf sciatique (B).

Immunohistochimie, marquage CD3, x20 : mise en évidence des CD3 positifs, compatibles avec des lymphocytes T, dans le cerebellum (C) et dans le nerf sciatique (D). Sujets issus du lot D.

