

ÉVALUATION TERRAIN D'UN VACCIN VIVANT CONTRE *MYCOPLASMA* *SYNOVIAE* CHEZ DES DINDES REPRODUCTRICES, PAR PCR ET ELISA

Dubord Xavier¹, Godener Claire²

¹LABORATOIRE LCV - Z.I. Plessis Beucher - 35220 CHATEAUBOURG,

²CHENE VERT - 4 Rue Théodore Botrel – 22600 LOUDEAC
x.dubord@laboratoirelcv.com

RÉSUMÉ

Mycoplasma synoviae (Ms) est un pathogène majeur des volailles. Chez les dindes, Ms peut provoquer une mortalité importante associée à des aérosacculites, des sinusites infra-orbitaires, des arthrites voire des synovites. L'infection par Ms est l'une des principales causes d'abattage précoce des lots de dindes reproductrices en France. À la suite de ce constat, il a été décidé d'évaluer un vaccin vivant atténué autorisé en poulets sur des dindes reproductrices d'un couvoir historiquement confronté à des épisodes d'infection par Ms. Entre juin 2017 et août 2021, 90 lots indemnes de Ms ont été vaccinés à 7 semaines d'âge avec le Vaccin MS-H en goutte dans l'œil (+ rappel à 65 semaines en cas de périodes de ponte prolongées). Un suivi a été mis en place afin d'évaluer la prise vaccinale et d'identifier une éventuelle infection par une souche sauvage de Ms : des PCR réalisées à partir d'écouvillonnages trachéaux toutes les 4 semaines sur les reproducteurs et sur 6 lots de dindes de chair à l'âge de 1 et 21 jours provenant de parentaux vaccinés. L'ADN obtenu à partir de ces PCR était ensuite testé avec une PCR DIVA. Des ELISA Ms ont été effectués à partir de sang prélevé dans 20 lots de reproducteurs et dans 6 lots de dindes de chair prélevés à l'âge de 1 et 21 jours issus de parents vaccinés. La première observation de cette étude est qu'il n'y a pas eu de réaction vaccinale clinique après l'administration du vaccin. La souche vaccinale n'a pas été détectée dans la progéniture par PCR. Le taux de positivité MS-H par PCR est variable selon les lots mais en moyenne très bon 9 semaines après la vaccination (96%). Ce taux de positivité diminue avec l'âge et augmente à nouveau après une vaccination de rappel effectuée pour des lots dont les périodes de ponte devaient être prolongées. Les titres ELISA Ms sont très faibles et augmentent progressivement avec l'âge. Un titre ELISA positif a été détecté sur 1 seul dindonneau d'1 jour (sur 120 testés) issu de parentaux de 64 semaines d'âge. Ces anticorps maternels disparaissent au bout de 21 jours. Depuis 2017, aucune contamination par une souche sauvage Ms n'a été identifiée dans l'entreprise concernée. En conclusion, le suivi par PCR est une méthode appropriée pour évaluer la prise vaccinale des dindes vaccinées avec le Vaccin MS-H.

ABSTRACT

Field evaluation of a *Mycoplasma synoviae* live vaccine in turkey breeders, by PCR and serology

Mycoplasma synoviae (Ms) is a major poultry pathogen. In turkeys, Ms can cause significant mortality associated with airsacculitis, infra-orbital sinusitis, arthritis and/or synovitis. The Ms infection is one of the main causes of early slaughter of turkey breeder flocks in France. Thus, it was decided to evaluate an attenuated live vaccine, authorized in chicken, in turkey breeders from a hatchery historically confronted with episodes of Ms infections. Between June 2017 and August 2021, 90 flocks free of Ms were vaccinated at 7 weeks of age with MS-H Vaccine by eye drop (+ booster at 65 weeks in case of extended laying periods). Monitoring was organised to assess vaccine uptake and identify wild strain Ms challenge: PCR performed from tracheal swabs every 4 weeks on all flocks and on 6 flocks of broiler turkeys at 1 and 21 days of age from vaccinated parents. The DNA obtained from these PCRs was then tested with a DIVA PCR. Ms ELISAs were performed from 20 flocks of turkey breeders and from 6 flocks of broiler turkeys sampled at 1 and 21 days of age from vaccinated parents. The first observation is that there was no clinical vaccine reaction after administration of the vaccine. The vaccine strain was not detected in progeny by PCR. MS-H PCR positivity rate is variable but on average very good 9 weeks after vaccination (96%). This positivity rate decreases with increasing age and increases again after the booster vaccination carried out in flocks with extended laying periods. The Ms ELISA titres were very low and progressively increased with age. A positive titre was detected in one single day-old turkey from parents at 64 weeks of age. These maternally derived antibodies disappear after 21 days of age. Since 2017, no contamination with wild strains of Ms has been identified in the company. In conclusion, PCR monitoring is an appropriate method to assess the vaccination intake of turkeys vaccinated with MS-H Vaccine.

INTRODUCTION

Mycoplasma synoviae (Ms) est un pathogène majeur et largement répandu chez les volailles. En dindes de chair, Ms peut provoquer une mortalité importante suite à une contamination verticale ou horizontale. Les signes cliniques associés à l'infection par cette bactérie peuvent être des aérosacculites (augmentation des saisies à l'abattoir), des sinusites infra-orbitaires, des arthrites voire des synovites, nécessitant de coûteux traitements antibiotiques (Van Meirhaeghe *et al.* 2015).

La pression infectieuse de Ms en France est importante comme le soulignait d'anciennes études de prévalence : notamment 60% de séroprévalence en poules pondeuses (Bouchardon *et al.* 2012) et 9% (Dheilly, 2003) à 10% (Kermogant, 1998) en dindes de chair. Si la prévalence est cependant variable d'une année à l'autre, la pression infectieuse sur les élevages de dindes reproductrices reste importante car les volailles potentiellement porteuses de Ms sont de plus en plus élevées en extérieur.

En dindes reproductrices, la prévalence est très basse. Les animaux contaminés sont souvent plus âgés lors d'une contamination par Ms et ne présentent aucun symptôme. Pour autant, les infections Ms sont une des principales causes d'abattage précoce de dindes reproductrices en France car le risque de contamination verticale est réel pour les éleveurs de dindes de chair.

En France et dans d'autres pays du monde, des vaccins sont utilisés pour protéger les volailles contre les conséquences cliniques et économiques des infections Ms.

Le Vaccin MS-H est indiqué pour une utilisation chez les futures poules pondeuses et futures poules reproductrices. Ce vaccin est autorisé en Union Européenne depuis 2012 avec une indication pour réduire les lésions des sacs aériens et le nombre d'œufs présentant une formation anormale de la coquille due à Ms.

En 2007, ce vaccin avait été testé en dindes de chair afin d'évaluer son efficacité contre les conséquences cliniques des infections Ms (Noormohammadi *et al.* 2007). Selon cet essai, le Vaccin MS-H en goutte dans l'œil ou pulvérisation colonisait les voies respiratoires supérieures et induisait une réponse sérologique, sans pour autant provoquer de lésions des sacs aériens, des articulations ou des trachées. L'examen histopathologique des dindes vaccinées après exposition à une épreuve virulente de Ms avait révélé que l'administration du vaccin par goutte dans l'œil ou pulvérisation, à la dose recommandée pour les poulets, protégeait les dindes contre les lésions macroscopiques/microscopiques et la colonisation de la trachée par des souches de Ms sauvages. La pulvérisation de ce vaccin sur les dindes de chair placées en isolateur avait donné de meilleurs résultats que l'application d'une goutte dans l'œil. Toutefois,

on peut probablement penser qu'en condition terrain, cela aurait été différent car la technique d'administration par pulvérisation en élevage commercial entraîne une perte significative de dose vaccinale (de Wit *et al.*, 2013).

À la suite de ce constat, il a été décidé d'évaluer la sécurité, l'efficacité et la réponse vaccinale vis-à-vis de ce vaccin sur des dindes reproductrices d'un couvoir historiquement confronté à des épisodes d'infection par Ms.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Choix des élevages

Un couvoir français de dindes reproductrices a été choisi car cette entreprise a été historiquement confrontée à des épisodes de Ms dans ses élevages, occasionnant des abattages de lots (5 contaminés par Ms entre 2014 et 2017). Parmi ces cas, un élevage avait été contaminé deux fois consécutivement sans que la faute soit imputable à l'éleveur. Pour l'entreprise, il est très compliqué de ne plus travailler avec certains élevages même s'il y a des récidives. Les élevages sont tous situés dans le Grand-Ouest de la France, zone très dense en volailles et donc de forte pression de Ms.

La biosécurité des élevages est donc importante (douche, changement de tenue...) mais pas infaillible face à un germe qui peut diffuser par voie aéroportée jusqu'à 8 km sur des particules de poussière ou de squames (Hy-Line International 2020).

En plus de l'impact économique de ces abattages précoces, il y a un impact humain important pour le personnel de l'entreprise, à cause des perturbations importantes du planning de production, et pour les éleveurs qui perdent précocement des animaux sans symptôme apparent.

1.2. Animaux

Les souches génétiques dindes (mâles et femelles), destinées à la reproduction, étaient la *Premium* (Aviagen Turkeys) et la *Grade Maker* (Hybrid). Entre juin 2017 et août 2021, 430 000 animaux (90 lots de mâles et femelles en production) ont été suivis après leur vaccination avec le Vaccin MS-H. Leur aliment était classique. Les animaux étaient transférés sur le site de ponte vers 29 semaines d'âge pour un début de production vers 32 semaines d'âge. La fin d'une production normale d'œufs à couver pour ces dindes reproductrices étaient vers 55-57 semaines d'âge. Certains lots ont été contraints de faire une période de de ponte supplémentaire de 67-70 à 87-90 semaines d'âge.

1.3. Choix du vaccin

Il s'agit d'un vaccin commercial contre Ms autorisé en poulets et composé d'une souche vaccinale vivante, atténuée et thermosensible nommée MS-H. Chaque dose de 30 µL de vaccin contient au

minimum $10^{5.7}$ unités de changement de couleur. Le nom de ce vaccin est Vaccin MS-H Collyre en suspension (Pharmsure Veterinary Products Europe Ltd).

Tous les animaux ont été vaccinés à 7 semaines d'âge en goutte dans l'œil (une dose par animal comme chez le poulet et comme cela avait été fait avec succès dans l'essai de Noormohammadi *et al.* 2007) et pour certains lots devant faire une période de ponte supplémentaire, une deuxième application en goutte dans l'œil a été faite vers 65 semaines d'âge.

Une analyse PCR Ms a été réalisée 2-3 jours avant la vaccination pour s'assurer que tous les animaux à vacciner étaient négatifs Ms.

1.4. Choix des kits PCR

Le kit PCR choisi pour détecter les souches de Ms sauvages ou vaccinale était un kit PCR Mg/Ms temps-réel classique ciblant l'ARN 16s : Adiavet® Myco Av Fast Time (Adiagene). L'ADN obtenu à partir de cette PCR était ensuite testé avec une PCR temps-réel DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) : Adiavet™ MS-H DIVA Fast Time (Adiagene). Ce kit détecte spécifiquement les souches de Ms (100% dans le dossier de validation, référence ADI561-100), tout en différenciant les infections par des souches sauvages Ms de la souche vaccinale MS-H.

1.5. Choix des kits ELISA

Le kit ELISA Ms utilisé lors de cette étude était celui de Biochek car il spécifie clairement la possibilité d'analyse des anticorps de sérums de dindes. Selon les spécifications du fournisseur, un titre a été considéré comme positif à partir de 594.

1.6. Suivi des lots vaccinés

Le but de ce suivi était d'évaluer la prise vaccinale et d'identifier des souches sauvages de Ms.

Pour l'analyse PCR sur les reproducteurs, 40 écouvillonnages trachéaux ont été réalisés chez les femelles et 20 chez les mâles (analysés par pool de 3) toutes les 4 semaines et pour tous les lots.

Concernant les dindes de chair issues de parents vaccinés, 10 écouvillonnages trachéaux ont été faits sur 6 lots à l'âge de 1 et 21 jours.

Des prises de sang pour sérologie ELISA Ms étaient effectuées sur 10 reproducteurs par lot (19 lots de femelles et 1 lot de mâles) à 28, 32, 44 et 52 semaines d'âge.

Pour les dindes de chair issues de parents vaccinés, 20 prises de sang par lot (6 lots) ont été prélevées à 1 et 21 jours d'âge.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de PCR MS-H sur les dindes femelles (Figure 1) à 16 semaines d'âge étaient très positifs (96 % en moyenne). Seuls 2 lots négatifs à 24

semaines d'âge ont dû être revaccinés pour détecter la souche par PCR. L'absence de détection de la souche vaccinale par PCR dans ces deux lots pourrait être due à une erreur d'utilisation du vaccin, qui doit être appliqué dans les 2 à 3 heures après décongélation dans une eau à moins de 35°C pour éviter une diminution de la viabilité de la souche vaccinale.

Le taux de PCR positives MS-H a diminué avec l'âge (environ 61% de PCR MS-H positives 49 semaines après vaccination (= 56 semaines d'âge) : fin d'une période normale de production) et a augmenté à nouveau après une vaccination de rappel réalisée à 65 semaines dans les troupeaux ayant des périodes de ponte prolongées (Figure 2).

Les dindes de chair âgées de 1 ou 21 jours provenant de parents vaccinés étaient toutes négatives en PCR (données non présentées).

Le taux de PCR positives MS-H chez les mâles (Figure 3) est plus haut que chez les femelles (p -value=8,33x10⁻²¹ Aspin-Welch).

Les titres Ms ELISA ont augmenté progressivement avec l'âge (Figure 4) même si la corrélation entre le taux de positivité Ms ELISA et l'âge des animaux était faible (23% de sérums faiblement positifs 20 semaines après la vaccination et 55% 45 semaines après la vaccination). Les femelles séropositives semblaient capables de transmettre des anticorps détectables aux issus d'un jour (Figure 5), bien que cela ait été rare et plus probable en fin de ponte lorsque les titres des parentaux étaient à leur maximum. Des anticorps d'origine maternelle ont été détectés seulement sur un dindonneau d'1 jour issu de parents de 64 semaines d'âge.

Les anticorps d'origine maternelle étaient indétectables lorsque la descendance était âgée de 21 jours (données non présentées).

En discussion, la première observation de cette étude était que le Vaccin MS-H en goutte dans l'œil n'a provoqué aucune réaction vaccinale sur les dindes reproductrices. La souche vaccinale n'a pas non plus été détectée sur les issus par PCR (pas de transmission verticale de la souche vaccinale).

Deuxièmement, concernant la prise vaccinale, le pourcentage d'écouvillons positifs MS-H (PCR) était très haut au début de la période de production puis diminuait avec l'âge. Chez les mâles, ces résultats étaient un peu plus haut que chez les femelles, peut-être car ces animaux étaient vaccinés plus lentement ; à moins qu'il y ait un effet sexe ?

La variabilité des résultats PCR ($R^2 < 0,006$) pourraient être expliquée par la technique de prélèvement (écouvillonner dans les trachées plus compliqué/moins sensible que dans les fentes palatines ?).

À titre de comparaison, le pourcentage de PCR positives pour la souche MS-H chez les dindes reproductrices était de 97% 10 semaines post-vaccination et de 61% 49 semaines post-vaccination.

Dans l'étude de Moronato (2018), 100% des PCR étaient positives 10 semaines après la vaccination MS-H de poules reproductrices et jusqu'à 49 semaines post-vaccination (vaccin fait à 4 semaines d'âge).

Concernant les titres ELISA Ms des dindes reproductrices de notre étude, ils étaient faibles et augmentaient lentement avec l'âge. Comparés aux résultats obtenus chez les poules reproductrices (Moronato *et al.*, 2018 et Todte, 2014), les titres en anticorps humoraux semblent donc moins élevés chez les dindes reproductrices ; constat qu'il faut peut-être relativiser car le kit ELISA contient des anticorps anti-anticorps de poulet. Chez les poules reproductrices, 72 % des titres ELISA étaient positifs 5 semaines après la vaccination MS-H (titres moyens Biochek 1540, contre 400 en dindes reproductrices et 0% d'ELISA positive) et 100 % positifs 37 semaines après la vaccination (titres moyens Biochek 2851, contre 670 en dindes reproductrices et 55% d'ELISA positives). Ainsi, les titres ELISA de la descendance semblaient plus élevés chez les poulets (37% d'ELISA positives pour la descendance des poules reproductrices vaccinées 37 semaines plus tôt et 100% d'ELISA positives pour la descendance des poules reproductrices vaccinées 47 semaines plus tôt ; contre 0% d'ELISA positives pour des dindonneaux d'1 jour issus de dindes reproductrices ayant moins de 57 semaines d'âge).

A 57 semaines d'âge, le vétérinaire de l'entreprise décida de revacciner les troupes ayant des périodes de ponte prolongées avec le Vaccin MS-H en goutte dans l'œil. Cela permit d'augmenter les taux de positivité PCR et peut-être grâce à cela, de mieux

protéger les animaux. Comme étudié chez les poulets (Feberwee *et al.* 2017), nous pouvons supposer que la présence de la souche vaccinale MS-H dans l'appareil respiratoire supérieur peut être corrélée à la capacité réduite des souches sauvages de Ms de coloniser l'appareil respiratoire des oiseaux et donc offrir une meilleure protection contre les infections par Ms.

Depuis 2017, aucune contamination par une souche sauvage de Ms n'a été identifiée dans l'entreprise concernée, ce qui semble démontrer l'efficacité du Vaccin MS-H à protéger les dindes reproductrices contre les infections par les souches sauvages de Ms. Le personnel de l'entreprise est donc moins stressé par une éventuelle contamination par une souche sauvage de Ms depuis la mise en place de la vaccination avec le Vaccin MS-H.

CONCLUSION

Le suivi PCR est un outil approprié pour évaluer la prise vaccinale des dindes reproductrices vaccinées avec le Vaccin MS-H en goutte dans l'œil.

Malgré l'efficacité supposée du Vaccin MS-H, la souche vaccinale a semblé coloniser l'appareil respiratoire supérieur des dindes reproductrices moins intensément et durablement que chez les poules reproductrices, ce qui se traduit par moins d'anticorps humoraux, à moins que la technique de prélèvement ou la nature du test ELISA soient responsables de ces différences.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alessandri E.P., 2005. Italian Journal of Animal Science, (4), 282-286.
 Bouchardon A., 2012. Le Nouveau Praticien Vétérinaire élevages et santé, (5), 40-43.
 De Wit J.J., 2013. WVPA conference, Nantes, 63-66.
 Feberwee A., 2017. Avian Pathology, (46), 346-358.
 Hy-Line International, 2020. <https://www.hyline.com/Upload/Resources/TU%20MS%20FRN.pdf> (consulté le 30.10.2023).
 Kermogant P., 1998 and Dheilly A., 2003. Données du RENESA (Réseau National d'Epidémiosurveillance en Aviculture).
 Moronato M.L., 2018. BMC Vet Res., (14), 357.
 Noormohammadi A.H., 2007. Avian Diseases, (51), 550-554.
 Todte M., 2014. "FAQ MS-H" First international avian mycoplasma conference, Antwerp.
 Van Meirhaeghe H., 2015. WVPA conference, Capetown, 128.

Figure 1. Pourcentage d'écouillons positifs avec la PCR MS-H pour les femelles (période normale de ponte)

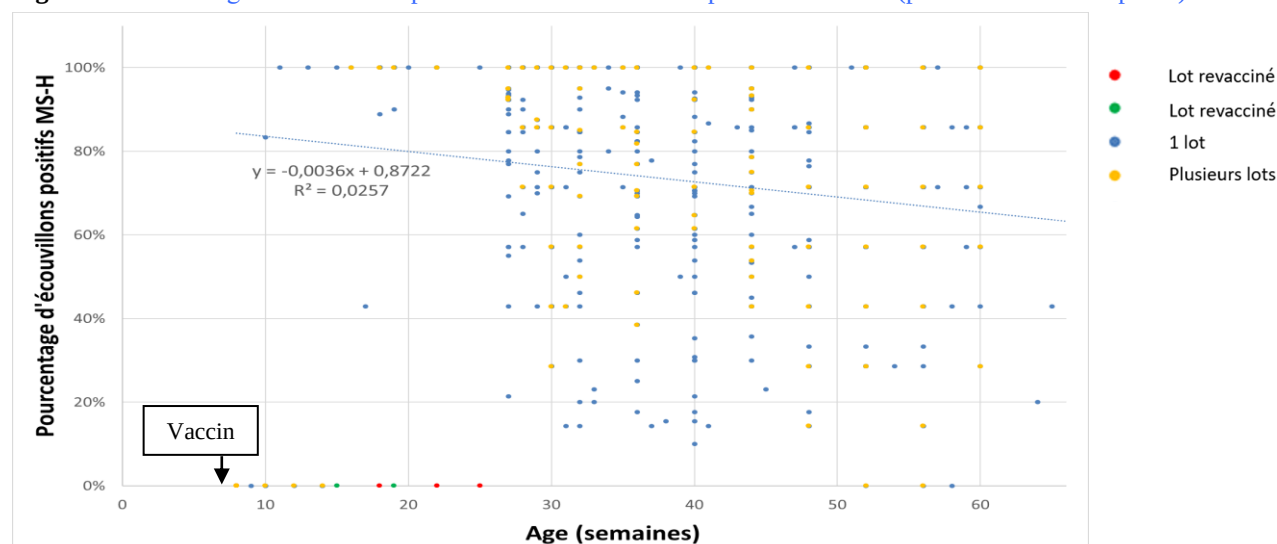


Figure 2. Pourcentage d'écouvillons positifs avec la PCR MS-H pour les femelles (2^{ème} période de ponte)

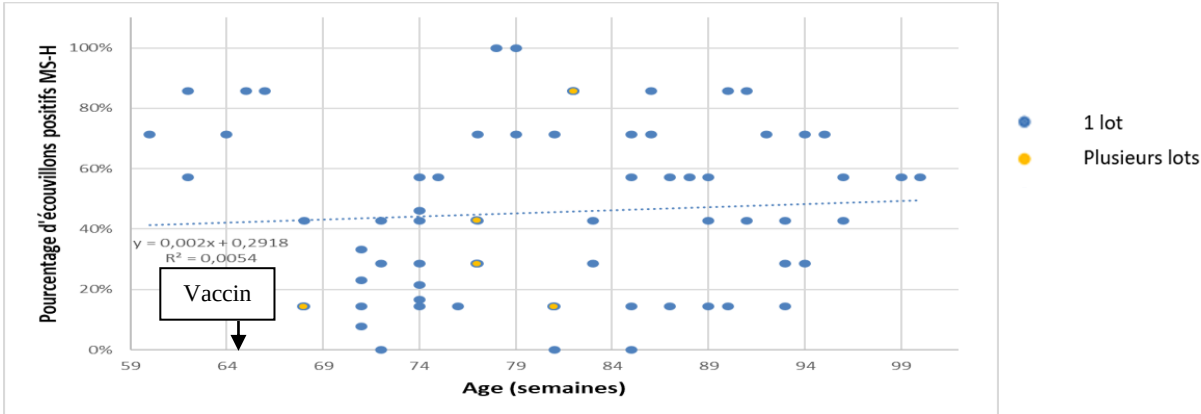


Figure 3. Pourcentage d'écouvillons positifs avec la PCR MS-H pour les mâles

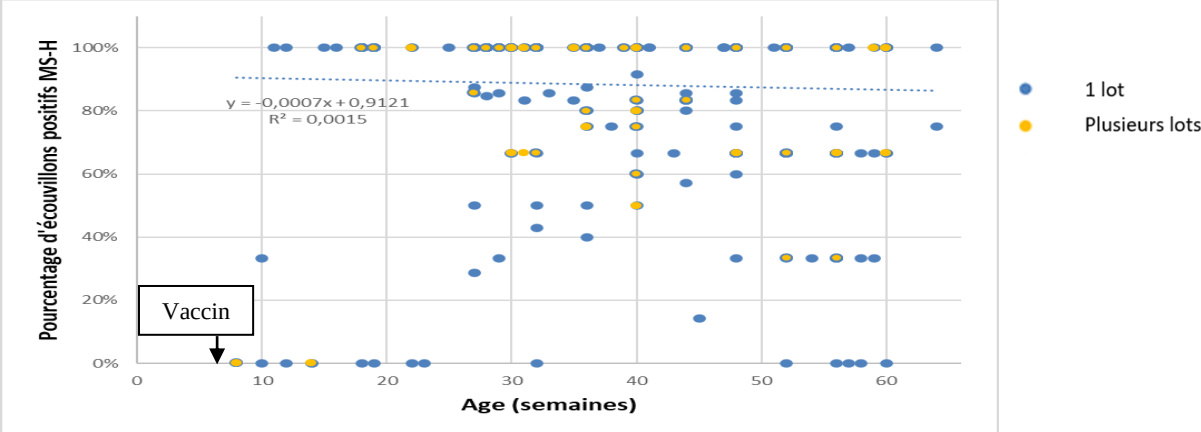


Figure 4. Moyennes de titres ELISA Ms (période normale de ponte ; femelles et mâles)

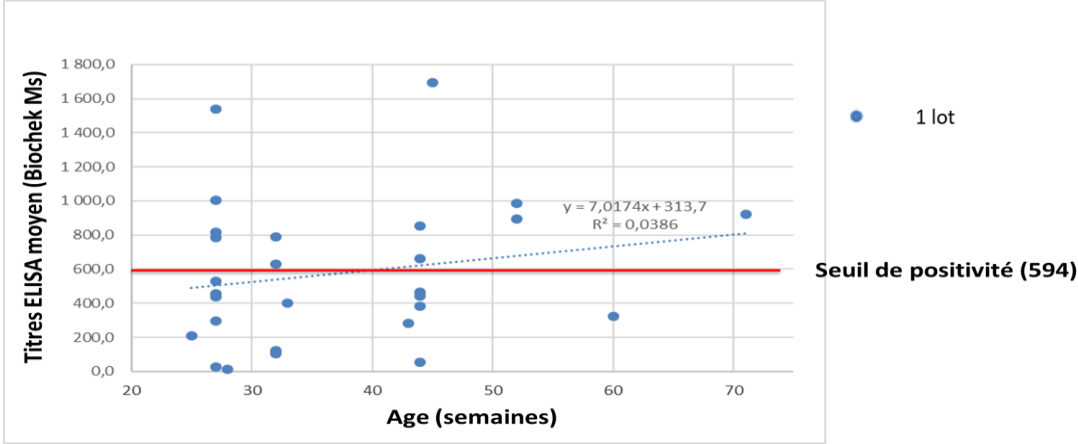


Figure 5. Titres ELISA Ms sur les issus d'1 jour d'âge (selon l'âge des parents vaccinés)

