

INFECTION EXPERIMENTALE DE POULETS ET DE CANARDS A L'AIDE DE LA SOUCHE *MYCOPLASMA IMITANS* 4229

Kempf Isabelle, Gesbert Fabienne et Guittet Michèle

CNEVA- Ploufragan, Unité de Mycoplasmologie - Bactériologie, Zoopole, BP 53, 22440 Ploufragan

Résumé

L'espèce *Mycoplasma imitans* (MI), initialement isolée à partir de canard, oies et perdrix est sérologiquement distincte des autres espèces de mycoplasmes à l'exception de *Mycoplasma gallisepticum*, ces deux espèces présentant 40 à 46 % d'homologies au niveau génétique. Les travaux décrits ici visaient donc à étudier le pouvoir pathogène de cette espèce mycoplasmique pour le canard et pour le poulet et à connaître les conséquences d'une infection par ce mycoplasme vis-à-vis des programmes de dépistages sérologique des infections à *Mycoplasma gallisepticum*. Dans ce but, l'infection expérimentale de canards et de poulets exempts d'organismes pathogènes spécifiés a été réalisée à l'aide de la souche MI 4229. Les conséquences cliniques sont peu importantes chez le canard comme chez le poulet. L'infection peut être mise en évidence par culture ou agglutination rapide sur lame (ARL) réalisée sur les sérums dilués et non dilués à l'aide de l'antigène agglutinant *M. imitans*. Quelques réactions croisées vis-à-vis de *M. gallisepticum* sont notées quand les sérums de canard ou de poulets sont testés par ARL ou à l'aide de deux tests immuno-enzymatiques du commerce.

Abstract

Experimental infection of ducks and chickens with *Mycoplasma imitans* 4229

Mycoplasma imitans (MI) type strain 4229 was isolated from the turbinate of a duck with respiratory disease. The species is serologically distinct from other mycoplasma species except *M. gallisepticum* (MG) to which it is genetically related at a level of approximately 40 to 46 %. In order to determine whether *M. imitans* represents a pathogen for ducks or chickens or may complicate serological testing programs for MG, an experimental infection of specific pathogen free ducks and chickens was performed. Result showed that MI could detect positive birds but it was necessary to test duck sera undiluted and diluted. Moreover when sera were tested with MG antigen, either with SA test or commercial ELISA tests, a few cross reactions to MG antigen were observed.

Introduction

La souche *Mycoplasma imitans* 4229 a été isolée de l'appareil respiratoire de canards présentant des symptômes respiratoires. L'espèce *Mycoplasma imitans* est sérologiquement distincte des autres espèces de mycoplasmes à l'exception de *Mycoplasma gallisepticum*, ces deux espèces présentant 40 à 46% d'homologies au niveau génétique. Les travaux décrits ici visaient donc à étudier le pouvoir pathogène de cette espèce mycoplasmique pour le canard et pour le poulet et à connaître les conséquences d'une infection par ce mycoplasme vis-à-vis des programmes de dépistage sérologique des infections à *Mycoplasma gallisepticum*.

Dans ce but, l'infection expérimentale de canards et de poulets exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS) a été réalisée.

Matériel et méthodes

Vingt-cinq canards EOPS âgés de quatorze jours et vingt-cinq poulets EOPS du même âge sont inoculés par voie intra-trachéale à l'aide de 0,2ml d'une culture de la souche *M. imitans* titrant 10^7 unités changeant couleur par millilitre. Onze, 31, 42 et 52 jours après infection (PI), les symptômes respiratoires sont relevés. Des écouvillonnages de trachées sont réalisés à partir de quinze canards et quinze poulets et des écouvillonnages de cloaques sont effectués à partir de dix canards et dix poulets et mis en culture sur milieu FM4 pour la recherche de mycoplasmes. Aux mêmes dates, des prises de sang sont réalisées. Les anticorps spécifiques de *Mycoplasma imitans* sont recherchés selon la méthode d'agglutination rapide sur lame (ARL) à l'aide de l'antigène *M. imitans* (Sanofi, France). De plus, les anticorps dirigés contre *M. gallisepticum* sont recherchés par ARL à l'aide de l'antigène *M. gallisepticum* (Intervet, France). Les sérums sont testés non dilués puis après dilution au

1/5ème en solution tamponnée au phosphate (). Les anticorps anti *M. gallisepticum* sont recherchés dans les sérums de poulets à l'aide d'un test immuno-enzymatique indirect (MG KPL, Gaiterburg) selon les recommandations du fabricant ; enfin les sérums de poulets et de canards sont testés vis-à-vis de MG à l'aide d'une méthode immunoenzymatique par blocage (Svanovir, Suède) réalisée selon les indications du fournisseur. Les oiseaux sont sacrifiés 52 jours PI et les lésions sont recherchées.

Résultats

Signes cliniques

Aucun symptôme respiratoire n'est observé. Les lésions observées à J52 sont peu importantes et se limitent à de légères aérosacculites présentes sur six canards et un poulet et à une péricardite notée sur un canard.

Réisolement de *Mycoplasma imitans*

Les résultats des cultures effectuées 11, 31, 42 et 52 jours PI sont présentés dans le tableau 1. De J11 à J42, 9/15 à 15/15 des écouvillons de trachée de canards sont trouvés positifs en culture. Seul un écouvillon de cloaque de canard est positif à J42. Les cultures de mycoplasmes effectuées à partir des écouvillons de trachées ou de cloaques prélevés sur les poulets à J11 ou J31 sont négatives. A J42, un écouvillon de trachée de poulet et un écouvillon de cloaque provenant d'un autre poulet sont positifs en culture.

Réponse sérologique vis-à-vis de *Mycoplasma imitans*

Les résultats des ARL *M. imitans* sont présentés dans le tableau 2.

A J11, trois des 25 sérums de canards testés non dilués sont positifs. Cependant après dilution, vingt sérums agglutinent l'antigène. A J31, la plupart des sérums non dilués ou dilués paraissent positifs. A J42 et à J52, l'ARL effectuée avec les sérums testés non dilués donne 24/25 positifs ; 11/25 et 17/25 sérums respectivement réagissent encore après dilution. Pour les sérums de poulets, de 2/25 à 6/25 sérums seulement sont positifs non dilués de J11 à J42. Après dilution 2/25 sérums au maximum réagissent avec l'antigène MI.

Réponse sérologique vis-à-vis de *Mycoplasma gallisepticum*

Lorsque les sérums sont testés par ARL avec l'antigène *Mycoplasma gallisepticum*, deux sérums de canards réagissent, dilués ou non dilués, à J11. Tous les autres sérums sont négatifs

Avec le test ELISA KPL, la plupart des sérums de poulets testés sont négatifs. Seul un poulet donne un résultat douteux à J31 et J42. Avec le test MG Svanovir, tous les sérums de poulets sont négatifs, ainsi que la plupart des sérums de canards. Un canard paraît douteux à J42 et positif à J52.

Discussion

Dans nos conditions expérimentales, *Mycoplasma imitans* peut infecter durablement le canard mais s'implante plus difficilement chez le poulet. Les conséquences cliniques de cette infection semblent limitées. Des observations similaires sont rapportées par Ganapathy et Bradbury. Cependant les travaux de ces auteurs montrent également que *M. imitans* peut exacerber le pouvoir pathogène de virus à tropisme respiratoire tels que le virus de la bronchite infectieuse. Ainsi les lésions de sinusite, trachéite et aérosacculite sont plus sévères chez des poussins expérimentalement infectés à l'aide de virus et de mycoplasmes comparés aux oiseaux inoculés avec le seul virus.

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de l'infection expérimentale décrite ici montrent que l'infection peut être détectée chez le canard soit par culture, soit par ARL réalisée à l'aide de l'antigène agglutinant spécifique *Mycoplasma imitans*. Il semble cependant nécessaire de tester tous les sérums dilués et non dilués. Quelques réactions croisées vis-à-vis de *Mycoplasma gallisepticum* peuvent être observées lorsque les sérums sont testés à l'aide de la technique ARL ou de kits immunoenzymatiques.

Références

- Bradbury J.M., O.M. Saed Abdul-Wahab, C.A. Yavari, J.P. Dupiellet et J.M. Bové, Int. J. of Systematic Bacteriology, 1993, 43, 721-728.
Ganapathy K. and J.M. Bradbury. Pathogenicity of *Mycoplasma imitans* in dual infection with infectious bronchitis virus in chicks. Abstract of the 11th International Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Orlando, Florida, July 14-19 1996

TABLEAU 1 : réisolement de *Mycoplasma imitans*

jour	écouvillons de trachée de canards	écouvillons de cloaque de canards	écouvillons de trachée de poulets	écouvillons de cloaque de poulets
J11	9/15*	0/10	0/15	0/10
J31	10/15	0/10	0/15	0/10
J42	15/15	1/10	1/15	1/10
J52	0/15	0/10	0/15	0/10

* : nombre d'oiseaux positifs en culture/nombre d'oiseaux testés

TABLEAU 2 : Agglutination rapide sur lame vis-à-vis de l'antigène *Mycoplasma imitans*

jour PI	serums de canards		serums de poulets	
	non dilués	1:5	non dilués	1:5
J11	3/25*	20/25	6/25	2/25
J31	24/25	22/25	2/25	1/25
J42	24/25	11/25	5/25	1/25
J52	25/25	17/25	2/25	1/25

* : nombre d'échantillons positifs/nombre d'échantillons testés

TABLEAU 3 : Agglutination rapide sur lame vis-à-vis de l'antigène *Mycoplasma gallisepticum*

jour PI	serums de canards		serums de poulets	
	non dilué	1:5	non dilué	1:5
J11	2/25*	2/25	0/25	0/25
J31	0/25	0/25	0/25	0/25
J42	0/25	0/25	0/25	0/25
J52	0/25	0/25	0/25	0/25

* : nombre d'échantillons positifs/nombre d'échantillons testés