

STRATEGIES D'ERADICATION DES VIRUS LEUCOSIQUES AVIAIRES : ETAT DE LA QUESTION

Lasserre F., Musset E., Esnault Evelyne, Coudert Françoise, Dambrine Ginette

INRA, Station de Pathologie Aviaire et de Parasitologie, 37380 Nouzilly

Résumé

Depuis plusieurs années, on sait que les poulets infectés par les rétrovirus aviaires présentent des performances zootechniques plus faibles que les oiseaux sains ; de plus on observe une mortalité non spécifique plus élevée dans les troupeaux virémiques et des interactions entre les rétrovirus aviaires et le virus de la maladie de Marek ont été décrites. L'éradication de ces virus constituerait donc un facteur de progrès pour les élevages. A cet effet, nous avons comparé la fiabilité de plusieurs prélèvements biologiques et nous avons recherché dans ces échantillons la présence de la protéine de capsid p27 des rétrovirus aviaires par un test immunoenzymatique. Nous avons observé que l'albumen de l'oeuf fournit les résultats les plus satisfaisants. Nous avons éprouvé l'efficacité d'une méthode d'éradication dans des troupeaux expérimentaux, entretenus dans différentes conditions de protection sanitaire. Nous avons observé que les conditions d'élevage peuvent avoir un effet sur l'efficacité des méthodes d'éradication, d'où la nécessité de prendre en compte ce facteur dans les tentatives d'éradication sur le terrain.

Introduction

L'infection par les virus leucosiques aviaires est un phénomène fréquemment observé dans les conditions naturelles. Parmi ces virus, on distingue les virus exogènes ou infectieux et les virus endogènes qui préexistent sous forme d'une copie d'ADN dans le patrimoine génétique des poules saines, non infectées. Les virus exogènes sont à l'origine du développement de néoplasies (Revue de Payne et Purchase, 1991) ainsi que de baisses de performances zootechniques (Gavora et al., 1980) préjudiciables à la rentabilité des élevages avicoles. La transmission verticale ou congénitale (Rubin et al., 1961) qui s'effectue, par l'oeuf, de la poule au poussin, assure le maintien de l'infection d'une génération à l'autre et constitue ainsi l'élément majeur à considérer au plan épidémiologique. La définition d'une stratégie d'éradication reposera par conséquent sur l'identification des poules infectées par le virus et sur leur élimination des troupeaux de reproduction.

Intérêt de la détection de la protéine p27 par un test immunoenzymatique

Dans une telle entreprise, le test de détection du virus figure parmi les facteurs limitants les plus importants. Un test immunoenzymatique (Smith et al., 1979 ; Clark et Dougherty, 1980) permettant la détection de la protéine de capsid p27 est une méthode sensible, fiable, rapide à exécuter et permettant l'analyse simultanée d'un grand nombre d'échantillons.

La détection de la protéine p27 comporte deux avantages essentiels. Cette protéine possède des déterminants antigéniques de groupe (Bolognesi et al., 1975 ; Guyonnet, 1993) et sa révélation permet de démontrer la présence d'un virus leucosique aviaire indépendamment de son sous-groupe. De plus, la protéine p27 est fortement immunogène (Smith, 1977) ; de ce fait, elle constitue un indicateur fidèle de l'infection virale et elle est aisément décelable dans les échantillons biologiques.

L'albumen de l'oeuf est le prélèvement biologique de choix

La présence de protéine p27 dans l'albumen de l'oeuf a été initialement décrite par Spencer et al., 1977. Depuis cette date, les prélèvements biologiques les plus couramment utilisés sont l'albumen de l'oeuf, le méconium et l'écouvillonnage cloacal. Toutefois, à notre connaissance, il n'a pas été décrit de comparaison systématique des données obtenues pour ces différents échantillons avec la technique ELISA.

Pour cette raison, nous avons entrepris une étude comparative, après avoir établi le statut des sujets expérimentaux en réalisant un examen initial sur un échantillon d'albumen. Deux groupes de 17 poules positives et de 64 poules négatives ont ainsi été définis. Trois prélèvements successifs d'albumen, de méconium et d'écouvillonnage cloacal ont été effectués ainsi qu'un prélèvement complémentaire de sang total. L'analyse des données (TABLEAU I) montre sans ambiguïté que l'albumen de l'oeuf fournit les résultats les plus constants. Des données incohérentes sont enregistrées dans 30% des cas au maximum pour les autres prélèvements. On note

l'obtention de données par défaut, dans la population de poules positives, qui peut résulter de diverses origines dont la plus triviale serait la nature beaucoup plus aléatoire du recueil du méconium ou de l'écouvillonnage cloacal. Chez les poules négatives, les échantillons autres que l'albumen fournissent des résultats positifs, par excès. Ces prélèvements étant constitués d'extraits cellulaires, ils pourraient renfermer des protéines rétrovirales endogènes que nous ne détecterions pas dans l'albumen de l'oeuf.

TABLEAU I - Comparaison des prélèvements biologiques pour l'application du test ELISA

Prélèvement	Poules positives	Poules négatives
Albumen	46/46 (100%)	183/183 (100%)
Ecouvillonnage cloacal	9/51 (88%)	152/176 (86%)
Méconium	35/50 (70%)	184/184 (100%)
Sang total	16/17 (94%)	45/53 (85%)

En complément de cette première analyse, nous avons vérifié la persistance de l'excrétion ou de l'absence d'excrétion de la protéine p27 dans l'albumen. A cet effet, deux analyses complémentaires ont été conduites. D'une part, nous avons examiné l'ensemble des oeufs pondus pendant trois semaines par 11 poules qui avaient fourni un résultat positif lors du test initial et 121/124 albumens se sont révélés positifs. D'autre part, nous avons effectué un contrôle hebdomadaire pendant trois mois sur un groupe de 120 poules initialement négatives et 1695/1700 albumens ont fourni des résultats négatifs. Dans les deux cas, nous avons donc observé des résultats cohérents. Les investigations que nous venons de décrire montrent que l'albumen constitue le meilleur candidat pour la détection de la protéine p27 et l'identification des poules positives ; elles confirment les données rapportées par d'autres auteurs (Ignjatovic et Bagust, 1983; De Boer, 1987; Payne et Howes, 1991; Tsukamoto et al., 1991; Yoo et Sheldon, 1991). C'est pourquoi nous avons choisi ce prélèvement pour expérimenter des modalités d'éradication dans des troupeaux de laboratoire afin de dégager les avantages et les inconvénients de la méthodologie proposée.

Une méthode d'éradication des virus leucosiques aviaires

Les modalités suivantes ont été appliquées : un test ELISA a été pratiqué sur deux albumens, récoltés à une semaine d'intervalle. Il a été procédé à l'élimination immédiate des sujets positifs ou douteux ; les générations successives ont été systématiquement examinées. Nous avons choisi d'éprouver ces modalités dans le contrôle de trois souches de laboratoire dont les caractéristiques permettaient d'estimer la faisabilité et les limites de l'éradication.

Deux souches élevées et contrôlées selon les normes requises pour le maintien d'un troupeau EOPS (Exempt d'Organisme Pathogène Spécifié) ont été soumises à cette investigation :

- la souche A de race Leghorn Dorée sensible à plusieurs sous-groupes de virus leucosiques aviaires et au développement d'un large spectre de tumeurs expérimentales;
- la souche B de race Leghorn Blanche dans laquelle plusieurs cas spontanés de leucose lymphoïde avaient été observés.

La troisième souche C de race Rhode Island sélectionnée pour ses hautes performances de croissance était maintenue sans protection sanitaire particulière.

Nous avons enregistré des résultats positifs que l'on peut classer en deux catégories distinctes :

- des albumens fortement positifs avec des absorbances voisines de 1,0 (seuil de détection : 0,1) et une limite de détection se situant à des dilutions comprises entre le 1/500e et le 1/2000e;
- des albumens faiblement positifs avec des absorbances de l'ordre de 0,3-0,5 et devenant négatifs à de très faibles dilutions (1/2, 1/4).

L'examen des générations successives des trois souches soumises au contrôle a fourni les données rapportées dans le TABLEAU II.

Dans la souche de poulets A, nous n'avons pas détecté de sujets fortement positifs lors du premier contrôle. Au cours des générations suivantes, nous avons repéré fortuitement des sujets douteux fournissant des absorbances inférieures à 0,2. La souche A très sensible au développement des tumeurs rétrovirales ne comporte pas de sujet excréteur de la protéine p27 dans l'albumen de l'oeuf ; elle représente de ce fait une souche expérimentale de choix pour les recherches relatives aux rétrovirus aviaires. Lors du premier contrôle de la souche B, nous avons enregistré un taux élevé (de l'ordre de 10%) de poules positives qui est à relier avec l'observation de cas

spontanés de leucose lymphoïde. L'examen des générations successives a conduit à éliminer les poules fortement positives et à réduire sensiblement le nombre de sujets faiblement positifs ou douteux. Enfin, dans la souche C, nous avons noté un faible taux (3%) de poules fortement positives au moment de l'examen initial. Le contrôle des générations successives a soulevé des difficultés puisque nous avons obtenu, des sujets fortement positifs malgré l'élimination des mères excrétaient de la protéine p27 lors des deux étapes précédentes. Ainsi les conditions d'élevage pourraient être à l'origine de ce résultat, comme cela a été observé par d'autres auteurs (Fadly et al., 1983 ; Payne et Howes, 1991).

TABLEAU II - Elimination progressive des virus leucosiques aviaires dans 3 souches de poulets de laboratoire

Souche	Premier test	Evolution	Etat actuel
A	4/70 ¹ 0,2 < ABS < 0,4	10/1245 0,1 < ABS < 0,2	0/48
B	33/300 0,5 < ABS < 1,0	39/1911 0,1 < ABS < 0,3	0/164
C	6/180 0,5 < ABS < 1,0	10/628 0,1 < ABS < 0,9	5/220 0,1 < ABS < 0,50

¹ Nombre d'albumens positifs / Nombre total de tests

ABS = Absorbance

Conclusion

L'effet des conditions d'élevage dans l'application d'une stratégie d'éradication des virus leucosiques est une observation d'une importance capitale pour le sélectionneur de lignées commerciales qui ne doit pas s'engager dans une telle campagne sans mettre en oeuvre les mesures de protection appropriées. De plus, ce dernier sera confronté à l'interprétation des résultats faiblement positifs qui peuvent provenir d'une contamination tardive de la poule ou de l'expression de protéines endogènes (Spencer et Chambers, 1992). La mise en oeuvre de tests immunologiques ou moléculaires permettant de différencier les virus exogènes et endogènes est en cours de réalisation au laboratoire. De telles méthodes amélioreront l'éradication des virus leucosiques des troupeaux de production dans lesquels l'interaction avec le virus de la maladie de Marek est un problème d'actualité préoccupant (Bacon et al., 1989 ; Fadly et Witter, 1993).

Références

- Bacon L.D., Witter R.L., Fadly A.M., 1989. J. Virol., 63, 504-512.
 Bolognesi D.P., Ishizaki R., Huper G., Vanaman T.C., Smith R.E., 1975. Virology, 64, 349-357.
 Clark D.P., Dougherty R.M., 1980. J. Gen. Virol., 47, 283-291.
 De Boer G.F., 1987. In : Avian Leukosis, (GF De Boer edit), Martinus Nijhoff Publishing, Boston, pp 261.
 Fadly A.M., Okazaki W., Crittenden L.B., 1983. Avian Dis., 27, 584-593.
 Fadly A.M., Witter R.L., 1993. Avian Pathol., 22, 565-576.
 Gavora J.S., Spencer J.L., Gowe R.S., Harris D.L., 1980. Poult. Sci., 59, 2165-2178.
 Guyonnet F., 1993. Thèse de l'Université François Rabelais, Tours, 283 pages.
 Ignjatovic J., Bagust T.J., 1983. Avian Pathol., 12, 515-519.
 Payne L.N., Howes K., 1991. Vet. Rec., 128, 8-11.
 Payne L.N., Purchase H.G., 1991. In : Diseases of Poultry, (Calnek edit.), Wolfe Publishing Ltd, Ames Iowa, pp 386.
 Rubin H., Cornelius A., Fanshier L., 1961. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 47, 1058-1069.
 Smith E.J., 1977. Avian Dis., 21, 290-299.
 Smith E.J., Fadly A.M., Crittenden L.B., 1979. Avian Dis., 23, 698-707.
 Spencer J.L., Crittenden L.B., Burmester B.R., Okazaki W., Witter R.L., 1977. Avian Dis., 21, 331-345.
 Spencer J.L., Chambers J.R., 1992. Avian Pathol., 21, 251-259.
 Tsukamoto K., Hasebe M., Kakita S., Hihara H., Kono Y., 1991. J. Vet. Med. Sci., 53, 859-864.
 Yoo B.H., Sheldon B.L., 1991. Br. Poult. Sci., 32, 327-336.