

Compte rendu du Séminaire des mycoplasnologues européens (*)

par Isabelle KEMPF (AFSSA)

(*) Article original paru dans « World's Poultry Science Journal », volume 61, juin 2005, number 2, pages 355-357 - Traduction réalisée par I. Kempf (AFSSA site de Ploufragan, Unité Mycoplasnologie Bactériologie)

En mai 2004 (25 et 26), un groupe de spécialistes des mycoplasmes s'est rencontré pendant deux jours à l'Institut de Recherche en Médecine Vétérinaire (Académie des Sciences de Hongrie), pour discuter des problèmes de diagnostic, en particulier chez le poussin de un jour.

Les discussions nous ont permis de conclure qu'à notre connaissance, il n'existe pas de test sérologique ou de PCR validé assurant une détection fiable des infections mycoplasmiques chez les oiseaux de un jour. Et, si de tels tests existaient, il faudrait pratiquement tester chaque poussin pour obtenir un résultat statistiquement significatif, en raison d'origines de reproducteurs différentes pour un même lot de poussins et d'une prévalence vraisemblablement faible. Il est donc nécessaire pour le vendeur et pour l'acheteur de s'accorder mutuellement confiance, et le vendeur doit fournir des preuves de l'absence d'infection mycoplasmique **lors de la commande**. Ces preuves doivent être basées sur un dépistage de l'infection dans les troupeaux d'origine, réalisé dans des laboratoires accrédités par les états (norme ISO 17025 par exemple). Si le vendeur ne fait pas confiance au vendeur, alors il lui est conseillé de ne pas acheter.

Les discussions ont ensuite abordé le dépistage sérologique des troupeaux vis-à-vis de *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) et il a été rappelé que la législation de la CE ne constitue qu'un minimum requis. En pratique, beaucoup de compagnies testent leurs troupeaux plus fréquemment, en particulier pour les élevages situés au sommet de la filière. La sérologie ne peut être utilisée si des vaccins vis-à-vis de *M. gallisepticum* ou *M. synoviae* ont été utilisés, car les tests sérologiques actuels

ne permettent pas de faire une distinction entre la réponse sérologique vis-à-vis d'une infection ou vis-à-vis d'un vaccin. De plus, ni la PCR ni les cultures ne peuvent être utilisées pour déterminer le statut d'un lot si les oiseaux ont été vaccinés à l'aide d'un vaccin atténué, à moins d'avoir une méthode permettant de différencier les souches vaccinales des souches terrain. Enfin l'administration récente de vaccins (vis-à-vis d'autres agents) doit être signalée car il est bien connu que les vaccins inactivés donnent lieu à des réactions sérologiques transitoires non spécifiques. De même une administration récente d'antibiotiques doit être déclarée dans la mesure où elle est susceptible d'inhiber l'isolement des mycoplasmes. En règle générale, les résultats des tests doivent être regardés prudemment car aucun type de test (sérologie, culture ou PCR) n'est fiable à 100 pour cent.

Pour l'agglutination rapide sur lame (ARL), il existe des variations de qualité des antigènes d'un lot à l'autre et un contrôle interne de qualité des lots est essentiel. Par exemple, chaque nouveau lot d'antigène devrait être testé (y compris en titration) avec un panel de sérums de référence positifs et négatifs et de sérums terrain. L'utilisateur doit vérifier la fréquence de réactions non spécifiques pour chaque lot (par exemple, une compagnie teste chaque lot avec 1000 sérums terrain négatifs). Toute réaction positive après dilution au 1/4 ou au 1/5^e (pour certains après décomplémentation) doit être considérée comme suspecte et le troupeau doit être de nouveau testé. Certains laboratoires préfèrent la dilution à la décomplémentation. La méthode de notation des réactions d'agglutination est très subjective.

Il est également important de maintenir la chaîne du froid après la collecte des sérums parce que cela peut affecter le nombre de fausses réactions (de mauvaises conditions de stockage augmentent les fausses réactions). De même la congélation ou des sérums hémolysés ou contaminés par des bactéries risquent d'augmenter le nombre de réactions non spécifiques. Par conséquent, un test de confirmation est essentiel. Le test d'inhibition de l'hémagglutination est plus spécifique de souche que l'agglutination rapide sur lame. Une validation doit être réalisée selon le protocole de l'OIE. Les tests ELISA doivent être réalisés par un laboratoire accrédité (par exemple norme ISO 17025) après validation selon la méthode décrite par l'OIE (Jacobson, R.H., 2004. Principles of validation of diagnostic assays for infectious diseases. OIE Manual of Diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammifères, oiseaux et abeilles) 5^e édition, pp 21-29.). La méthode PCR seule ne permet pas un diagnostic de certitude. Les résultats doivent être confirmés par un autre test et un contrôle de qualité des amorces et autres réactifs est nécessaire.

La culture suivie de l'identification (par méthode immunologique ou par PCR) est toujours considérée comme la technique de référence (« gold standard »), mais une validation doit être réalisée selon la méthode de l'OIE. Le contrôle de qualité des milieux est essentiel et doit être réalisé avec sur des souches de terrain ainsi que des souches vaccinales ayant subi un nombre limité de passages. Les cultures peuvent être infructueuses si le milieu utilisé n'a pas été validé ou si le milieu (éventuellement validé) est envahi par d'autres mycoplasmes à croissance

rapide ou d'autres bactéries contaminantes.

Le fait que *M. synoviae* ne soit pas inscrit à l'heure actuelle sur la liste B de l'OIE a été discuté et il a été estimé plausible que l'absence de contrôle de ce mycoplasme dans le cadre de la législation de la CE soit en partie responsable de la prévalence élevée de ce mycoplasme dans certains secteurs de la filière. Si en pratique, il semble actuellement impossible d'inclure *M. synoviae* dans cette liste, il est très fermement recommandé par l'ensemble des experts que, dans le cadre des échanges intra-européens, les producteurs de troupeaux grand-parentaux visent l'éradication de *M. synoviae*. Dans l'absolu, tout troupeau de reproducteurs infectés par

M. synoviae devrait être abattu mais en pratique certains lots de reproducteurs sont parfois conservés dans les conditions permettant de limiter, tant que faire se peut, la dissémination de l'infection. Il est vivement souhaité que les troupeaux commerciaux de reproducteurs soient indemnes de *M. synoviae*, mais l'intérêt économique prime parfois. En matière de diagnostic, la plupart des commentaires relatifs à *M. gallisepticum* s'appliquent également à *M. synoviae*, bien que ce dernier soit généralement plus facile à isoler.

Mycoplasma meleagridis (Mm) a occupé une moindre part des discussions car il paraît relativement peu fréquent bien qu'il subsiste des poches d'infection chez la dinde dans quelques pays d'Europe. Les

modalités de transmission horizontale restent mystérieuses (vraisemblablement hygiène insuffisante et faible niveau de biosécurité). Tous les commentaires faits précédemment s'appliquent à *M. meleagridis*, mis à part le fait que la gamme de tests de diagnostic soit plus limitée. Ce mycoplasme est facile à isoler sur géloses (particulièrement milieu de Ortmayer). Certains laboratoires utilisent la PCR, les écouvillons cloacaux doivent alors faire l'objet d'une extraction d'ADN.

De l'avis général, la vaccination, avec les produits disponibles à l'heure actuelle, ne peut remplacer l'éradication et les mesures de biosécurité pour les reproducteurs, mais un usage limité et contrôlé peut être envisagé dans certaines situations.