

## EVALUATION DE L'EFFICACITE DE LA TILMICOSINE POUR LA PREVENTION DE L'INFECTION A *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* CHEZ LE POULET

Reeve-Johnson Lloyd<sup>1</sup>, Kempf Isabelle<sup>2</sup>, Gesbert Fabienne<sup>2</sup> et Guittet Michèle<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Elanco Animal Science Research, Kingsclere Road, Basingstoke, Hampshire, RG21 6XA United Kingdom

<sup>2</sup>CNEVA- Ploufragan, Unité de Mycoplasmologie - Bactériologie, Zoopole Les croix, BP 53, 22440 Ploufragan

### Résumé

L'efficacité de la tilmicosine pour la prévention d'une mycoplasmosse expérimentale à *Mycoplasma gallisepticum* (MG) a été évaluée chez le poulet exempt d'organismes pathogènes spécifiés. Les oiseaux ont été inoculés à dix jours d'âge (J10) et la tilmicosine a été offerte dans l'eau de boisson aux doses de 50, 100, 200 ou 300mg/litre de J8 à J13. Les critères d'efficacité étaient les symptômes, les lésions à J21, la croissance et le nombre d'oiseaux positifs en culture et en sérologie à J21. Les résultats ont montré que la tilmicosine a significativement réduit les pertes de poids et les symptômes respiratoires dus à l'infection. Une réduction significative des lésions des sacs aériens et des péritonites a été obtenue avec les trois doses les plus élevées. Une diminution significative du nombre de poulets porteurs de MG est observée dès la dose de 50mg/l et avec les doses de 200 ou 300 mg/l, aucun oiseau n'est trouvé sérologiquement positif à J21 alors que 46 des 58 oiseaux infectés non traités possèdent des anticorps spécifiques de MG à cette date.

### Abstract

#### Efficacy of Tilmicosin in the control of experimental *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens

This study was conducted to evaluate the efficacy of five day "in water" tilmicosin medication for the prevention of experimental *Mycoplasma gallisepticum* (MG) disease in specific pathogen free chickens. Birds were inoculated at ten days of age and were given 50, 100, 200 or 300mg/litre of tilmicosin from day 8 to day 13. The results showed that tilmicosin medication at dose levels of 50 to 300mg/l significantly decreased growth losses and respiratory symptoms due to MG infection. Significant reduction in air sac and peritonitis lesions were obtained by treatment with 100, 200 or 300mg/l for five days. A significant reduction in the proportion of MG culturally positive birds was obtained at a dose level of 50mg/l. Increasing the dose resulted in a further decrease in the number of MG shedding chickens to the extent that with the two highest doses of tilmicosin, no bird was serologically positive on day 21 compared to 46/58 positive infected non treated birds.

### Introduction

L'infection à *Mycoplasma gallisepticum* (MG) est responsable de lourdes pertes économiques dans les élevages de poulets de chair, en raison des mortalités, retards de croissance et saisies à l'abattoir. Cette étude vise à évaluer l'efficacité de la tilmicosine, un antibiotique de la famille des macrolides (Charleston and Reeve-Johnson, 1996 ; Kirst et al, 1989), pour le contrôle d'une infection expérimentale à MG chez le poulet exempt d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS).

### Matériel et méthodes

Trois cent soixante poulets EOPS sont répartis à l'âge de six jours en six groupes de soixante oiseaux selon un histogramme de poids. Ils sont maintenus en cages dans des animaleries protégées.

A dix jours d'âge (J10), les poulets des lots infecté non traité (INT), et infectés traités (IT1 à IT4) sont inoculés par voie intra-trachéale (0,2ml) et dans le sinus (0,05ml) à l'aide d'une culture de la souche MG R-P10 titrant  $10^7$  unités changeant couleur. Le groupe témoin non infecté non traité (NINT) est inoculé avec du milieu stérile (Kempf et al, 1988). De J8 à J13, les oiseaux des lots IT1, IT2, IT3 et IT4 reçoivent de la tilmicosine dans l'eau de boisson aux doses respectives de 50, 100, 200 ou 300mg/litre d'eau.

A J13, J16 et J20, les symptômes respiratoires sont observés et notés de 0 à 3 en fonction de leur intensité et un indice moyen est calculé par lot et par jour d'observation. Les oiseaux sont sacrifiés à J21 et les lésions des sacs aériens et du péritoine sont notées de 0 à 4 en fonction de leur sévérité et de leur étendue et des cultures de mycoplasmes sont réalisées à partir des trachées. De J8 à J13, la consommation d'eau médicamenteuse ou non de

chaque lot est enregistrée. Les oiseaux sont pesés individuellement à J6, J13 et J20 et les gains de poids de chaque lot sont comparés. La recherche d'anticorps spécifiques de MG est effectuée par agglutination rapide sur lame sur les sérums prélevés à J21.

Pour les cultures de mycoplasmes, un segment d'environ un centimètre de long est prélevé au niveau du tiers inférieur des trachées de tous les oiseaux morts ou sacrifiés, est mis dans un millilitre de milieu de transport puis ensemencé sur milieu FM4 (Frey et al. 1968). Les cultures sont incubées à 37°C et des passages sont effectués à partir des milieux liquides lors de changement de couleur du milieu ou, en l'absence de changement de couleur, après huit jours d'incubation. L'identification des colonies est réalisée par détermination des caractères biochimiques (Nougarayde et al. 1985).

La comparaison de l'efficacité des traitements est basée sur des différences statistiquement significatives entre la mortalité, les symptômes, les gains de poids, les lésions, le réisolement de MG et la réponse sérologique. L'analyse de variance est utilisée pour comparer les gains de poids, la mortalité, les symptômes, les lésions, les nombres de sujets porteurs de MG ou ayant des anticorps anti-MG sont comparés par le test de Chi-deux.

## Résultats

**Mortalité :** les nombres de poulets morts dans les lots NINT, INT et IT1 à IT4 sont respectivement 0, 2, 0, 0, 0 et 3 et ne diffèrent pas statistiquement. **Symptômes :** aucun signe clinique n'est observé dans le groupe NINT. Dans le groupe INT, les premiers signes respiratoires consistant en dyspnée et étternuements, apparaissent à J16. Ces symptômes persistent dans ce groupe jusqu'à la fin de l'essai, mais ne sont que très rarement observés dans les lots infectés traités.

Les indices cliniques moyens des différents lots sont donnés dans le tableau 1. L'analyse statistique montre des différences significatives entre les groupes NINT et tous les groupes infectés à J13, J16 et J20. Les symptômes des oiseaux infectés non traités sont significativement plus sévères que ceux des oiseaux traités à J13, J16 et J20, mis à part le lot IT1 à J13. A toutes les dates, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les symptômes du groupe IT1 et ceux des groupes IT2 et IT3, mais les symptômes du groupe IT4 diffèrent significativement de ceux du groupe IT1 : les poulets de ce dernier lot ont moins de symptômes à J13, mais paraissent plus affectés à J16 et J20. Les symptômes des lots IT2 et IT3 ne diffèrent pas statistiquement.

**Lésions :** les indices lésionnels moyens sont donnés dans le tableau 1. L'analyse statistique révèle que les aérosacculites des oiseaux infectés non traités ne diffèrent pas de celles des oiseaux du groupe IT1, de même que celles du groupe IT2 comparées au groupe IT3 et celles du groupe IT3 comparées au groupe IT4. Les trois doses les plus élevées de tilmicosine réduisent significativement les lésions des sacs aériens par rapport aux poulets infectés non traités. De plus, les lésions des sacs aériens des oiseaux ayant reçu 300mg/l de tilmicosine sont significativement moins importantes que celles des poulets des groupes IT1 et IT2.

Les lésions de péritonite sont significativement réduites par les différents traitements. Le groupe IT1 présente des lésions de péritonite significativement plus graves que les autres groupes traités.

**Consommation d'eau :** les consommations d'eau des groupes NINT, INT et IT1 à IT4 de J8 à J13 sont respectivement 15,2, 11,7, 12,5, 12,1, 11,6 et 10,8 litres. Si l'on considère que les poulets présentent une croissance linéaire entre J6 et J13, les doses de tilmicosine reçues par les poulets des groupes IT1 à IT4 sont respectivement : 23, 42, 81 et 114 mg/kg.

**Gains de poids :** les gains de poids moyens de chaque groupe sont donnés dans le tableau 2. L'analyse statistique montre que, de J6 à J13, le groupe INT présente une meilleure croissance que les autres groupes. De J13 à J20, après le traitement, le gain de poids des poulets non infectés est significativement plus important que celui des autres groupes et tous les groupes traités ont une meilleure croissance que les oiseaux infectés non traités. Sur la durée totale de l'essai (J6 à J20), le gain de poids moyen des oiseaux infectés non traités est significativement moins élevé que celui des oiseaux non infectés ou infectés non traités.

**Réisolement de *Mycoplasma gallisepticum* :** tous les poulets infectés non traités sont porteurs de MG à J21. Pour les groupes traités IT1 à IT4, les nombres d'oiseaux positifs sont respectivement 40, 19, 1 et 0 (tableau 3). L'analyse statistique montre que les nombres d'oiseaux positifs en culture des groupes traités sont différents de celui du groupe infecté non traité. Les groupes IT3 et IT4 ne diffèrent pas significativement du groupe non infecté.

**Sérologie :** les nombres d'oiseaux possédant des anticorps spécifiques de MG à J21 sont 0, 46, 24, 4, 0 et 0/60 pour les groupes NINT, INT et IT1 à IT4 respectivement (tableau 3). L'analyse statistique révèle que les nombres de poulets

séropositifs des groupes IT2, IT3 et IT4 ne diffèrent pas significativement du groupe non infecté.

### Discussion

Le modèle expérimental : des oiseaux de dix jours sont inoculés par voie intra-trachéale et intranasale avec une culture de la souche MG R-P10. Six jours après infection, les poulets présentent des symptômes respiratoires dont l'intensité augmente jusqu'à la dernière observation à J20. Le gain de poids des oiseaux est diminué comparé à celui des sujets témoins non inoculés. Des lésions des sacs aériens sont observés sur près de 70% des oiseaux et à J21, onze jours après inoculation, tous les poulets sont porteurs de MG.

Comparaison des traitements: la tilmicosine donnée aux oiseaux aux doses de 50, 100, 200 ou 300mg/litre d'eau de boisson pendant trois jours, deux avant et trois après inoculation, permet de réduire de façon significative et identique quelle que soit la dose, le retard de croissance provoquée par l'infection. Les indices symptomatiques moyens sont également diminués par rapport au groupe témoin infecté non traité. Avec les doses de 100, 200 ou 300 mg/litre, les lésions d'aérosacculite et de péritonite sont moins sévères. La dose la plus élevée permet de réduire significativement les lésions des sacs aériens par rapport aux deux doses inférieures. Une réduction du nombre de sujets porteurs de MG à J21 et possédant des anticorps spécifiques de MG est obtenue avec la dose de 50mg/l. Avec la dose la plus élevée (300mg/l), aucun poulet n'est trouvé porteur de MG à J21. Pour les doses de 200 ou 300mg/l, aucun oiseau ne possède d'anticorps spécifiques de MG à J21.

### Conclusion

Dans les conditions de cette expérimentation, la tilmicosine administrée à la dose de 50mg/litre d'eau de boisson pendant cinq jours paraît moins efficace que les trois autres doses : les lésions des sacs aériens sont encore importantes et deux tiers des sujets restent porteurs de MG onze jours après inoculation. Avec les doses de 100 ou 200 ou 300 mg/l, les signes cliniques et les lésions sont significativement réduits. Les deux doses les plus élevées semblent permettre de contrôler cette infection expérimentale comme le suggère l'importante réduction, voire l'absence d'animaux présentant des anticorps à J21.

### Références

- Charleston, B. and L. Reeve-Johnson. 1996, XX World Poultry Congress, September 1996, New-Dehli, Inde.
- Frey, M. C., Hanson, R. P. and D.O. Anderson. 1968, Am. J. Vet. Res. 29: 2164-2171.
- Kempf, I., Cacou, P.M., Guittet, M., Ollivier, C., Morin, M., L'Hospitalier, R., and G. Bennejean., 1988. Avian Pathology 17: 601-616.
- Kirst, H.A., Willard, M., Toth, J.E., Truedell, B.A., Leeds, J.P., Ott, J.L., Felty-Duckworth, A.M., Coubter, F.T., Ose, E.E., Crouse, G.D., Tustin, J.M., and S. Omura., 1989. Journal of Antibiotics 42: 1673-1684.
- Nougayrede, P., Gaillard-Perrin, G. and B. Andral., 1985. Le Point Vét. 17 : 127-140.

**TABLEAU 1 : indices cliniques et lésionnels moyens**

groupe	symptômes* J13	symptômes J16	symptômes J20	lésion** d'aérosacculite	péritonite **
NINT	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>
INT	0.5 <sup>b</sup>	1.05 <sup>b</sup>	1.85 <sup>b</sup>	1.63 <sup>b</sup>	1.28 <sup>b</sup>
IT1	0.38 <sup>bd</sup>	0.47 <sup>c</sup>	0.30 <sup>c</sup>	1.55 <sup>b</sup>	0.62 <sup>c</sup>
IT2	0.30 <sup>cd</sup>	0.47 <sup>c</sup>	0.33 <sup>c</sup>	0.52 <sup>c</sup>	0.27 <sup>de</sup>
IT3	0.23 <sup>cd</sup>	0.50 <sup>c</sup>	0.38 <sup>c</sup>	0.23 <sup>cd</sup>	0.05 <sup>de</sup>
IT4	0.15 <sup>c</sup>	0.65 <sup>c</sup>	0.47 <sup>c</sup>	0.15 <sup>d</sup>	0.07 <sup>de</sup>

\* notés de 0 à 3

\*\*notées de 0 à 4

A l'intérieur d'une même colonne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (p>0,05)

**TABLEAU 2 : gains de poids**

groupe	J6-J13	J13-J20	J6-J20
NINT	59.7 <sup>a</sup>	92.4 <sup>a</sup>	152.1 <sup>a</sup>
INT	64.8 <sup>b</sup>	66.1 <sup>b</sup>	130.9 <sup>b</sup>
IT1	57.2 <sup>a</sup>	85.75 <sup>a</sup>	142.9 <sup>a</sup>
IT2	57.8 <sup>a</sup>	88.4 <sup>a</sup>	146.3 <sup>a</sup>
IT3	57.6 <sup>a</sup>	86.3 <sup>a</sup>	143.9 <sup>a</sup>
IT4	56.0 <sup>a</sup>	87.4 <sup>a</sup>	143.2 <sup>a</sup>

A l'intérieur d'une même colonne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (p>0,05)

**TABLEAU 3 : réisolement de *Mycoplasma gallisepticum* à partir des trachées et sérologie**

groupe	culture*	ARL**
NI	0/60 <sup>a</sup>	0/60 <sup>a</sup>
INT	60/60 <sup>b</sup>	46/58 <sup>b</sup>
IT1	40/60 <sup>c</sup>	24/60 <sup>c</sup>
IT2	19/60 <sup>d</sup>	4/60 <sup>a</sup>
IT3	1/60 <sup>a</sup>	0/60 <sup>a</sup>
IT4	0/60 <sup>a</sup>	0/57 <sup>a</sup>

A l'intérieur d'une même colonne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (p>0,05)

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

\*\*nombre de sérums positifs/ nombre de sérums testés