

Séroprévalence de *Mycoplasma gallisepticum* et *Mycoplasma synoviae* dans les élevages de poules pondeuses dans l'Est Algérien

Reçu le 16/03/2011 – Accepté le 23/10/2012

R AIMEUR¹, O BOUAZIZ¹, EH. BERERHI¹

¹ Laboratoire de Gestion de la Santé et Productions Animales – Institut des Sciences Vétérinaires
Université Constantine 1 Algérie.

rachidaimeur@yahoo.fr

Résumé

L'objectif de notre étude était l'estimation des séroprévalences des infections à *Mycoplasma gallisepticum* et *Mycoplasma synoviae* dans les élevages de poules pondeuses. Le dépistage s'est basé sur le test sérologique d'agglutination rapide sur lame (ARL). Sur 540 prélèvements de sérums testés, cent soixante dix neuf ont montré la présence d'anticorps anti- *Mycoplasma gallisepticum*, soit un taux d'infection de 33,1%, cent se sont révélés positifs à *Mycoplasma synoviae*, soit un taux d'infection de 18,5%. Sur les 27 élevages testés 14 (51,9%) se sont révélés positifs à *Mycoplasma gallisepticum*, 7 (25,9%) se sont révélés positifs à *Mycoplasma synoviae* et 6 (22,2%) élevages sont indemnes de *Mycoplasma gallisepticum* et de *Mycoplasma synoviae*. Les résultats obtenus montrent que les infections mycoplasmiques sont présentes dans nos élevages avicoles. Afin de confirmer les résultats obtenus par l'ARL, il convient d'effectuer des enquêtes épidémiologiques à l'aide de PCR spécifiques *M. gallisepticum* et *M. synoviae* sur un grand nombre d'élevages.

Mots clés : Poule pondeuse - Mycoplasmoses - *Mycoplasma gallisepticum* - *Mycoplasma synoviae* - ARL

Abstract: Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in the laying hens farms

The aim of this study was to estimate the seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in the laying hens farms. The screening was based on a serological test ARL. Out of the 540 serum samples tested, one hundred and sixty nine showed the presence of antibodies against *Mycoplasma gallisepticum*, an infection rate of 33,1 %. One hundred are positive for *Mycoplasma synoviae*, an infection rate of 18,5 %. Out of the 27 farms tested 14 (51,9%) were positive for *Mycoplasma gallisepticum*, 7 (25,9%) were positive for *Mycoplasma synoviae* and 6 (22,2%) farms are free of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*. The results obtained showed that mycoplasma infections are present in our poultry farms. It should carry out epidemiological surveys using PCR specific *M. gallisepticum* and *M. synoviae* in a large number of farms.

Keywords: laying hens, Mycoplasmosis, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, ARL

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو التقييم للانتشار للعدوى للمايكوبلازما جاليسبتكم والمايكوبلازما سينوفي عند قطيع دجاج المبيض. لقد أجريت استقصاءات مصلية باستعمال تقنية (LRA) Agglutination Rapide sur Lame. أظهرت وجود أجسام مضادة لمايكوبلازما جاليسبتكم في أمصال النتائج المحصل عليها هي كالتالي: من 540 عينة 179 أظهرت وجود أجسام مضادة لمايكوبلازما جاليسبتكم في أمصال الدجاج بمعدل 33.1% و 100 وجدت إيجابية لمايكوبلازما سينوفي بمعدل 18.5%. أما بالنسبة للعدوى في القطعان، 14 من 27 (51.9%) كانت إيجابية لمايكوبلازما جاليسبتكم. 7 (25.9%) كانت إيجابية لمايكوبلازما سينوفي و 6 (22.2%) كانت خالية من المايكوبلازما. بعض العوامل المهيئة لظهور المايكوبلازما تمت دراستها. النتائج التي حصلنا عليها تشير إلى أن المايكوبلازما موجودة في مزارع الدواجن لدينا. عدم التقيد بمبادئ النظافة وعدم وجود برنامج مراقبة المايكوبلازما على مستوى المزارع، هي العوامل الرئيسية وراء تفشي وانتشار المايكوبلازما. لتأكيد على النتائج التي تم الحصول عليها بتقنية ARL ينبغي إجراء التحقيقات الوبائية باستخدام تقنية PCR.

الكلمات المفتاحية: دجاج المبيض، المايكوبلازما، المايكوبلازما جاليسبتكم، المايكوبلازما سينوفي،

Les maladies respiratoires chroniques représentent une dominante pathologie en aviculture. Les mycoplasmoses aviaires constituent une des maladies les plus coûteuses pour l'élevage avicole. Elles entraînent de lourdes pertes économiques en raison de retard de croissance, des baisses de production d'œufs, des saisies en abattoirs et des traitements antibiotiques [1].

Les enquêtes épidémiologiques effectuées dans les pays du Maghreb ont montré que les infections mycoplasmiques sont présentes au niveau des élevages avicoles au Maroc [2] et en Tunisie [3].

En Algérie, il n'existe, à notre connaissance aucune donnée sur les mycoplasmoses aviaires. Il nous apparaît donc intéressant de connaître le statut mycoplasmique des élevages avicoles afin de pouvoir mettre en place un programme de prophylaxie.

L'objectif de cette étude était de réaliser une enquête sérologique afin d'évaluer la prévalence des différents mycoplasmes réputés les plus pathogènes chez la poule pondeuse: *Mycoplasma gallisepticum* et *Mycoplasma synoviae* dans différents élevages avicoles de poules pondeuses de l'Est Algérien.

MATERIEL ET METHODES

Elevages

L'étude a été réalisée dans 27 élevages de poules pondeuses répartis sur 8 wilayas de l'Est Algérien. Les oiseaux prélevés au cours de cette enquête sont d'apparence saine. L'effectif des volailles par élevage varie entre 3000 et 8000. Les poules pondeuses sont élevées en cage. Il faut signaler que les normes de densité, d'aération et d'hygiène sont rarement respectées dans les différents élevages concernés par cette étude.

Les prélèvements

Les échantillons de sang ont été prélevés au niveau de la veine alaire et transportés en boîte isotherme jusqu'au laboratoire. Après coagulation, le liquide a été séparé du caillot et centrifugé à 1500 t/mn pendant 15 minutes. Les échantillons de sérums ont été dilués au 1/5 (25 µl de sérum dans 100 µl d'eau distillée stérile) et décomplémentés à 56° C pendant 30 minutes, puis mis dans des tubes stériles et conservés à + 4° C jusqu'à utilisation dans les 48 heures.

Les prélèvements ont été effectués sur deux périodes : 280 échantillons ont été prélevés pendant la saison chaude (mai - juin- juillet- août 2009) et 260 pendant la saison froide (décembre 2009- janvier - février -Mars 2010). Pour des raisons économiques, il a été décidé de se limiter à prélever 20 prélèvements de sang. Au total, 540 échantillons de sang ont été prélevés entre mai 2009 et mars 2010.

La répartition des élevages par wilaya et des prélèvements sont portés sur le tableau 1.

Tableau 1 : Répartition des élevages et des prélèvements par wilaya

| Wilayas | Nombre d'élevages visités | Nombre de sérums prélevés |
|----------------|---------------------------|---------------------------|
| Batna | 3 | 60 |
| Skikda | 4 | 80 |
| Constantine | 4 | 80 |
| Sétif | 3 | 60 |
| Oum El Bouaghi | 3 | 60 |
| Mila | 4 | 80 |
| Annaba | 3 | 60 |
| Guelma | 3 | 60 |
| Total | 27 | 540 |

Méthodes sérologiques

La recherche des anticorps dirigés contre les deux espèces de mycoplasmes : *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, a été réalisée par la méthode d'agglutination rapide sur lame (ARL) [4] en utilisant les antigènes spécifiques de commerce : (antigène Nobilis® MG Antigen et MS Antigen fabriqués par Intervet international Holland).

La technique d'agglutination rapide sur lame est basée sur l'utilisation d'antigènes inactivés. Elle permet de mettre en évidence dans les sérums de volailles les anticorps agglutinants.

L'antigène *Mycoplasma gallisepticum* est composé de la souche virulente S6 d'Adler, tuée et colorée, celui de *Mycoplasma synoviae* est à base de la souche WVU - 1853. L'antigène a été maintenu à l'abri de la lumière, et conservé à une température de 4° C après chaque usage, pour éviter les réactions faussement positives.

Sur une plaque de verre, préalablement lavée, rincée et séchée, ont été déposés 25 µl de sérum et 25 µl d'antigène, mélangés et agités pendant deux minutes avant de faire la lecture. Au bout de 2 minutes apparaissent les premières réactions positives sous forme de grumeaux bleus de différentes tailles (en fonction de la concentration en anticorps. La réaction peut être mieux visualisée en plaçant la plaque au dessus d'une source lumineuse, tout en basculant légèrement de façon circulaire.

La qualité de l'antigène a été contrôlée par un sérum négatif de poule EOPS (Exempt d'Organismes pathogènes Spécifiés), un sérum positif vis-à-vis de *Mycoplasma gallisepticum* et un sérum positif vis à vis de *Mycoplasma synoviae*

Tests statistiques

La comparaison des pourcentages a été réalisée à l'aide du logiciel MS-Excel. Toute valeur de $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

RESULTATS

Sur 540 prélèvements de sérums testés par agglutination rapide sur lame, 192 ont montré la présence d'anticorps anti-*Mycoplasma gallisepticum*, soit un taux d'infection de 33,1%, cent se sont révélés positifs à *Mycoplasma synoviae*, soit un taux d'infection de 18,5% (Tableau 2).

Tableau 2 : Résultats sérologiques globaux de *Mycoplasma gallisepticum* et *Mycoplasma synoviae*

| Wilayas | Elevages visités | Sérums testés | Sérums positifs | | | |
|---------|------------------|---------------|-----------------|-------|------|-------|
| | | | M. g | | M. s | |
| | | | Nbre | % | Nbre | % |
| Batna | 3 | 60 | 10 | 16,66 | 24 | 40,00 |
| Skikda | 4 | 80 | 15 | 18,75 | 00 | 00,00 |
| Cne | 4 | 80 | 40 | 50,00 | 20 | 25,00 |
| Sétif | 3 | 60 | 20 | 33,33 | 12 | 20,00 |
| OEB | 3 | 60 | 35 | 58,33 | 11 | 18,33 |
| Mila | 4 | 80 | 30 | 37,50 | 20 | 25,00 |
| Annaba | 3 | 60 | 24 | 40,00 | 15 | 25,00 |
| Guelma | 3 | 60 | 18 | 30,00 | 00 | 00,00 |
| Total | 27 | 540 | 192 | 33,1 | 100 | 18,5 |

Cne : Constantine, OEB : Oum El Bouaghi, M. g. : *Mycoplasma gallisepticum*, M. s. : *Mycoplasma synoviae*

Le tableau 3 présente les résultats sérologiques des élevages. Les élevages positifs en sérologie sont au nombre de 21, soit une séroprévalence de 77,77 % des élevages visités, dont 14 sont positifs à M.g (51,9%) et 7 pour à M.s (25,9%). Six élevages sont négatifs en sérologie, soit une fréquence de 22,22% des élevages visités.

Tableau 3 : Résultats sérologiques des élevages

| | | Elevages positifs | Elevages négatifs |
|-------|--------|-------------------|-------------------|
| M.g + | Nombre | 14 | 13 |
| | % | 51,9 | 48,1 |
| M.s + | Nombre | 7 | 20 |
| | % | 25,9 | 74,1 |

Le tableau 4 montre que les élevages pratiquant la bande unique présentent un degré d'atteinte par M.g de 45%, alors qu'il passe à 71,47% pour les élevages pratiquant le système de bandes multiples. En ce qui concerne l'infection par M.s, il n'y a pas de différences significatives entre les fréquences observées pour les

élevages à bande unique et pour celles à bandes multiples (25% contre 28,6%).

Tableau 4 : Effet du mode d'élevage sur la réactivité des élevages

| | | Bande unique | Bandes multiples |
|-------------------|--------|----------------|------------------|
| Nombre d'élevages | | 20 | 7 |
| M.g + | Nombre | 9 | 5 |
| | % | 45* | 71,4* |
| M.s + | Nombre | 5 | 2 |
| | % | 25 (NS) | 28,6 (NS) |

* Différence significative ($p < 0,05$) - NS : non significatif

Le tableau 5 présente les résultats de l'effet de l'âge sur le degré de réactivité dans les élevages. L'élevage de la poule pondeuse passe par deux grandes phases en matière de production, une phase de démarrage qui correspond à un âge inférieur à 18 semaines et une autre phase de ponte avec un âge supérieur à 18 semaines.

Tableau 5 : Effet de l'âge sur le degré de réactivité dans les élevages

| Age | Nombre | M.g + | M.s + |
|---------------|--------|--------------|------------------|
| < 18 semaines | 10 | 7/10 | 3/10 |
| % | 37 | 70* | 30 (NS) |
| > 18 semaines | 17 | 7/17 | 4/17 |
| % | 63 | 41,2* | 25,5 (NS) |

* Différence significative ($p < 0,05$) - NS : non significatif

Parmi les 27 élevages étudiés, 10 élevages (37%) en démarrage, avec un âge moyen de 16 semaines, et les 17 autres (63%) en ponte avec un âge moyen de 31 semaines. Il ressort que les élevages de poulettes démarrées présentent un degré de réactivité à M.g plus élevé que les élevages de poules en ponte avec des fréquences relatives respectives de 70% et 41,2%. Cependant, le degré de réactivité à M.s ne présente qu'une légère différence entre les deux catégories d'élevages avec des fréquences relatives respectives de 30% et 25,5%.

Le tableau 6 montre que l'infection par les mycoplasmes était plus fréquente en saison froide qu'en saison chaude aussi bien pour *Mycoplasma gallisepticum* (38,8% contre 27,9%) que pour *Mycoplasma synoviae* (23,1% contre 14,3%).

Tableau 6 : Séroprévalence de M.g et M.s en fonction de la saison

| Saison | Sérums testés | M.g. + | | M.s. + | |
|--------|---------------|--------|--------------|--------|--------------|
| | | Nbre | % | Nbre | % |
| Eté | 280 | 78 | 27,9 | 40 | 14,3 |
| Hiver | 260 | 114 | 43,8* | 60 | 23,1* |
| Total | 540 | 192 | 33,1 | 100 | 18,5 |

* Différence significative ($p < 0,05$)

DISCUSSION

Le dépistage des infections mycoplasmiques a été réalisé par la technique d'agglutination rapide sur lame. En effet, l'ARL est une méthode de dépistage rapide, simple, de faible coût, pour l'identification des élevages infectés [5, 6]. Elle est efficace pour la détection des anticorps principalement les IgM [7]. Cependant, elle souffre d'un manque de spécificité, lié aux prélèvements, à l'antigène et à la réalisation du test [8, 9]. Afin de pallier ces difficultés et assurer une bonne efficacité de ce test, plusieurs recommandations ont été respectées, lors de sa réalisation.

Le test a été effectué sur des sérums frais. Ceux-ci ont été décomplémentés afin d'éviter les réactions croisées entre *Mycoplasma gallisepticum* et *Mycoplasma synoviae* et dilués au 1/5. L'évaluation de l'agglutination a été validée par les sérums témoins positif et négatif. La taille de l'échantillon de notre étude est dans la fourchette de celles rapportées par divers auteurs qui varie de 10 à 30 sujets [2, 3, 10].

La prévalence individuelle obtenue chez les poules pondeuses pour *M. gallisepticum* est de 33,1%. Cette valeur est inférieure à celles rapportées dans différentes études utilisant la technique d'agglutination rapide sur lame : 58,9% pour Sharker et al (2005) au Bangladesh [11], 57,3% pour Orajaka et al (2002) au Nigeria [12], 57% pour Pandey et al (1998) en Zambie [13], 55,13% pour Hossain et al (2007) au Bangladesh [14]. En revanche, elle est supérieure à la prévalence de 21% rapportée par Sabir (2003) au Maroc [2]. *Mycoplasma synoviae* avec une prévalence de 18,5% est nettement inférieur aux proportions de 70,7%, 67,3% et 45% rapportées respectivement au Maroc par Sabir (2003) [2], au Botswana par Mushi et al (1999) [14], au Nigéria par Orajaka et al (2002) [2].

La fréquence des élevages présentant une infection à *Mycoplasma gallisepticum* est plus élevée que celle des élevages contaminés par *Mycoplasma synoviae*. Les taux d'infection par *M. gallisepticum* et *M. synoviae* observés dans les élevages de poules pondeuses (51,9% contre 25,9%) sont proches des résultats rapportés par l'enquête tunisienne (52% et 28%) par Boucetta et al (1997) [3]. En revanche, le taux de prévalence de l'infection par *M. gallisepticum* dans les élevages de poules pondeuses est supérieur au résultat observé au Maroc (42,9% d'élevages positifs) [2].

Pour *M. synoviae*, le taux observé est largement inférieur au résultat marocain (85,7% d'élevages positifs) [2]. Le non respect des principes de la biosécurité et de la bande unique, ainsi que l'absence d'un programme de contrôle des mycoplasmes au niveau des élevages, constituent les facteurs majeurs derrière la dissémination et la propagation de ces mycoplasmes.

La prévalence d'infection par *M.g* est très importante dans les élevages de poulettes démarrées de moins 18 semaines que dans les élevages de poules en ponte de plus de 18 semaines (70% contre 41,2%) ce qui montre que la transmission verticale est souvent le mode essentiel de la contamination. Ce résultat concorde avec ceux rapportés par Skider et al (2005) (71,4% contre 55,2%) [15] et Hossain et al (2007) (72,7% contre 44%) [16] et Heleili et al (2011) (69,9% contre 48,7%) [17].

Il y a une variation saisonnière de l'infection mycoplasmique. Les prévalences *Mycoplasma gallisepticum* et de *Mycoplasma synoviae* sont plus élevées en saison froide qu'en saison chaude. Ce résultat est en accord avec ceux rapportés par d'autres auteurs [11, 15, 16, 17, 18]

CONCLUSION

L'étude sérologique montre que les agents mycoplasmiques *Mycoplasma gallisepticum* et *Mycoplasma synoviae* sont présents dans les élevages de poules pondeuses. En effet, le taux d'infection moyen des élevages visités était de 51,9% pour *Mycoplasma gallisepticum* et 25,9% pour *Mycoplasma*. Afin de confirmer les résultats obtenus par l'ARL, il convient d'effectuer des enquêtes épidémiologiques à l'aide de PCR spécifiques *M. gallisepticum* et *M. synoviae* sur un grand nombre d'élevages.

REFERENCES

- [1]- KEMPF I. (2006). Diagnostic et contrôle des mycoplasmoses aviaires. *Le nouveau Praticien Vétérinaire Elevages et santé*, **237** : 49 -53.
- [2]- SABIR J. (2003). Enquête sérologique sur *Mycoplasma gallisepticum* et *Mycoplasma synoviae* dans les élevages de poules pondeuses. Thèse de Docteur Vétérinaire, IAV Hassan II, Maroc.
- [3]- BOUCETTA M, CHAOUCHI N, MLIK B (1997). Etude sérologique et bactériologique des mycoplasmoses aviaires dans la région du Cap Bon en Tunisie. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, **50** (2): 93-96.
- [4]- KEMPF I. (1998). Recherche des anticorps spécifiques de *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma meleagridis* ou *Mycoplasma synoviae* dans le sérum par la technique d'agglutination rapide sur lame, COFRAC, Programme d'accréditation, 1998, N° 109, IS281/00.
- [5]- AHMAD I., KLEVEN S.H, PAVAKIAN A., GLISSON JR (1988). Sensitivity and specificity of *Mycoplasma gallisepticum* agglutination antigen prepared from medium artificial liposomes substituting for serum. *Avian Dis.*, **32**: 512-516.

- [6]- KEMPF I. (1992) : Observations expérimentales relatives à la spécificité de l'agglutination rapide sur lame pour le dépistage des mycoplasmoses aviaires. *Bull. Acad. Vet. Fr.*, **65**, 317-324.
- [7]- STIPKOVITS L., KEMPF I. (1996). Mycoplasmoses in poultry. *Revue Scientifique et technique des Offices Internationales d' Epizooties.* , **15** (4), 1495 -1525
- [8]-YODER HW (1989). Nonspecific reactions to mycoplasma serum plate antigen induced by inactivated poultry diseases vaccines. *Avian Disease*, **33**, 60-68.
- [9]- KEMPF I GESBERT F GUITTET M BENNEJEAN G (1994). *Mycoplasma gallisepticum* in drug treated chickens: comparison of diagnosis methods including polymerase chain reaction. *Journal Veterinary of Medecine B*, 415, 597-602.
- [10]- KERMORGANT P. (1999). Les mycoplasmoses aviaires : enquête sérologique réalisée en Bretagne en 1998. Thèse de docteur vétérinaire Faculté de médecine Nantes, 131 pages
- [11]- SARKAR SK RAHMAN MB RAHMAN M AMIN KMR KHAN MFR RAHMAN MM (2005). Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens in model breeder poultry farms of Bangladesh. *International Journal of Poultry Science*, 4 (1): 32-35.
- [12]- ORAJAKA LJE., OKOYE JOA., OBOEGBULEM SI. (2002). Seroepidemiologic survey of mycoplasma in native and exotic chickens in Nsukka District of South Eastern Nigeria. *J. Sustainable Agriculture and the Environment*, **4** (1) : 77-82.
- [13]- PANDEY G S., HASEGAWA M. (1998). Serological survey of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in chickens Zambia . *Bull. Anim. Heal. Prod. Africa.* , 46: 113 -117.
- [14]- MUSHI EZ., BINTA M.G., CHABO RG., MATHAIO M., NDEBELE RT. (1999). Detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* antibodies in the sera of indigenous chickens by rapid plate agglutination test at Mnopane, Botswana. *Onderstepoort. J. Vet. Res.*, **66**: 333-334.
- [15]- SKIDER, AJ, ISALM, MA, RAHMAN, MM , RAHMAN , MB. (2005). Seroprevalence of *Salmonella* and *Mycoplasma gallisepticum* infection in six model breeder poultry farms at patuakhili district in Bengladesch. *International Journal Poultry Science* 4 (11) : 905-910.
- [16] - HOSSAIN, .K.M.M., ALI, M.Y., HAQUE, M.I. (2007). Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chicken in the greater Rajshahi district of Bangladesh. *Bangl. J. Vet. Med.*, 5(1-2): 09-14
- [16]- HELEILI N MAMACHE B CHELIHI A (2011). Incidence of avian mycoplasmosis in the région of Batna, Eastern Algeria. *Veterinary World*, 4(3): 101-105
- [18]- TALHA, AFSM. (2003). Investigation on the prevalence of *Mycoplasma gallisepticum* in village chickens and possibility of establishing *Mycoplasma gallisepticum* free flocks and significance *Mycoplasma gallisepticum* of different production parameters in layerchickens in Bangladesh. M. Sc Thesis, Departement of Veterinary Microbiology, The Royal Veterinary and Agricultural University Danemark and Departmnet of Pathology, Bangladesh Agricultural University Mymensing, Bangladesh.