

PORTAGE DE *CHLAMYDOPHILA PSITTACI* DANS LA FILIERE CANARD MULARD : EVALUATION DU PORTAGE CHEZ LES REPRODUCTEURS ET INCIDENCE SUR LE STATUT DU CANETON

Guérin J-L., Ballot A., Sraka B. et Léon O.

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
23, chemin des Capelles
BP87614 - 31076 Toulouse cedex 3

Résumé

La chlamydie, causée par *Chlamydophila psittaci*, affecte les oiseaux, certains mammifères et l'homme, chez qui elle est appelée psittacose ou ornithose.

Après avoir développé des outils moléculaires de détection et quantification, nous avons précédemment réalisé une enquête épidémiologique sur 60 lots de canards mulards en gavage (Léon et al., 2004). Sur la base de ces données, nous avons réalisé une enquête de prévalence chez les reproducteurs de cette filière (canes Pékin et canards Barbarie). De même, nous avons évalué la transmission de *C.psittaci* des reproductrices aux canetons d'un jour. Nous présentons ici les résultats de cette enquête, qui montre que *C.psittaci* infecte une proportion significative de lots de reproducteurs mâles et femelles, comparable à celle observée chez les canards gavés. Nous montrons enfin qu'un lot de canes infectées peut transmettre la bactérie aux canetons issus, par un mécanisme de transmission verticale vraie.

Introduction

Historiquement décrite sous le terme de psittacose chez le perroquet et la perruche, la chlamydie provoque chez l'oiseau des épisodes cliniques dont la gravité dépend principalement de l'espèce infectée et de la souche infectante. Les espèces les plus sensibles sont les psittacidés, les colombidés et la dinde chez qui elle s'exprime, dans sa forme aiguë, par une association de signes généraux (prostration, ailes tombantes, anorexie) et de signes respiratoires supérieurs (écoulements, toux, conjonctivite). Chez les palmipèdes, l'infection serait le plus souvent inapparente. Le poulet semble quant à lui résister à l'infection (Andersen et Vanrompay, 2003 ; European commission, 2002).

L'agent infectieux, *Chlamydophila psittaci*, est une bactérie intracellulaire stricte, capable d'infecter de nombreuses espèces d'oiseaux (Kaleta et al., 2003) et de mammifères, dont l'Homme. Le caractère zoonotique de l'infection à *C. psittaci* occupe une place centrale dans l'épidémiologie de la maladie. D'un simple syndrome grippal, la psittacose humaine peut évoluer vers une pneumonie atypique nécessitant une hospitalisation. Alors qu'elle fait souvent partie du diagnostic différentiel des affections respiratoires chez les amateurs de psittacidés d'ornement, la psittacose a longtemps été sous-estimée chez les professionnels de la filière volaille. Il apparaît clairement que, parmi les volailles, le canard joue un rôle de premier plan en tant que réservoir de *C. psittaci*.

Nous avons précédemment développé des outils moléculaires de détection de *C.psittaci* et réalisé

une enquête épidémiologique sur 60 lots de canards mulards en gavage (Léon et al., 2004). L'enjeu de cette étude est double : (i) estimer la prévalence d'infection à *C.psittaci* au niveau de l'étage multiplication et (ii) évaluer les conséquences sur le statut du caneton à l'égard des infections à *C.psittaci*.

Matériel et Méthodes

Echantillonnage des canards reproducteurs

L'échantillonnage a été défini afin d'obtenir un échantillon représentatif de la population de reproducteurs de la filière mulards en France. L'enquête a porté sur plusieurs organisations représentant 80% de la production française de canetons mulards de 1 jour. Pour chaque organisation, chaque parquet prélevé a été choisi « au hasard », en respectant la répartition géographique globale et la diversité génétique des élevages de reproducteurs français.

Prélèvements

Pour chaque parquet choisi, 10 mâles et 20 femelles ont été prélevés. Le prélèvement consistait en un écouvillon sec conjonctival. Certains lots (n=5) ont également fait l'objet d'un prélèvement cloacal. Les écouvillons étaient stockés à -80°C avant extraction d'ADN et analyse.

Echantillonnage et prélèvements sur les œufs embryonnés

Un parquet de reproducteurs testés positifs lors de l'enquête de prévalence a été sélectionné pour étudier le statut des canetons issus : 40 canetons femelles de 1 jour ont été prélevées en éclosoir, sacrifiées et autopsiées. Des sections de foie et de poumon ont été prélevées et immédiatement congelées à -20°C en vue de l'analyse par PCR quantitative. A chaque étape, des précautions particulières étaient observées afin d'éviter toute contamination des échantillons. Pour chaque tissu, l'ADN a été extrait à l'aide du kit commercial PCR Template DNA kit (Roche Diagnostics).

Analyses par PCR quantitative

La technique de réaction par polymérisation en chaîne quantitative (qPCR) a été choisie pour détecter le génome de la bactérie. Les amorces CP-SBF et CP-SBR, utilisées pour la réaction de qPCR, ont été choisies sur la séquence du gène codant pour la protéine majeure de membrane *OmpA* à l'aide des logiciels MultAlign® et Primer Xpress® (Léon et al., 2004). Après extraction de l'ADN par 10 min d'ébullition en dithiothréitol 10%, puis préparation des réactions en chimie SYBR® Green, l'amplification a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur GeneAmp® 5700. Les résultats sont exprimés selon la classification précédemment décrite (Léon et al., 2004) (TABLEAU 1).

Analyses statistiques

Les analyses ont été réalisées avec le logiciel Statgraphics Plus v.5.0, et les test de Student et du χ^2 ont été utilisés pour comparer respectivement moyennes et proportions, la valeur de p étant indiquée à chaque fois.

Résultats

*Détection du portage de *C.psittaci* chez les canards reproducteurs*

Un total de 180 mâles et 440 femelles en ponte a été prélevé. 42 mâles et 51 femelles sont détectés positifs. 30 parquets sur les 41 lots analysés sont qualifiés de « positifs », c'est-à-dire comportent au minimum un sujet modérément positif ou hautement excréteur dans l'échantillon (TABLEAUX 1 et 2). Une classification des lots en fonction du stade de ponte (<35 semaines ; entre 35 et 50 semaines ; >50 semaines) ne permet pas d'identifier de différence significative de la fréquence d'infection (résultat non montré). Les mâles sont plus fréquemment infectés que les femelles ($p < 0.05$) (TABLEAU 2).

Analyse quantitative du portage par les reproducteurs

L'essentiel des sujets infectés (81/93) présente une charge bactérienne « modérée ». Quelques rares sujets sont hautement excréteurs (TABLEAU 3). Ce profil est cohérent avec celui décrit sur les canards mulards en élevage et gavage (Léon et al., 2004).

Evaluation de la contamination verticale de canetons de 1 jour

Afin d'évaluer l'impact du statut des canes reproductrices sur les canetons de 1 jour, une analyse spécifique est réalisée sur 40 canetons issus d'un parquet de reproducteurs dont 5 femelles/20 présentaient une charge modérée au cours de l'enquête de prévalence. Les 40 canetons sont prélevés en éclosoir et leur analyse par qPCR est pratiquée sur des sections de foie et poumon. Sur les 40 canetons, 3 sont positifs pour les 2 tissus et 5 pour l'un des 2. Au total, 8 canetons de 1 jour sont donc infectés par *C.psittaci* au niveau de leurs tissus profonds (TABLEAU 4).

Discussion

Cette étude fait suite à l'analyse du portage de *Chlamydophila psittaci* sur les canards mulards en élevage et gavage (Léon et al., 2004). Elle permet de tirer 2 enseignements majeurs :

- La prévalence de l'infection à *C.psittaci* est significative dans les élevages de canes reproductrices destinées à produire le caneton mulard. Le portage est homogène sur les parquets testés, indépendamment des organisations, schémas génétiques et secteurs géographiques enquêtés. Les résultats montrent que l'infection à *C.psittaci* est largement répandue, de manière parallèle au portage relevé sur les animaux en élevage ou en gavage (Léon et al., 2004). La quantification de la charge bactérienne montre que le portage est le plus souvent faible à modéré. Même si la relation entre le portage et la clinique n'a pas fait l'objet d'une analyse statistique, ces infections ne semblent pas être associées à des manifestations cliniques chez les reproducteurs, ni avoir d'impact sur leurs performances de ponte ou d'éclosabilité. Par ailleurs, il existe de rares animaux hautement excréteurs, peu nombreux au sein d'un lot, qui représentent vraisemblablement un danger particulier pour les professionnels exposés.
- La transmission verticale vraie de *C.psittaci* est possible, comme cela avait été montré chez le dindonneau (Lublin et al., 1998). Il reste à analyser plus largement l'importance quantitative de cette voie de transmission et les conséquences de l'infection sur la ponte, la fertilité et l'éclosabilité.

Les mâles de Barbarie, au même titre que les femelles Pékins, sont porteurs de *C.psittaci*. On peut à ce stade s'interroger sur la contribution respective des 2 sexes dans la contamination hématogène de l'embryon. L'hypothèse d'un impact de l'infection sur la mortalité embryonnaire a été avancée par certains auteurs mais elle n'a jamais été confirmée.

La contamination des reproducteurs a une signification au regard des risques de zoonose qu'elle représente pour les professionnels de l'accoupage et sur le statut sanitaire de l'étagé production. L'exposition des professionnels de l'accoupage avait déjà été suggérée par une enquête épidémiologique préliminaire réalisée dans les Pays de Loire (Abadia, 2003). Ce phénomène de portage de *C.psittaci* est sans doute enzootique et s'apparente à une « symbiose » ou du moins, une relation hôte-agent pathogène très équilibrée. Ceci est également évoqué pour d'autres agents pathogènes, tels que les virus influenza.

Ce programme de recherche, entrepris à l'initiative de l'Interprofession, a pour objectif de mieux connaître l'ampleur et les modalités de l'infection à *C.psittaci* chez les palmipèdes, pour *in fine* identifier des voies de maîtrise pragmatiques de ce risque professionnel. Cette étude, suggère qu'un travail d'assainissement spécifique au niveau de l'accoupage pourrait être une voie de maîtrise, parmi d'autres sans doute, de l'infection par *C.psittaci* dans les filières palmipèdes. Cette approche pourrait faire appel, par exemple, à une antibiothérapie avant l'entrée en ponte, voire à plus long terme, à des stratégies vaccinales qui sont encore au stade expérimental. En attendant, il convient de rappeler les principes (i) de protection individuelle des professionnels exposés à des animaux potentiellement infectés et (ii) de prise en charge médicale précoce de toute suspicion de contamination (Abadia et al., 2001).

Références bibliographiques

- Abadia G., Sall N'Diaye P., Masson P., Laurens E., Delemotte B., Choutet P. 2001. Med Mal Infect. **31 Supp 2**:226-232.
- Abadia G. 2003. 30ème symposium national de médecine agricole, Tours, 25 Avril 2003.
- Andersen A.A., Vanrompay D. 2003. In : *Diseases of poultry*. 11^{ème} édition : 863-879.
- European Commission. 2002. In : *Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare*.
- Kaleta E., Taday E. 2003. Avian Pathol. Oct ; **32**(5):435-61.
- Lublin, A., Shudari, G., Mechani, S., Malkinson, M., Perl, S., Yuval, H., Weisman, Y. 1998. In :

Proceeding of the 10th European Poultry Conference, Israel : 333-337.

Schvoerer C. 2001. Méd. Mal. Infect. **31 Supp 2**:217-225.

Trap D., Gaumont R. 1983 Bull. Lab. Vet. **12** (Déc) :23-29.

Trap D., Mahe A.M. 1996. Rev. Med. Vet. **147**(7):519-24.

Vanrompay D., Butaye P., Van Renom A., Ducatelle R., Haesebrouck F. 1997. Vet. Microbiol. **54**:85-93.

Remerciements

Nous remercions les professionnels, groupements de producteurs et vétérinaires pour leur collaboration active à ce projet. Ce programme de recherche a bénéficié du soutien financier du CIFOG (Comité interprofessionnel des Palmipèdes à Foie gras).

| | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------|
| Statut du canard | - | NQ | + | HEC | |
| Conditions à remplir | 0 | $0 < Q < 10^4$ | $10^4 < Q < 10^6$ | $Q > 10^6$ | |
| Statut du lot | - | NQ | POSITIF | | |
| | | | Faiblement | Fortement | |
| Conditions à remplir | 100% canards négatifs | Au moins 1 canard NQ | <50% canards positifs | >50% de canards positifs | ≥ 1 canard HEC |

TABLEAU 1. Détermination du statut bactériologique individuel (animal) et collectif (parquet), sur la base de la quantification des génomes de *C.psittaci* /écouvillon. - : négatif, + : positif, NQ : non quantifiable, HEC : hautement excréteurs en *C. psittaci*.

| | | Animaux testés | Nombre de positifs | % positifs |
|-----------------|----------|----------------|--------------------|------------|
| Animaux | Mâles | 180 | 42 | 23,3% |
| | Femelles | 440 | 51 | 11,2% |
| | Total | 620 | 93 | 15% |
| Parquets | Mâles | 20 | 15 | 75% |
| | Femelles | 21 | 15 | 71,6% |
| | Total | 41 | 30 | 73,2% |

TABLEAU 2. Prévalence estimée du portage de *C.psittaci* chez les canards reproducteurs mâles et femelles

| | Mâles | Femelles | Total |
|-------------------------------|---------|----------|---------|
| Négatifs | 138/180 | 389/440 | 527/620 |
| Positifs non quantifiables | 1/180 | 5/440 | 6/620 |
| Modérément positifs | 36/180 | 45/440 | 81/620 |
| Positifs hautement excréteurs | 5/180 | 1/440 | 6/620 |

TABLEAU 3. Quantification du portage de *C.psittaci* sur les canards reproducteurs mâles et femelles

| Statut des canetons en fonction du site de prélèvement | | POUMON | | TOTAL |
|--|---------|---------|---------|-------|
| | | Positif | Négatif | |
| FOIE | Positif | 3 | 5 | 8 |
| | Négatif | 5 | 27 | 32 |
| TOTAL | | 8 | 32 | 40 |

TABLEAU 4. Détection de *C.psittaci* sur 2 tissus de canetons de 1 jour. Les sujets positifs présentent tous une charge bactérienne faible.