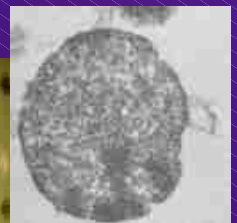
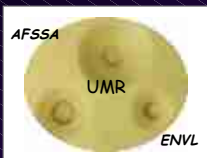
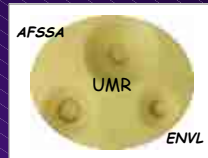




Mycoplasmes et Mycoplasmoses bovines *Actualités*

D. Le Grand, M.-A. Arcangioli, D. Calavas,
P. Bézille, F. Poumarat

UMR Mycoplasmoses des Ruminants - AFSSA-ENVL



Les Mycoplasmes : *Introduction générale*



Procaryotes / Division III des TERENICUTES

CLASSE des MOLLICUTES (= MYCOPLASMES)

ORDRE	FAMILLE	GENRE	HOTES
I Mycoplasmatales	Mycoplamataceae	<i>Mycoplasma</i>	homme/animaux
		<i>Ureaplasma</i>	homme/animaux
II Entomoplasmatales	Entomoplamataceae	<i>Entomomoplasma</i>	insectes/plantes
		<i>Mesoplasma</i>	insectes/plantes
	Spiroplasmataceae	<i>Spiroplasma</i>	insectes/plantes
III Acholeplasmatales	Acholeplasmataceae	<i>Acholeplasma</i>	homme/animaux/ insectes/plantes
IV Anaeroplasmatales	Anaeroplasmataceae	<i>Anaeroplasma</i>	rumen
		<i>Asteroleplasma</i>	rumen

Récemment, certaines espèces des genres *Eperythrozoon* et *Haemobartonella* reclassées comme espèces hémotropes du genre *Mycoplasma* et sont devenues :

-*Mycoplasma haemocanis*, *M. haemofelis*, *M. haemomuris*

-*M. ovis*, *M. suis*, *M. wenyonii*

-"*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*", "*Candidatus Mycoplasma haemodidelphis*", "*Candidatus Mycoplasma haemolamae*", "*Candidatus Mycoplasma haemominutum*".

MYCOPLASMES : Bactéries particulières

- Absence de PAROI
- Très petite taille - Génome minimum
- Extra-cellulaires (possible phase intra-cellulaire temporaire pour certaines espèces)
- Très répandus dans le règne Animal et Végétal
 - > 100 espèces chez les animaux
 - phytoplasmes (près de 150 espèces)
- Tropisme tissulaire varié



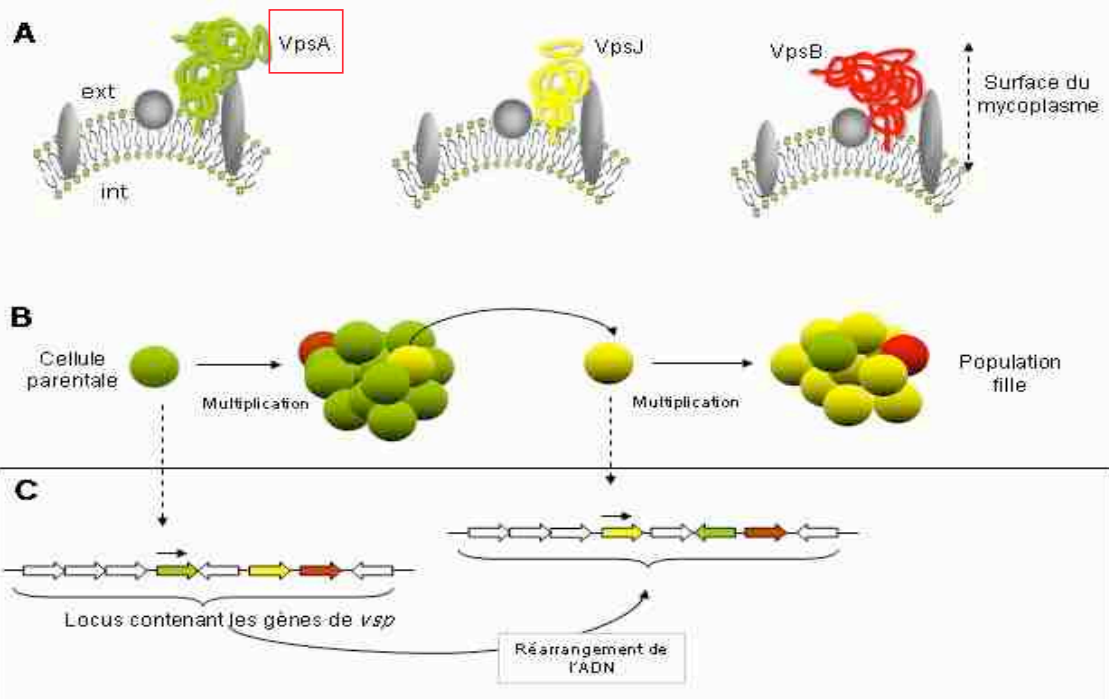
Colonies de *M.bovis*

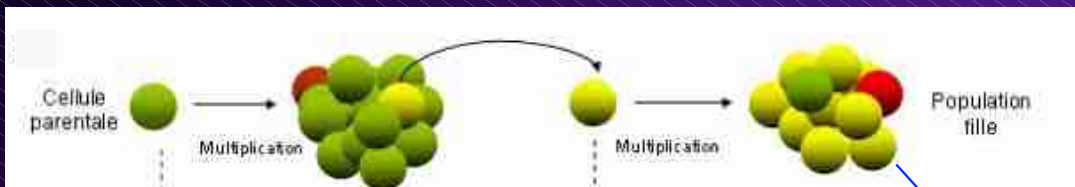
Stratégies de survie ???

- **Systèmes antigéniques hypervariables** »»» Notion de variabilité antigénique
- **Biofilms**
- **Transfert de matériel génétique**

Stratégies de survie ???

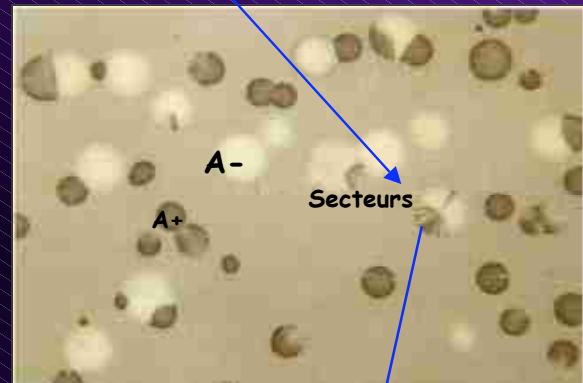
- Systèmes antigéniques hypervariables :
Notion de variabilité antigénique
- Biofilms
- Transfert de matériel génétique





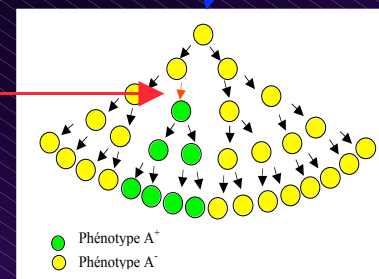
Crédit : C. Citti

Immuno-empreinte sur colonies (« Colony blot ») illustrant le phénomène de variabilité antigénique **intra-clonale** observé chez *M. bovis*.



Crédit : R. Rosengarten

Mutation du phénotype :
apparition d'une lignée cellulaire exprimant VspA



Fonctions des Systèmes Antigéniques Hypervariables

Hypothèses :

- * pouvoir invasif
- * tropisme tissulaire varié (en variant les configurations d'adhérence)

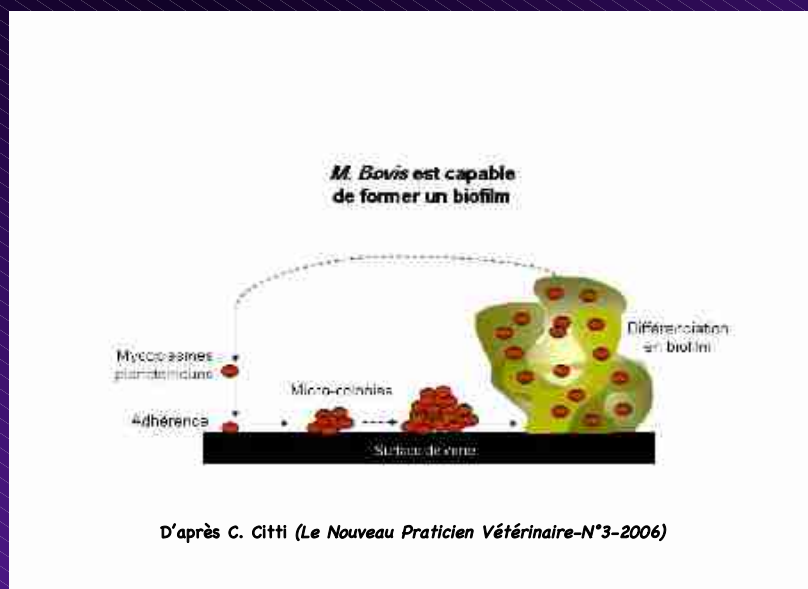
Démontré *in vitro* :

- * adhérence
- * échappement à une pression immunitaire humorale

Stratégies de survie ???

- Systèmes antigéniques hypervariables
- Biofilms
- Transfert de matériel génétique

On sait depuis peu que certaines espèces de mycoplasmes (*M.bovis*, *M. agalactiae*, *M. putrefaciens*, *M. cottewii*, *M. yeatsii* et certaines souches de *Mmm SC*) sont capables de former, *in vitro*, des biofilms sur des surfaces inertes



Conséquences pratiques et particularités des biofilms :

- ❖ impliqués dans un grand nombre d'infections chroniques et plus particulièrement pour celles dont le traitement antibiotique s'est révélé inefficace malgré la sensibilité du pathogène lors de l'antibiogramme
- ❖ sont généralement résistants à de nombreuses forces physiques (circulation sanguine, action de lavage de la salive)
- ❖ supportent mieux des conditions physiologiques difficiles (privation de nutriments, changements de pH, résistance aux désinfectants) que des bactéries individualisées
- ❖ résistants à la phagocytose
- ❖ limitent la diffusion des antibiotiques au sein du biofilm (conduisant ainsi à une hétérogénéité quant à la susceptibilité des bactéries enchâssées)

Les biofilms auraient donc un rôle prépondérant dans la persistance des bactéries dans l'environnement et chez l'hôte

Stratégies de survie ???

- Systèmes antigéniques hypervariables
- Biofilms
- Transfert de matériel génétique

- Jusqu'à présent semblait peu présent chez les mycoplasmes
- **Mais récemment** : analyse du génome de *M. agalactiae* montre que 1/5ème des gènes de cette espèce proviendraient de mycoplasmes du groupe « mycoides » (groupe phylogénétiquement distant du groupe « hominis » auquel appartient *M. agalactiae*)
 - pas un héritage direct (vertical)
 - *M. agalactiae* peut partager la même niche écologique (canal auriculaire des caprins) que certaines espèces du groupe « mycoides »
- Egalement décrit, chez certaines souches de *M. agalactiae*, l'existence d'un **élément génétique transférable** que l'on peut retrouver chez *M. bovis*.
- **Ces transferts de gènes pourraient avoir de nombreuses conséquences** : adaptation à un nouvel hôte, la colonisation de nouveaux sites anatomiques, ou encore induire des problèmes d'identification antigénique suite à l'apparition de réactions croisées par transfert de gènes codant pour des épitopes théoriquement spécifiques.



Mycoplasmoses bovines



Chez les Ruminants
environ 40 espèces
(classiques et occasionnelles)

MAIS

d'importance **médicale** et **économique**
très différentes

Chefs de file des espèces pathogènes chez les Bovins :

Mycoplasma bovis, *M. mycoides subsp. mycoides SC* (PPCB)

Mycoplasmes bovins :

Pouvoir pathogène différentiel

Pouvoir pathogène	Espèces	Prévalence animal sain / malade
?	<i>M. canadense</i> , <i>M. galisepticum</i> , <i>M. alkalescens</i>	? / +
0	<i>M. arginini</i> , <i>M. bovirhinis</i> , <i>A. laidlawii</i>	+++ / +++
+ / -	<i>M. dispar</i> , <i>Ureaplasma diversum</i>	+++ / +++
+++	<i>M. bovis</i> , <i>M. m. mycoides SC</i>	+ / +++

Mycoplasmoses bovines à *Mycoplasma bovis*

Mycoplasma bovis

- Spécifique des bovins
- Tropisme tissulaire varié d'où manifestations cliniques protéiformes

Expressions du pouvoir pathogène de *Mycoplasma bovis*

Intervient en tant qu'agent :

UNIQUE

Mammites

Arthrites

Avortements

Méningites, KC,

Abcès S/C, *Otites*



Photo: Unité mycoplasmaologie AFSSA Lyon

**PRECURSEUR et/ou
EN ASSOCIATION**

Pneumopathies

(BPIE)

Métrites

Expressions du pouvoir pathogène de *Mycoplasma bovis*

Intervient en tant qu'agent :

UNIQUE

Mammites

Arthrites

Avortements

Méningites, KC,

Abcès S/C, *Otites*



Crédit Pathologie du Bétail - ENVL

**PRECURSEUR et/ou
EN ASSOCIATION**

Pneumopathies

(BPIE)

Métrites

Epidémiologie Descriptive des affections à *Mycoplasma bovis* en France

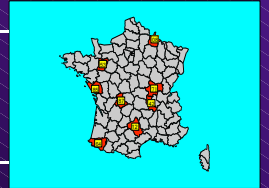
1. Séroprévalence de l'infection à *M.bovis* dans le cheptel allaitant français :



Crédit : <http://www.azurs.net/photoblogv0>

Synthèse des enquêtes sur la séroprévalence de *M.bovis* en France dans le cheptel bovin allaitant (LeGrand et col., 2002 ;Poumarat et col., 1986 ;Poumarat et col., 1991)

	1985-1987	1988-1990	1997-1998 Enquête statistiquement représentative
	Jeunes bovins de boucherie (12-24 mois)	Vaches Allaitantes (étude dans 10 départements)	Cheptel allaitant (animaux >1an) (étude dans 8 départements)
Nombre de troupeaux testés	-	110	824
Nombre d'animaux testés	583	4300	32.197
Taux d'infection des animaux	7% (10%)*	6% (9%)*	2 à 13%***
Taux de troupeaux infectés	-	35% (50%)**	28 à 90%***
	Technique d'Hémagglutination Passive (HAP)		Technique ELISA



* X%(Y%) : avec X%= pourcentage d'animaux sûrement positifs (titre en HAP > à 80) ; Y%= pourcentage d'animaux avec un titre en HAP > 10

** X%(Y%) : avec X%= pourcentage de troupeaux avec au moins un animal ayant un titre en HAP > 80 ; Y%= pourcentage de troupeaux avec au moins un animal ayant un titre en HAP > 10

*** Selon les départements



2. Epidémiologie de l'infection à *M.bovis* dans le cheptel laitier français :



2.1. Séroprévalence : Synthèse des enquêtes

	1985-1987	1988-1990	2003
	Veaux de boucherie	Vaches Laitières	Veaux de boucherie
Nombre de troupeaux/lots testés	18	90	9
Nombre d'animaux testés	209	3300	135
Taux d'infection des animaux	4%*	6% (10%)**	2%*
Taux de troupeaux infectés	-	25% (44%)**	-
	Technique HAP		ELISA

* A la mise en lot

** X%(Y%) : avec X%= pourcentage d'animaux sûrement positifs (titre en HAP > à 80) ; Y%= pourcentage d'animaux avec un titre en HAP > 10

*** X%(Y%) : avec X%= pourcentage de troupeaux avec au moins un animal ayant un titre en HAP > 80 ; Y%= pourcentage de troupeaux avec au moins un animal ayant un titre en HAP > 10

(Arcangioli et col., 2007 ; Poumarat et col., 1986 ; Poumarat et col., 1991)

2.2. Prévalence de *M. bovis* dans les laits de tanks :

① Enquête en Pays de la Loire 2004

(Lemarchand, F., Amédeo, J., Sellal, E., Poutrel, B. Recherche de *Mycoplasma bovis* par technique P.C.R. sur lait de tank en Pays de Loire. *Bulletin des GTV*, 2005, 32 : 121-125)

② Enquête Rhône-Alpes - Auvergne 2005

(Poumarat, F., Arcangioli, M.A., Le Grand, D., Chazel, M., Sellal, E., Duet, A., Bézille, P., Calavas, D. Prévalence des infections à *Mycoplasma bovis* en France dans la filière laitière. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire - Elevages et santé*, 2006, N°3: 32-36)

① Enquête en Pays de la Loire 2004 (Lemarchand F. et col., 2005)

Région : Pays de la Loire
Population d'enquête : 1350 élevages
Echantillon : 101 élevages laitiers

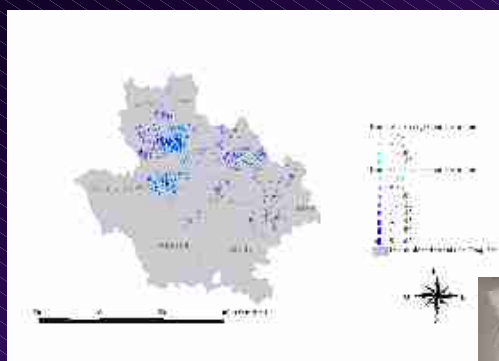
Analyses : PCR-temps réel puis nested-PCR (kit Taqvet *Mycoplasma bovis* - LSI-Lissieu-France)

Résultats : Tous les échantillons se sont avérés négatifs

② Enquête Rhône-Alpes - Auvergne 2005 (Poumarat F. et col., 2006)

Population d'étude :

- 1522 élevages bovins issus de 6 départements (Ardèche, Drôme, Isère, Loire, Haute-Loire, Rhône)
- Collectés par une coopérative laitière (ORLAC - Vienne)



Echantillon ●
Population d'enquête ●

Crédit : M. Chazel - AFSSA Lyon



Echantillonnage :

- Laits de tanks
- Hypothèse de prévalence 2% (données américaines)
- 275 prélèvements nécessaires → 345 analysés

►►► Analyses :

- PCR ciblée *M. bovis* directe sur lait (*T. kit Mycoplasma bovis - LSI-Lissieu-France*)
ET
- Culture et identification : recherche *M. bovis* + autres espèces *M. canadense*, *M. bovigenitalium* et *M. alkalescens*

►►► Résultats :

- . Tous les échantillons se sont révélés négatifs
 - ↳ résultats préliminaires donnent une prévalence < à
1% (IC 95%)
- . Inférieure à la prévalence attendue de 2%

3. Prévalence de *M.bovis* en pathologie mammaire :

- Niveau d'infection du cheptel laitier apparemment faible :

↳ probable que les mammites cliniques à *M. bovis* ne sont que sporadiques

- Elles existent cependant :

↳ entre 1983 et 2005, une dizaine de foyers ont été identifiés dans 8 départements différents (données VIGIMYC)

4. Prévalence de *M.bovis* lors de pathologie respiratoire chez les veaux et jeunes bovins à l'engraissement :



① Enquête de 1988 (Poumarat et col., 1988) : Prévalence sérologique lors de pathologie respiratoire :

Suivi clinique et sérologique de :

- . 12 élevages de **JBB** (≈ 10 animaux / élevage)
- . 27 élevages de **veaux non sevrés** (≈ 10 animaux / élevage)

M.bovis est intervenu dans **1/4 des élevages de JBB** et **1/3 des élevages de veaux non sevrés** où sévissait une pathologie respiratoire

② Prévalence de *M. bovis* lors de pathologie respiratoire chez des veaux à l'engraissement :

Enquête en région Rhône-Alpes (Arcangioli M.-A. et col., 2007) :

- Population : veaux en ateliers d'engraissement allotés vers 15 j d'âge
- Animaux sur aire paillée ; alimentation au DAL

- Echantillonnage :

- .9 lots (moyenne de 100 veaux/lot) / 8 élevages
- .15 animaux prélevés par lot

- Isolements à partir de LBA

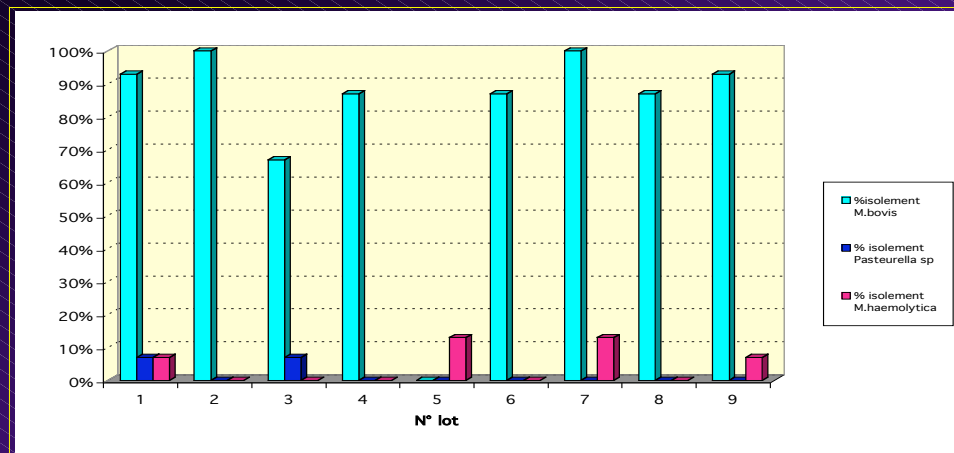


Prélèvements réalisés en début de pathologie respiratoire (entre J+8 et J+19)



►►► Résultats isoléments :

- 8 lots positifs / 9 testés : *supérieur au résultat attendu à savoir 1/3 des lots positifs*
- Par lot : Pourcentage d'animaux infectés élevé (67% à 100%) (n=15/lot)



►►► Résultats sérologies M. bovis :

- Pourcentage d'animaux présentant une *séro-conversion* sur la période d'étude (d'environ 10 semaines après la mise en lot) : *de 60% à 100% selon les lots.*

Mycoplasmoses bovines à
*Mycoplasma mycoides subsp.
mycoides* biotype *Small Colony*
Agent de la PPCB

- ✓ PPCB = maladie "historique" (fléau mondial de l'élevage bovin au 19^{ème} siècle)
- ✓ Eradication en Europe au début du XX^{ème} siècle à l'exception de zones très limitées où foyers sporadiques persistants
- ✓ Réapparition en France et dans le sud de l'Europe entre 1980 et 1999 (plusieurs centaines de foyers).
- ✓ Totalement éradiquée en Europe ???
- ✓ PPCB européenne contemporaine semble moins virulente et moins immunogène que celle observée en Afrique.

1. Généralités :

Définition

- . Pneumopathie grave des bovins
- . Lésions caractéristiques (surtout pour la forme Africaine)
- . Caractère enzootique insidieux
- . Transmission directe obligatoire

Espèces sensibles

- . Bovins, zébus, buffles / yacks, bisons, élans
- . Ovins et caprins : réservoir occasionnel

Importance

- . 1^{ère} maladie économique en Afrique ; fin 20^{ème} siècle : recrudescence et extension vers le Sud et l'Est

Législation

- . OIE : ancienne liste A
- . Code rural : classée MRC - Abattage troupeaux

2. MmmSC l'agent de la PPCB :

- Les souches européennes de *Mmm SC* diffèrent génétiquement des souches africaines (délétion d'une partie importante du génome d'où des souches européennes contemporaines qui seraient moins virulentes que les souches africaines).
- La PPCB européenne sous sa forme récente serait donc la résurgence d'une forme de PPCB endémique en Europe et non pas consécutive à une importation d'Afrique.

3. Diagnostic : Diagnostic nécropsique: Lésions typiques de PPCB

-Pleurésie séro-fibrineuse unilatérale

-Broncho-pneumonie à foyers disséminée (absence de pus dans les bronches)

-Lobulation très marquée

-Grande quantité de lymphes s'écoule à la coupe

-Aspect très hétérogène des lésions d'hépatisation (évolution assez lente pour que l'on retrouve tous les stades de l'inflammation, et même plusieurs phases, sur un seul lobule)

-Nécrose pouvant être importante dès la phase aiguë

-Séquestres en phase chronique



(Photos: John Bashiruddin & AFSSA Lyon)

3. Diagnostic : Diagnostic de laboratoire :

Bactériologie

- culture et identification (méthode immuno-enzymatique à l'aide d'Ac polyclonaux et monoclonaux)
- PCR

Diagnostic sérologique et dépistage :

- Fixation du complément (méthode de référence jusqu'à aujourd'hui) : sensibilité trop faible dans le contexte de faible prévalence européenne et pour la détection des porteurs chroniques.
- D'où de nouvelles recommandations pour le diagnostic de la PPCB proposées par le comité scientifique de la santé et du bien être animal de la Commission Européenne : Utilisation de l'ELISA avec confirmation des positifs par technique d'immunoblotting.

Uréaplasmoses :

Ureaplasma diversum

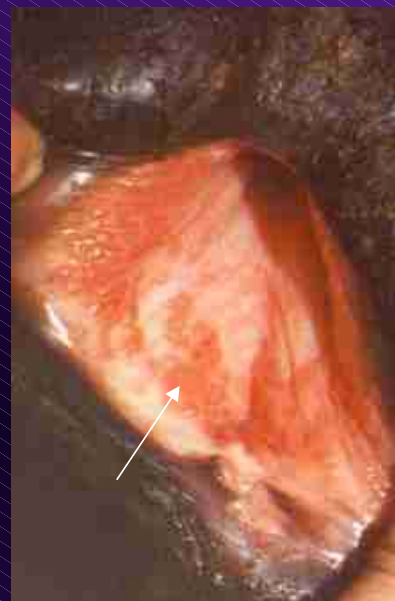
1. Généralités :

- . Anciennement T-mycoplasmes (tiny)
- . Utilisation de l'urée comme facteur de croissance
- . Isolés de : bovins (*U.diversum*), ovins, caprins, chiens, chats, primates, oiseaux, homme (*U.urealyticum*)

2. Signes cliniques :

- . Atteinte de la sphère Génitale +++
 - Infertilité (mortalité embryonnaire, avortements)
 - Salpingite, endométrites, V V G
- . Respiratoire (BP veaux)
- . Oculaire (KC)

Lésions de Vulvo-Vaginite Granuleuse (animaux négatifs en IBR)



3. Situation en France :

- Etudier la fréquence et les conséquences pathologiques et zootechniques de l'infection à *U. diversum* en France
- Enquête sur 565 vaches laitières et 50 taureaux
- Résultats : taux d'infection était de 74 % chez le mâle et de 40 % chez la femelle.

Chez les femelles : pas de relation significative entre l'infection et la présence de lésions de VVG d'une part, et d'autre part entre l'infection et les performances de reproduction.

4. Diagnostic :

- Isolement sur milieu spécifique
- Non disponible en routine

Organisation du Diagnostic et Epidémiologie-surveillance des mycoplasmoses bovines en France



ORGANISATION DU DIAGNOSTIC en FRANCE

◆ DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

. ISOLEMENT :

. Milieu commercialisé (Axcell Biotechnologies)

. LVD ; ENV

. IDENTIFICATION +++++ :

. Centralisation des identifications mycoplasmes Ruminants et Petits-Ruminants à l' AFSSA Site de Lyon - Réseau **VIGIMYC**

. Méthode immunoenzymatique (MF dot)



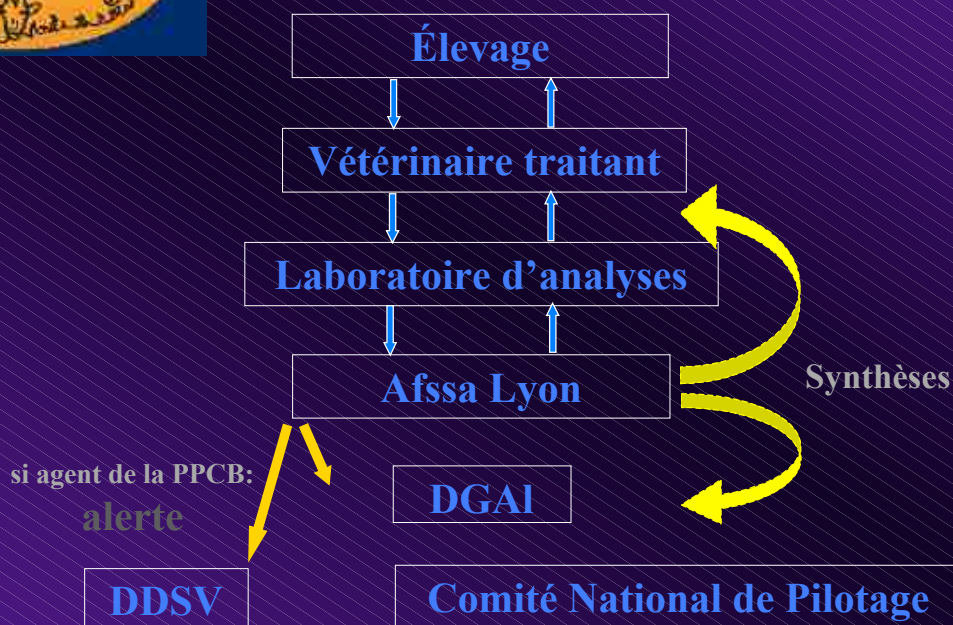
◆ DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE :

. *M. bovis* : Certains LVD

. PPCB : AFSSA Lyon = laboratoire de référence



Fonctionnement du réseau :





Objectifs du réseau :

- ❖ Epidémiologie-surveillance d'une éventuelle réapparition de la PPCB en France
- ❖ Suivre l'évolution des espèces de mycoplasmes isolées chez les bovins et les petits ruminants
- ❖ Détecter l'émergence de nouvelles espèces sur le territoire
- ❖ Important support pour la recherche (informations épidémiologiques, collection de souches)

POUMARAT F. et col. - Pt Vét. 246, 2004.

POUMARAT et col. - Le Nouveau Praticien Vétérinaire - Elevages et santé, 2006, N°3

Merci de votre attention

