

MYCOPLASMES ET MYCOPLASMOSES BOVINES : ACTUALITÉS

NEWS ON MYCOPLASMA AND BOVINE MYCOPLASMOSIS

Par Dominique LE GRAND⁽¹⁾, Marie-Anne ARCANGIOLI⁽¹⁾, Didier CALAVAS⁽²⁾,
Pierre BEZILLE⁽¹⁾ et François POUMARAT⁽³⁾
(communication présentée le 6 mars 2008)

RÉSUMÉ

Les mycoplasmes, terme générique désignant les bactéries de la classe des *Mollicutes*, représentent les plus petits organismes vivants capables de se multiplier de façon autonome. Depuis leur découverte, la connaissance de leurs particularités métaboliques, antigéniques et génétiques a considérablement progressé. L'importance médicale et économique des mycoplasmoses en production animale, notamment dans la filière des bovins et des petits ruminants, n'a cessé de croître au cours de ces 20 dernières années. La nécessité de maintenir sur l'ensemble du territoire français une veille épidémiologique de la Péripleurite Contagieuse Bovine (PCB), mais également des autres mycoplasmoses, a donné naissance au réseau d'épidémiologie-surveillance VIGIMYC.

Mots-clés : *mollicutes*, mycoplasmoses bovines.

SUMMARY

The Mycoplasmas, bacteria belonging to the class of Mollicutes, are known as the smallest and simplest self-replicating organisms. Since their discovery, considerable progress has been achieved in the understanding of their metabolic, antigenic, and genetic characteristics. The medical and economical impact of mycoplasmosis in animal production, especially in cattle and small ruminants, has been growing steadily over the past twenty years. The necessity to monitor Contagious Bovine Pleuropneumonia (CBPP), as well as other mycoplasmoses, in France has led to the creation of the epidemiological surveillance network VIGIMYC.

Key words : *Mollicutes*, bovine mycoplasmoses.

(1) Université de Lyon, Lyon, F-69003, France ; Université Lyon 1, Lyon, F-69003, France ; Unité Mixte de Recherche « Mycoplasmoses des ruminants-Pathologie du Bétail-ENV Lyon - 1, av. Bourgelat, 69280 Marcy-l'Étoile.

(2) Unité Mixte de Recherche « Mycoplasmoses des ruminants » - Unité Épidémiologie-AFSSA Lyon - 31, av. Tony Garnier, 69364 Lyon cedex 07.

(3) Unité Mixte de Recherche « Mycoplasmoses des ruminants » - Unité Mycoplasmes-AFSSA Lyon - 31, av. Tony Garnier, 69364 Lyon cedex 07.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La dénomination de « Mycoplasmes » est le terme générique utilisé pour désigner les bactéries appartenant à la Classe des *Mollicutes*. Les *Mollicutes* sont des bactéries sans paroi de très petite taille (0,15 à 0,8 µm) (Genre *Mycoplasma* et *Ureaplasma* < 0,45 µm) qui présentent des colonies de forme caractéristique dite en « œuf sur le plat ». Leur génome est de taille réduite, 580 à 1300 Kbps (600 à 1000 gènes), soit environ le quart du génome de la souche type d'*E. coli*.

Ils dérivent d'un ancêtre commun aux bactéries gram+ par évolution régressive, c'est-à-dire par perte de matériel génétique, notamment des gènes codant pour la synthèse de la paroi bactérienne. Ils sont donc naturellement insensibles aux antibiotiques dont le mode d'action repose sur l'inhibition de la biosynthèse de la paroi, comme les β-lactamines. La perte de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme rend les mycoplasmes plus exigeants sur le plan culturel. Leur croissance *in vitro* nécessite des milieux spécifiques complexes enrichis en sérum animal. Extra-cellulaires pour la plupart, certaines espèces, dont la liste ne cesse de s'accroître (*M. gallisepticum*, *M. penetrans*, *M. fermentans*, *M. genitalium*,...etc), peuvent présenter une phase intra-cellulaire temporaire. Ce sont des commensaux, des saprophytes ou parasites des animaux et des végétaux. Environ une centaine d'espèces ont été identifiées chez les poissons, les reptiles, les oiseaux et les mammifères. Ils sont également présents chez les insectes, et chez les végétaux où ils sont responsables de pathologies économiquement graves. Leur tropisme tissulaire est varié et leurs niches écologiques multiples; ils sont même présents dans la flore ruminale des bovins.

La classe des *Mollicutes* est divisée en quatre Ordres et cinq Familles (**tableau 1**). Récemment, certaines espèces des genres *Eperythrozoon* et *Haemobartonella* ont été 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* ».

En raison des difficultés techniques liées à leur isolement et à leur identification, l'importance des mycoplasmes en santé animale a été longtemps sous-estimée, hormis pour les grandes maladies historiques comme la Péri-Pneumonie Contagieuse Bovine (PPCB). Ces vingt dernières années, le développement de la biologie moléculaire a permis d'approfondir les connaissances de la biologie et du pouvoir pathogène de ces organismes minimum. Comment ces bactéries, apparemment simples, sont-elles capables de coloniser des tissus variés et de persister chez des hôtes immunologiquement complexes ?

Différentes stratégies, récemment identifiées, pourraient servir de base pour expliquer ce phénomène.

La variabilité antigénique (Citti 2006)

Les mycoplasmes possèdent la capacité de modifier rapidement leur configuration antigénique membranaire. C'est le phénomène de variabilité antigénique. Les Systèmes Antigéniques Membranaires Hypervariables (SAMH) impliqués dans ce phénomène sont des protéines ou des lipoprotéines fortement immunogènes, soumises à des variations de taille et d'expres-

Ordre	Famille	Genre	Nombre d'espèces	Hôtes
Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	<i>Mycoplasma</i> ^(a)	107 (10)	Animaux, Homme
		<i>Ureaplasma</i>	7	Animaux, Homme
Entomoplasmatales	Entomoplasmataceae	<i>Entomoplasma</i>	6	Insectes, Plantes
		<i>Mesoplasma</i>	12	Insectes, Plantes
	Spiroplasmataceae	<i>Spiroplasma</i>	34	Insectes, Plantes
Acholeplasmatales	Acholeplasmataceae	<i>Acholeplasma</i>	14	Animaux, Plantes
		« <i>Phytoplasma</i> » ^(b)	(6)	Insectes, Plantes
Anaeroplasmatales	Anaeroplasmataceae	<i>Anaeroplasma</i>	4	Bovins, Ovins
		<i>Asteroleplasma</i>	1	Bovins, Ovins

(a) Comprend les espèces hémotropes du genre *Mycoplasma* primitivement incluses dans les genres *Eperythrozoon* et *Haemobartonella* (*Mycoplasma haemocanis*, *M. haemofelis*, *M. haemomuris*, *M. ovis*, *M. suis*, *M. wenyonii*; « *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* », « *Candidatus Mycoplasma haemodidelphis* », « *Candidatus Mycoplasma haemolamae* », « *Candidatus Mycoplasma haemominutum* »).

(b) Genre de taxonomie incertaine car composé d'espèces non cultivables *in vitro*. Phylogénétiquement proches des *Acholeplasmas*, ils sont donc provisoirement classés dans la famille des *Acholeplasmataceae*.

(x) : Espèces hémotropes du genre *Mycoplasma* primitivement incluses dans les genres *Eperythrozoon* et *Haemobartonella*.

Tableau 1 : Ordres, Familles et Genres composant la Classe des *Mollicutes* (Johansson & Pettersson, 2002).

sion dont le déterminisme est lié à des réarrangements de l'ADN. Les variations d'expression se produisent à une fréquence très élevée (de l'ordre de 10^{-2} à 10^{-4} /cellule/génération). Les variations de taille et d'expression surviennent au sein de l'espèce mais également au cours des générations successives issues d'une même cellule, c'est une variabilité intra-clonale.

Différents SAMH ont été identifiés dans de nombreuses espèces de mycoplasmes. Citons la famille des Vsps (Variable surface proteins) de *M. bovis* qui sont des lipoprotéines ; les Vpma de *M. agalactiae* ; les Vlp de *M. hyorhinis* ; la Vmm de *M. mycoides* subsp. *mycoides* biotype Small Colony (MmmSC) ; etc...

Bien que le génome des mycoplasmes soit de taille réduite, les gènes codant ces SAMH y occupent une grande place. Ces systèmes doivent donc avoir une importance réelle, probablement dans la survie et le pouvoir pathogène du germe. Pour *M. bovis*, des études *in vitro* ont permis de montrer d'une part leur implication dans l'adhésion tissulaire et d'autre part l'induction d'une variation phénotypique en présence d'anticorps anti-Vsps. Ce mécanisme d'échappement à la réponse immunitaire de l'hôte pourrait être un moyen permettant au germe de persister dans l'organisme.

La formation de biofilm (Citti 2006)

Dans leur environnement naturel, les bactéries peuvent proliférer selon un mode planctonique (cellules individuelles) ou sous la forme d'une communauté enchâssée dans un polymère pouvant adhérer à diverses surfaces : le biofilm. Ce mode de développement contribue à accroître la résistance des bactéries dans leur environnement (résistance à de nombreuses forces physiques (circulation sanguine, action de lavage de la salive,...), à des conditions physiologiques difficiles (privation de nutriments, changements de pH, résistance aux désinfectants) mais il est également impliqué dans les infections chroniques et la résistance aux antibiotiques. On sait depuis peu que certaines espèces de mycoplasmes (dont *M. bovis*, *M. agalactiae*, *M. putrefaciens*, *M. cottewii*, *M. yeatsii* et certaines souches de MmmSC) sont capables de former des biofilms sur des surfaces inertes (McAuliffe *et al.* 2006 ; McAuliffe *et al.* 2008). Bien que non démontré *in vivo*, ce mode de prolifération pourrait expliquer en partie la persistance de ces infections chez l'hôte et le manque de constance dans l'efficacité des traitements antibiotiques (Citti 2006).

Le transfert de matériel génétique intra ou inter-espèces (Citti 2006)

Ce phénomène important, bien connu en bactériologie classique, peut être à l'origine de l'émergence de nouvelles souches plus pathogènes, d'un changement de spectre d'hôte ou encore de l'acquisition de résistance à des antibiotiques. Jusqu'à présent, il semblait peu présent chez les mycoplasmes mais de récentes données semblent prouver le contraire. En effet, l'analyse récente du génome de *M. agalactiae* montre que 1/5^{ème} des gènes de cette espèce proviendrait de mycoplasmes du groupe « *mycoides* », groupe phylogénétiquement distant du groupe

« *hominis* » auquel appartient *M. agalactiae*. Il ne s'agit donc pas d'un héritage direct (vertical). Par contre, on sait que *M. agalactiae* peut partager la même niche écologique (notamment le conduit auditif externe des caprins) que certaines espèces du groupe « *mycoides* » favorisant ainsi une promiscuité d'espèces.

Est également décrite, chez certaines souches de *M. agalactiae*, l'existence d'un élément génétique transférable que l'on peut retrouver chez *M. bovis*. Des ICE (integrative conjugative elements) voisines ont été identifiées chez différentes espèces de mycoplasmes partageant le même site anatomique. Ces transferts de gènes pourraient avoir de nombreuses conséquences comme l'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 des épitopes théoriquement spécifiques.

LES MYCOPLASMOSES BOVINES

Environ une quarantaine d'espèces de mycoplasmes, d'importance médicale et économique très différentes, ont été isolées chez les ruminants. Il s'agit soit :

- d'espèces isolées exceptionnellement pour lesquelles, faute de données, on cerne mal le degré de pathogénicité dans l'espèce bovine, par exemple *M. canadense*, *M. alkalescens* ;
- d'espèces fréquemment isolées mais qui n'ont jamais montré expérimentalement un quelconque pouvoir pathogène. Elles sont commensales (*M. bovirhinis*, *Acholeplasma laidlawi*) ou contaminants secondaires s'installant en phase terminale du processus infectieux (*M. arginini*) ;
- d'espèces fréquemment isolées qui présentent un certain pouvoir pathogène expérimental mais dont on ne cerne pas l'impact réel lors d'infection naturelle : principalement *M. dispar* (respiratoire), *Ureaplasma diversum* (respiratoire et génital). Dans cette catégorie pourrait se classer *M. canis* (Poumarat *et al.* 2006) ;
- d'espèces isolées sporadiquement ou restreintes à certaines zones géographiques, ayant un pouvoir pathogène naturel marqué : *M. species* bovine serogroup 7.
- d'espèces au pouvoir pathogène dûment démontré expérimentalement, qui sont à l'origine de pertes économiques importantes en élevage : *M. mycoides* subsp. *mycoides* biotype Small Colony (agent de la PPCB), *M. bovis*.

Mycoplasmoses dues à *Mycoplasma bovis*

M. bovis intervient dans deux pathologies économiquement majeures chez les bovins : les mammites, particulièrement fréquentes aux États-Unis, et les bronchopneumonies infectieuses enzootiques des veaux et des jeunes bovins (6 à 18 mois d'âge) (Pfützner & Sachse, 1996). Chez ces derniers, la présence de *M. bovis* se manifeste le plus souvent par un syndrome pneu-

monie-arthrite avec des polyarthrites invalidantes. *M. bovis* est aussi fréquemment incriminé dans des otites en Amérique du Nord, au Canada et au Japon (Francoz *et al.* 2004; Lamm *et al.* 2004). En revanche, son pouvoir pathogène réel sur l'appareil génital reste encore difficile à évaluer lors d'infections naturelles, bien que des métrites, des salpingites et des avortements aient pu être reproduits expérimentalement (Nicholas & Ayling, 2003).

La maîtrise sanitaire des mycoplasmoses à *M. bovis* passe obligatoirement par une connaissance approfondie de l'épidémiologie descriptive et analytique de cette infection. C'est à ce titre que notre unité de recherche développe depuis plusieurs années des investigations sur le terrain, afin d'obtenir des données épidémiologiques spécifiques aux différentes filières de l'élevage bovin.

Séroprévalence de l'infection par *M. bovis* dans le cheptel allaitant français

Le **tableau 2** rapporte la synthèse des enquêtes réalisées en France sur la séroprévalence de *M. bovis* dans le cheptel bovin allaitant (Poumarat *et al.* 1986; Poumarat & Perrin 1991; Le Grand *et al.* 2002). Ces différentes enquêtes font ressortir un schéma épidémiologique particulier : peu d'animaux séropositifs mais ils sont répartis dans de nombreux troupeaux (**tableau 2**).

Ce schéma particulier a également été observé en Suisse (République et Canton du Jura) en élevage laitier (Burnens *et al.* 1999). Les taux d'infection des animaux étaient de 6 % (n = 1816) pour la Suisse et de 13 % pour le Canton du Jura. Les taux de troupeaux infectés étaient respectivement de 47 % (n = 118) et 78 % (n = 51).

Épidémiologie de l'infection par *M. bovis* dans le cheptel laitier français

Séroprévalence

Le **tableau 2** rapporte la synthèse des investigations réalisées en France sur la séroprévalence de *M. bovis* dans la filière lait (adultes et veaux non sevrés) (Poumarat *et al.* 1986; Poumarat & Perrin 1991; Arcangioli *et al.* 2007).

À l'entrée en lots d'engraissement, peu de veaux issus d'élevages laitiers possèdent des anticorps anti-*M. bovis* (**tableau 2**). Ces anticorps étant d'origine colostrale, cela laisse supposer un taux d'infection faible des mères, ce que tendent à confirmer les différentes enquêtes réalisées à partir de sérums (**tableau 2**-taux d'infection des adultes = 6 %) et de laits de tank (voir ci-dessous).

	1) Séroprévalence de <i>M. bovis</i> en France dans le cheptel bovin allaitant			2) Séroprévalence de <i>M. bovis</i> en France dans le cheptel bovin laitier		
	1985-1987	1988-1990	1997-1998 Enquête statistiquement représentative	1985-1987	1988-1990	2003
	Jeunes bovins de boucherie (12-24 mois)	Vaches Allaitantes (étude dans 10 départements)	Cheptel allaitant (animaux > 1 an) (étude dans 8 départements)	Veaux de boucherie	Vaches Laitières	Veaux de boucherie
Nombre de troupeaux testés	-	110	824	18	90	9
Nombre d'animaux testés	583	4300	32.197	209	3300	135
Taux d'infection des animaux	7 % (10 %)*	6 % (9 %)*	2 à 13 %***	4 % ^(a)	6 % (10 %)*	2 % ^(a)
Taux de troupeaux infectés	-	35 % (50 %)**	28 à 90 %***	-	25 % (44 %)**	-
	Technique HAP		ELISA	Technique HAP		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			(a) À la mise en lot		

Tableau 2 : Synthèse des enquêtes réalisées en France sur la séroprévalence de *M. bovis* 1) dans le cheptel bovin allaitant (Poumarat *et al.* 1986; Poumarat & Perrin 1991; Le Grand *et al.* 2002) et 2) dans le cheptel bovin laitier (Poumarat *et al.* 1986; Poumarat & Perrin 1991; Arcangioli *et al.* 2007).

Prévalence de M. bovis dans les laits de tank (Poumarat et al. 2006)

Compte tenu des modalités de prophylaxie actuelles en élevage laitier et en l'absence d'une hypothèse de prévalence pour le cheptel national laitier, il nous a été impossible de réaliser, sur l'ensemble du territoire, une enquête sérologique statistiquement représentative, à l'image de ce qui a été fait en élevage de bovins allaitants. Cependant, une pré-enquête a été conduite dans les régions Rhône-Alpes et Auvergne en recherchant *M. bovis* dans les laits de tank par culture et PCR (Kit LSI, Laboratoire Service International). Parallèlement, nous avons recherché, par culture, trois autres mycoplasmes potentiellement pathogènes pour la mamelle : *M. canadense*, *M. bovis genitalium* et *M. alkaliscens*. Cette enquête a été organisée en collaboration avec la coopérative laitière ORLAC (Organisation Régionale Laitière Agricole et Coopérative-Vienne) dans une population de 1522 troupeaux laitiers (de 25 animaux en moyenne), répartis sur six départements. Nous avons déterminé un échantillon aléatoire simple de 275 troupeaux à tester à partir de l'hypothèse d'une prévalence d'infection des laits de tank de 2 %, établie sur les seules données disponibles provenant d'études réalisées aux Etats Unis (Drost et al. 1996; Kirk et al. 1997). Cet échantillon a été majoré à 345 troupeaux pour compenser les éventuels prélèvements impossibles à analyser en raison d'une contamination bactérienne et/ou fongique trop importante. Enfin, il a été vérifié statistiquement que la répartition géographique de l'échantillon retenu correspondait effectivement à la répartition géographique des élevages affiliés à la coopérative. Aucun mycoplasme n'ayant été isolé et/ou caractérisé par PCR, on peut affirmer que dans cette population de troupeaux laitiers, la prévalence de l'infection par *M. bovis* est nulle ou très faible, inférieure à 1 % (intervalle de confiance à 95 %).

Des résultats comparables ont été obtenus récemment en Pays de la Loire dans un échantillon de 101 élevages (Lemarchand et al. 2005). Par PCR, *M. bovis* n'a été détecté dans aucun des laits, indiquant une prévalence inférieure à 2,9 % (borne supérieure de l'intervalle de confiance).

Prévalence de M. bovis en pathologie mammaire

Compte tenu du niveau d'infection du cheptel laitier, observé au travers des enquêtes décrites ci-dessus, il est probable que les mammites cliniques dues à *M. bovis* ne sont que sporadiques. Elles existent cependant car, entre 1983 et 2005, une dizaine de foyers ont été identifiés dans huit départements (données VIGIMYC) (Poumarat et al. 2006). L'importance des troupeaux et surtout, le type de conduite de l'élevage, dans le cas des très grands troupeaux, seraient les principaux facteurs favorisant la contamination. Aux États-Unis, la fréquence de contamination des laits de tank est multipliée par 5 dans les troupeaux de plus de 350 animaux et par 11 dans ceux de plus de 700 (Thomas & Jasper, 1982). La rareté des troupeaux d'une telle taille en France pourrait expliquer les différences observées avec les données américaines.

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

Pathogène initiateur et/ou en association, *M. bovis* est un agent infectieux majeur à prendre en considération dans l'étiologie des broncho-pneumonies infectieuses enzootiques des jeunes bovins.

Enquête en région Rhône-Alpes de 1988 (Poumarat et al. 1988)

Un suivi clinique et sérologique a été réalisé dans 12 élevages de jeunes bovins sevrés et dans 27, de veaux non sevrés. Dès l'apparition de troubles respiratoires dans un troupeau, des prises de sang ont été effectuées chez une dizaine d'animaux malades, renouvelées 15 à 20 jours plus tard. L'intervention de *M. bovis* a été démontrée dans un quart à un tiers de ces élevages, selon qu'il s'agissait d'animaux sevrés ou non sevrés.

Enquête de 2003 concernant des veaux non sevrés de race laitière (Arcangioli et al. 2007)

Neuf bandes, d'une centaine de veaux en moyenne, ont été suivies pendant un à deux mois à compter du jour de l'allotement. Dès l'apparition d'une pathologie respiratoire sur l'ensemble de la bande, quinze animaux par lot ont subi un lavage broncho-alvéolaire (LBA). Également, chez 15 animaux, nous avons réalisé des prises de sang le jour de l'allotement, dès l'apparition des signes cliniques dans la bande et au moins 30 jours après l'épisode pathologique afin de mettre en évidence une séroconversion. *M. bovis* a été isolé à partir des LBA chez au moins 10 des 15 animaux testés, dans huit des neuf bandes. Dans ces huit bandes, 60 % à 100 % des animaux suivis en sérologie montrent une séroconversion vis-à-vis de *M. bovis* dans les semaines suivant l'épisode respiratoire. En revanche, *M. bovis* n'a pas été isolé, ni aucune séroconversion n'a été observée, chez les animaux testés de la neuvième bande.

Cette étude démontre que *M. bovis* peut intervenir massivement, fréquemment et précocement lors de pathologie respiratoire chez les veaux allotés. La faible séroprévalence de 2 à 4 %, observée chez les veaux de boucherie au moment de la mise en lot, (**tableau 2**), comparée aux taux de séroconversion élevés constatés après un épisode respiratoire, démontre que l'infection diffuse très rapidement à partir de quelques individus porteurs. Une étude suisse démontre qu'effectivement la présence d'au moins un animal séropositif au moment de la mise en lot est considérée comme un facteur de risque significativement associé à un taux élevé de séroconversions au sein du lot (Tschopp et al. 2001).

Si la connaissance de *M. bovis* et de sa biologie ont nettement progressé ces dernières années, il n'en demeure pas moins que la gestion médicale et sanitaire des foyers de mycoplasmoses à *M. bovis* reste problématique. Le traitement est souvent décevant, malgré la mise sur le marché de nouvelles molécules et aucun vaccin n'est disponible. Cependant, des mesures de contrôle reposant sur de la prophylaxie sanitaire sont théoriquement envisageables, compte tenu de la simplicité des modalités de transmission de cette affection. Mais des mesures spé-

cifiquement adaptées et raisonnées ne pourront être envisagées que lorsque l'on disposera d'une connaissance approfondie de l'épidémiologie descriptive et analytique de cette affection. Parallèlement, l'épidémiologie-surveillance des autres mycoplasmoses ne doit pas être négligée et ce, pour des raisons sanitaires, économiques et réglementaires (en particulier la PPCB). A ce titre, on verra que le réseau VIGIMYC constitue un outil d'action indispensable.

La Péri-Pneumonie Contagieuse Bovine (PPCB) (Poumarat *et al.* 2004) :

La PPCB, due à *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype Small Colony, est une maladie à déclaration obligatoire. C'est la seule affection bactérienne inscrite sur l'ancienne liste A de l'Office International des Epizooties. Après avoir été une panzootie mondiale au 19^{ème} siècle, la PPCB sévit aujourd'hui encore sporadiquement en Asie mais également en Afrique où elle est en extension. Sur ce continent, elle arrive en tête des pathologies économiquement majeures pour l'élevage bovin. Après son éradication en Europe au début du XX^{ème} siècle, à l'exception de zones très limitées ou de foyers sporadiques, elle est réapparue en France et dans le sud de l'Europe entre 1980 et 1999 (plusieurs centaines de foyers décrits). Dans le contexte européen, moins que la morbidité et la mortalité qu'elle engendre, la PPCB représente un risque important par les restrictions sur la circulation des bovins qu'elle implique sa déclaration (Article 2163-Code Zoosanitaire International). Actuellement, on n'a pas assez de recul pour affirmer qu'elle est totalement éradiquée en Europe, d'autant plus que la PPCB européenne contemporaine semble moins virulente et moins immunogène que celle observée en Afrique. Différentes études d'épidémiologie moléculaire convergent pour démontrer que les souches européennes contemporaines de *MmmSC* dérivent directement des souches européennes historiques mais qu'elles présentent également une délétion d'une partie importante du génome. La PPCB européenne sous sa forme récente serait donc une résurgence d'une forme de PPCB endémique en Europe et non une importation d'Afrique.

La PPCB affecte les bovins, les zébus, les buffles, les yacks, les bisons et les élans. Les ovins et caprins peuvent constituer un réservoir occasionnel. C'est une pneumopathie grave des bovins dont la clinique est non évocatrice. Les lésions sont cependant caractéristiques, surtout pour la forme africaine. Il s'agit d'une inflammation exsudative du poumon et de la plèvre. L'atteinte est dissymétrique, touchant préférentiellement les lobes postérieurs. À la coupe, on observe un aspect très hétérogène des lésions d'hépatisation avec hypertrophie des espaces interlobulaires. L'évolution est assez lente pour que l'on retrouve tous les stades de l'inflammation, et même plusieurs phases, sur un seul lobule. Des séquestres sont présents en phase chronique.

Uréaplasmoses (Le Grand *et al.* 1995)

Le Genre *Ureaplasma*, anciennement dénommé T-Mycoplasmes (T = tiny) en raison de la petite taille des colonies, se distingue

principalement du Genre *Mycoplasma* par la production d'uréase et l'utilisation de l'urée comme facteur de croissance. Le Genre *Ureaplasma* a été isolé chez de nombreuses espèces animales : bovins, ovins, caprins, chiens, chats, primates, oiseaux. Il a été le plus étudié chez l'Homme et, à un moindre degré, chez les bovins, ce qui a permis la distinction de deux espèces : *Ureaplasma urealyticum* chez l'Homme et *Ureaplasma diversum* chez les bovins.

Incriminé en pathologie oculaire (kératites et/ou conjonctivites) et respiratoire (broncho-pneumonies chez le veau), *U. diversum* affecte surtout l'appareil génital femelle provoquant des lésions de salpingite, d'endométrite, de vulvo-vaginite granuleuse, avec un retentissement sur la fertilité des animaux. Les lésions de vulvo-vaginite granuleuse évoquent les lésions vaginales décrites après la guérison complète de l'exanthème coïtal provoqué par le virus de la Rhino-trachéite Infectieuse Bovine. Ces manifestations cliniques ont été reproduites expérimentalement.

Chez le mâle, la symptomatologie est généralement inexistante et la fertilité ne semble pas affectée.

Des travaux menés en 1992 à l'AFSSA de Lyon ont permis de mettre au point des méthodes d'isolement et d'identification sérologique (par technique immunoenzymatique) (Le Grand *et al.* 1995). Suite à ces travaux préliminaires, une enquête a été réalisée chez 565 vaches laitières (écouvillonnages vulvaires) et 50 taureaux (sur sperme non traité aux antibiotiques), dans le but d'étudier la fréquence et les conséquences pathologiques et zootechniques de cette infection. Le taux d'infection par *U. diversum* était de 40 % chez la femelle et de 74 % chez le mâle. Chez les femelles, nous n'avons pas établi de relation significative entre la présence du germe et les lésions de vulvite granuleuse d'une part, et entre la présence du germe et les performances de reproduction d'autre part.

Organisation du diagnostic et épidémiologie des mycoplasmoses bovines en France

Le diagnostic bactériologique repose sur l'isolement du mycoplasme qui doit être impérativement suivi d'une identification, compte tenu 1) de l'existence d'espèces pathogènes et non pathogènes et 2) de l'impossibilité d'identifier l'espèce isolée sur de simples caractères macroscopiques. L'isolement est pratiqué dans de nombreux laboratoires vétérinaires départementaux mais l'identification est centralisée à l'AFSSA Site de Lyon. Cette centralisation a donné lieu à la création du réseau VIGIMYC (Dernburg *et al.* 2004 ; Poumarat *et al.* 2006).

Au-delà de la surveillance d'une éventuelle résurgence de la PPCB en France, ce réseau a pour objectif l'épidémiologie-surveillance des espèces de mycoplasmes isolées chez les bovins et les petits ruminants, et de détecter l'émergence de nouvelles espèces sur le territoire. Il constitue également un important support pour la recherche au travers des informations épidémiologiques qu'il fournit et de la collection de souches qu'il entretient.

Le diagnostic bactériologique de la PPCB repose sur l'isolement du mycoplasme et sur son identification, par méthode immunoenzymatique à l'aide d'anticorps monoclonaux, associée à une amplification génique (PCR) strictement spécifique du biotype Small Colony.

Pour le diagnostic bactériologique de *M. bovis*, des trousse PCR commencent à être commercialisées (L.S.I., Lissieu, France). Dans le cadre d'un dépistage, la sensibilité de la technique PCR appliquée directement sur les prélèvements, sans enrichissement préalable, reste cependant à évaluer. Le caractère restrictif de la méthode, à savoir la détection uniquement de *M. bovis*, ne permet pas de diagnostiquer les autres mycoplasmes bovins potentiellement présents et risque, de ce fait, de constituer un biais dans l'épidémiologie-surveillance des mycoplasmoses.

En France, l'isolement et l'identification d'*U. diversum* n'est pas réalisé en routine dans les laboratoires de diagnostic.

Pour le diagnostic sérologique et le dépistage de la PPCB, la fixation du complément, méthode de référence jusqu'à aujourd'hui, a été abandonnée au profit de la méthode ELISA avec confirmation des positifs par la technique d'immunoblotting.

Le diagnostic sérologique de *M. bovis* repose sur des tests ELISA mais n'est pas pratiqué par tous les laboratoires. Outre le problème de la pérennité commerciale des trousse, se pose également la question de la représentativité de leur antigène (cf. phénomène de variabilité antigénique). Actuellement, deux trousse sont disponibles en France pour le diagnostic sérologique de *M. bovis* (Mast Diagnostica et Bio-X Diagnostics).

CONCLUSION

Les mycoplasmoses bovines sont des pathologies à prendre en compte tant sur le plan sanitaire et réglementaire, que sur le plan économique et médical. Leur maîtrise passe par une connaissance approfondie de leur épidémiologie et le développement d'outils de diagnostic fiables. Le développement de vaccins reste, pour certaines espèces comme *M. bovis*, un challenge.

Une vigilance épidémiologique doit être maintenue sur l'ensemble du territoire tant pour la surveillance de la PPCB que pour l'émergence de nouvelles espèces dans la population bovine et petits-ruminants.

BIBLIOGRAPHIE

- Arcangioli, M.-A., Duet, A., Meyer, G., Dernburg, A., Bézille, P., Poumarat, F., Le Grand, D. 2007. Mycoplasma bovis in Bovine Respiratory Disease Outbreaks In Veal Calf Feedlots. Vet J. 2007 May 8 (in press).
- Burnens, A.P., Bonnemain, P., Bruderer, U., Schalch, L., Audige, E L., Le Grand, D., Poumarat, F., Nicolet, J. 1999. Étude sur la séroprévalence de Mycoplasma bovis chez la vache laitière en Suisse, en particulier dans la République et Canton du Jura. Schweiz Arch Tierheilk. 141: 455 – 460.
- Citti, C. 2006. Les mycoplasmes: stratégies d'adaptation et de persistance de bactéries minimales. Le Nouveau Praticien Vétérinaire - Élevages et santé N° 3: 15 – 21.
- Dernburg, A., Le Grand, D., Arcangioli, M. A., Poumarat, F. 2004. Le réseau de surveillance des mycoplasmoses est formalisé. Point Vét. N° 246: 12 – 13.
- Drost, J., Timms, L.L., Rosenbusch, R.F. 1996. Detection of Mycoplasma bovis mastitis in Iowa dairy herds. In Dairy Report – Iowa State University, DSL-104: 87 – 88.
- Francoz, D., Fecteau, G., Desrochers, A., Fortin, M. 2004. Otitis media in dairy calves: a retrospective study of 15 cases (1987 to 2002). Can Vet J. 45 (8): 661 – 666.
- Johansson, K.E. & Pettersson, B. 2002. Taxonomy of Mollicutes. In: Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas (ed. S. Razin et R. Herrmann), pp. 1-29, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Kirk, J.H., Glenn, K., Ruiz, L., Smith, E. 1997. Epidemiologic analysis of Mycoplasma spp isolated from bulk-tank milk samples obtained from dairy herds that were members of a milk cooperative. JAVMA 211 (8): 1036 – 1038.
- Lamm, C.G., Munson, L., Thurmond, M.C. et al. 2004. Mycoplasma otitis in California calves. J Vet Diagn Invest 16: 397 – 402.
- Le Grand, D., Poumarat, F., Martel, J.-L. 1995. Infection génitale à Ureaplasma diversum: enquête chez les bovins en France. Vet Res. 26: 11 – 20.
- Le Grand, D., Calavas, D., Brank, M., Citti, C., Rosengarten, R., Bézille, P., Poumarat, F. 2002. Serological prevalence of Mycoplasma bovis infection in suckling beef cattle in France. Vet Rec. 150: 268 – 273.
- Lemarchand, F., Amédeo, J., Sellal, E., Poutrel, B. 2005. Recherche de Mycoplasma bovis par technique P.C.R. sur lait de tank en Pays de Loire. Bulletin des GTV 32: 121 – 125.
- McAuliffe, L., Ellis, R. J., Miles, K., Ayling, R. D., Nicholas, R. A. 2006. Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. Microbiology 152: 913 – 22.

- McAuliffe, L., Ayling, R. D., Ellis, R. J., Nicholas, R. A. 2007. Biofilm-grown *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* MmmSC exhibit both phenotypic and genotypic variation compared with planktonic cells. *Vet Microbiol.* 2007 dec 4 (in press) <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.vetmic.2007.11.024>.
- Nicholas, R.A. & Ayling, R.D. 2003. *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Res Vet Sci.* 74: 105 – 112.
- Pfützner, H. & Sachse, K. 1996. *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 15 (4): 1477 – 1494.
- Poumarat, F, Perrin, M., Martel, J.-L. 1986. Épidémiologie de l'infection à *Mycoplasma bovis* en France. *Rec Méd Vét.* 162: 1181 – 1187.
- Poumarat, F, Perrin, M., Gauthier, N., Lepage, D., Martel, J.-L. 1988. Pathologie respiratoire des veaux de nurserie et des taurillons. Prévalence de *Mycoplasma bovis* parmi les différentes étiologies infectieuses au travers d'enquêtes réalisées en région Rhône-Alpes. *Rec Méd Vét.* 164: 625 – 632.
- Poumarat, F. & Perrin, M. 1991. Mycoplasmoses bovines. *Bull Soc Vét Prat France* 75: 17 – 37.
- Poumarat, F, Dernburg, A., Le Grand, D., Arcangioli, M.-A., Calavas, D. 2004. La Péripleurite Contagieuse Bovine, une maladie à ne pas oublier!. *Bulletin des GTV* 26: 17 – 22.
- Poumarat, F, Le Grand, D., Mercier, P., Tardy, F, Gaurivaud, P., Calavas, D. 2006. VIGIMYC, le réseau français d'épidémiologie des mycoplasmoses des ruminants, bilan 2003-2005. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire - Élevages et santé* N° 3: 22 – 26.
- Poumarat, F, Arcangioli, M.-A., Le Grand, D., Chazel, M., Sellal, E., Duet, A., Bézille, P., Calavas, D. 2006. Prévalence des infections à *Mycoplasma bovis* en France dans la filière laitière. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire - Élevages et santé* N° 3: 32 – 36.
- Thomas, C.B. & Jasper, D.E. 1982. *Mycoplasma mastitis* and the herd size factor. *Calif Vet.* 34: 15 – 16.
- Tschopp, R., Bonnemain, P., Nicolet, J., Burnens, A. 2001. Epidemiologische Studie der Risikofaktoren für *Mycoplasma bovis*-Infektionen bei Mastkälbern. *Schweiz Arch Tierheilk.* 143: 461 – 467.