

LES MYCOPLASMOSES PORCINES

SWINE MYCOPLASMOSES

Par Marylène KOBISCH⁽¹⁾ et Corinne MAROIS⁽¹⁾
(communication présentée le 6 mars 2008)

RÉSUMÉ

Les mycoplasmes pathogènes du porc ont un impact important sur la production porcine. La pneumonie induite par *Mycoplasma hyopneumoniae*, seul ou associé à d'autres agents infectieux, est une préoccupation majeure dans le monde entier. La culture et l'isolement de *M. hyopneumoniae* sont difficiles et souvent infructueux. Les techniques d'amplification génique (PCR) et les analyses sérologiques fournissent des résultats fort utiles. Une variabilité génique et une différence de virulence entre les isolats ont été démontrées. Les vaccins se montrent efficaces pour réduire les symptômes et les lésions pulmonaires, mais n'empêchent pas la multiplication du mycoplasme chez le porc.

Les polysérites et les arthrites induites par *M. hyorhinis* et par *M. hyosynoviae* touchent généralement les porcs en croissance. Les autres espèces de mycoplasmes sont réputées non pathogènes pour le porc.

Mots-clés : mycoplasmes, porc, pneumonie, polysérites, traitement, prévention.

SUMMARY

Mycoplasma diseases have a considerable impact on pig production. Pneumonia caused by *Mycoplasma hyopneumoniae*, whether alone or in combination with other pathogens, is a major concern worldwide. Culture and isolation of *M. hyopneumoniae* are difficult and often unsuccessful. However, gene amplification techniques (PCR) and serological analyses produce very interesting results. Antigenic diversity and differences in virulence between isolates have been demonstrated. Vaccines are effective to reduce symptoms and lung lesions, but they do not prevent the multiplication of *M. hyopneumoniae* in pigs.

M. hyorhinis and *M. hyosynoviae* cause polyserositis and arthritis, generally in growing animals. The other species of *Mycoplasma* appear to be non-pathogenic in swine.

Key words : mycoplasma, swine, pneumonia, polyserositis, treatment, prevention.

(1) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments-LERAPP-Unité Mycoplasmologie Bactériologie- Zoopôle Les Croix-BP 53-22440 Ploufragan.

INTRODUCTION

Les mycoplasmes sont à l'origine de pathologies graves qui affectent les porcs de tous les pays impliqués dans la production porcine industrielle. De par les pertes économiques qu'elles entraînent, les mycoplasmoses constituent l'une des préoccupations majeures des producteurs de porcs. Plusieurs espèces du genre *Mycoplasma* et du genre *Acholeplasma* ont été décrites chez le porc. *Mycoplasma hyopneumoniae*, l'agent étiologique de la pneumonie enzootique, est le pathogène primaire du Complexe Respiratoire Porcin : il est fréquemment associé à d'autres espèces mycoplasmiques, à des bactéries vraies (*Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*) ou à des virus (ceux des gripes porcines, du syndrome dysgénésique respiratoire ou SDRP, de la maladie de l'amaigrissement du porcelet), dont il peut exacerber le pouvoir pathogène. Il est en effet admis que des membres de la classe des Mollicutes (*Mycoplasma* et *Ureaplasma*) peuvent jouer un rôle primaire déterminant dans les infections virales (Thacker *et al.* 1999 ; Thacker 2006).

Mycoplasma hyorhinis et *Mycoplasma hyosynoviae*, présents dans l'appareil respiratoire du porc, sont respectivement responsables de polysérites et de polyarthrites. *Mycoplasma flocculare*, *Mycoplasma hyopharyngis* et certains *Acholeplasma* sont isolés de l'appareil respiratoire, mais leur pouvoir pathogène n'est pas établi. *Mycoplasma suis* est à l'origine d'anémie chez le porc.

LA PNEUMONIE DU PORC À *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE*

Étiologie

Isolé pour la première fois en 1965 au Royaume Uni et aux USA (souche J, souche de référence), en 1975 en France (Kobisch & Tillon 1976), *M. hyopneumoniae* est considéré comme l'une des espèces les plus difficiles à isoler, à cultiver et à identifier. Les cellules de *M. hyopneumoniae* sont de forme ronde ou ovale, d'un diamètre moyen de 200 à 500 nm, limitées par une membrane plasmique de 10 nm d'épaisseur. Une « capsule » a été décrite par Tajima *et al.* (1985). *M. hyopneumoniae* forme de minuscules colonies de 0,5 mm de diamètre, dépourvues de protubérance centrale, contrairement à la plupart des autres Mollicutes. Il est dépendant du cholestérol et utilise le glucose comme source d'énergie. Les milieux de culture décrits par Friis sont les plus utilisés (Friis 1975). Sept à 30 jours sont nécessaires, sous une atmosphère enrichie en CO₂ (5-10 p. cent), à 37 °C, pour un isolement primaire. L'association de *M. hyopneumoniae*, dans les voies respiratoires du porc, à d'autres bactéries ou à d'autres espèces mycoplasmiques (en particulier *Mycoplasma hyorhinis*) dont la multiplication est rapide, rend son isolement difficile. À l'heure actuelle, l'identification de *M. hyopneumoniae* est effectuée par amplification génique (PCR).

Le génome de deux souches pathogènes de *M. hyopneumoniae* et celui d'une souche de référence (souche J, réputée dénuée de pouvoir pathogène après de nombreux passages *in vitro*) ont été

séquencés (Minion *et al.* 2004 ; Vasconcelos *et al.* 2005). Ils se composent de 892 à 921 kpb, avec un G+C de 28,6 p. cent et ne possèdent qu'un seul opéron ribosomique. Comme la plupart des Mollicutes, *M. hyopneumoniae* utilise le triplet UGA (uracile-guanine-adénosine) comme codon tryptophane (Razin *et al.* 1998). Le séquençage des trois génomes a également montré d'importants réarrangements génétiques dans cette espèce et peu d'éléments répétés en tandem impliqués dans la variabilité antigénique.

Épidémiologie

M. hyopneumoniae est essentiellement transmis par contact direct d'un animal à l'autre. La truie infectée contamine ses porcelets qui, généralement protégés par l'immunité d'origine maternelle ou par la vaccination, expriment la maladie plus tardivement. Le contact avec des congénères infectés provenant d'autres élevages est un paramètre permettant l'expression clinique et lésionnelle de l'infection par *M. hyopneumoniae*. Les aérosols peuvent également jouer un rôle dans la transmission de l'infection au sein d'un même élevage ou d'un élevage à l'autre. Le porc reste sensible à l'infection quel que soit l'âge (Thacker 2006). Des paramètres, comme les conditions d'élevage (les bâtiments, la ventilation, la densité des animaux, etc.), les conditions climatiques, l'état sanitaire des animaux et le type de management influent sur la transmission et la dynamique de l'infection. Différentes techniques d'élevage, dont le sevrage précoce (médicamenteux ou non), et l'élevage multicentrique, ont été mises en place mais les résultats ne sont pas satisfaisants. En effet, elles ne permettent pas d'éliminer *M. hyopneumoniae* dont la présence chez l'animal favorise la colonisation de l'appareil respiratoire par d'autres agents pathogènes. Les lésions pulmonaires observées à la fin de la phase d'engraissement sont alors sévères (pneumonie compliquée, pleurésie, pleuropneumonie, péricardite). Les pertes économiques sont considérables, consécutives à la régression des performances zootechniques des animaux (réduction du gain moyen quotidien, augmentation de l'indice de consommation), à l'augmentation du taux de mortalité et des frais vétérinaires.

Pathogénie

Les mécanismes complexes, mis en jeu dans les relations entre *M. hyopneumoniae* et les cellules hôtes, ne sont pas encore totalement connus. Des études expérimentales, effectuées *in vitro* et *in vivo*, montrent la colonisation de l'épithélium respiratoire par *M. hyopneumoniae* qui adhère aux cellules épithéliales ciliées. Une ciliostase est observée après quelques heures de contact, suivie de la disparition progressive des cils et d'une intense production de mucus. Une exfoliation épithéliale est ensuite constatée (**figure 1**). L'absence de surinfection, par des bactéries vraies ou par des virus, permet la reconstitution de l'épithélium respiratoire en quelques semaines.

Le rôle de la capsule et de fibrilles, à la surface de *M. hyopneumoniae*, ainsi que celui de carbohydrates et de protéines membranaires, dont la protéine P97 (97 kDa), ont été montrés (Tajima & Yagihashi 1982 ; Tajima *et al.* 1985 ; Djordjevic *et al.*

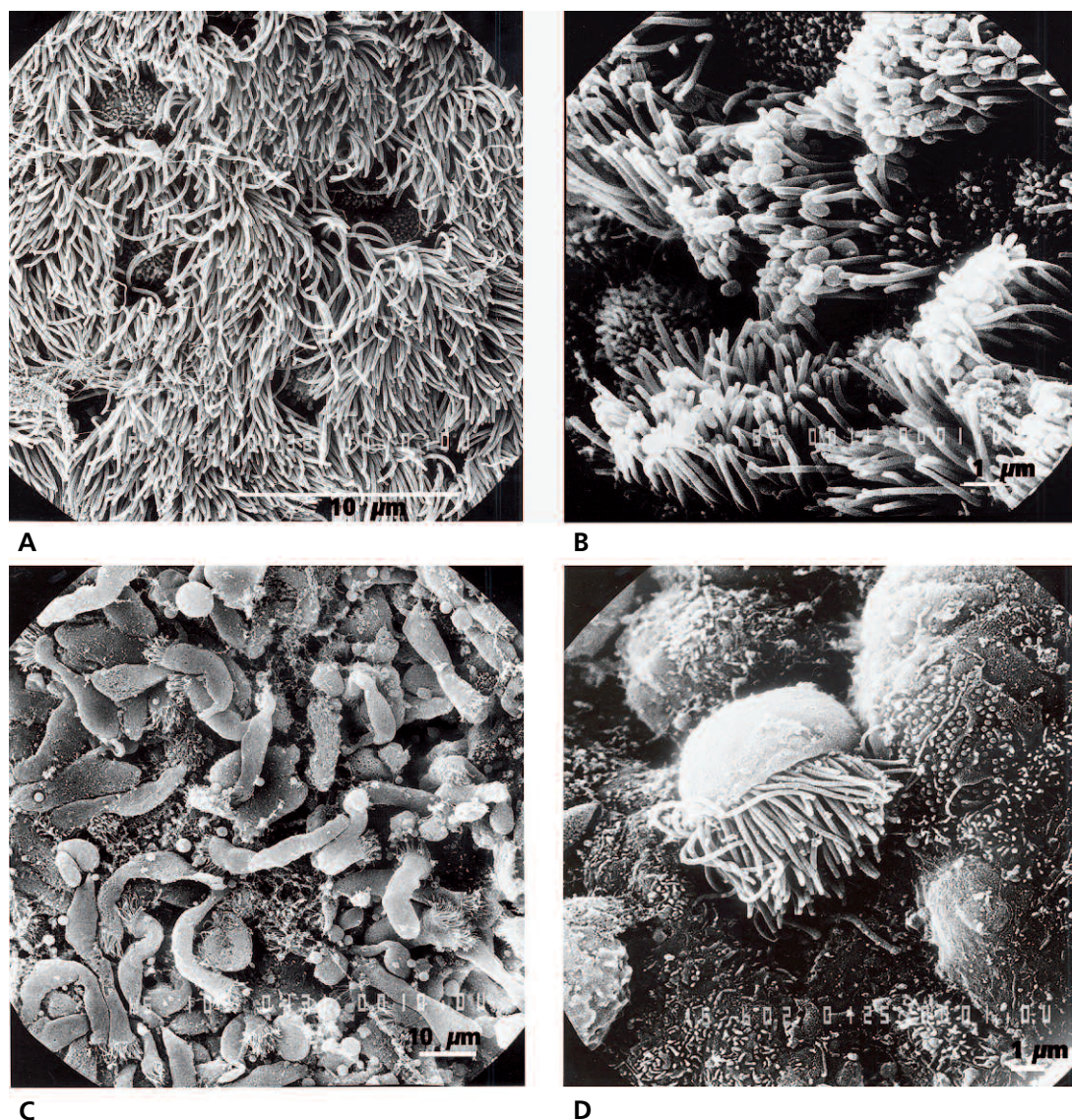


Figure 1: Observation, par microscopie électronique à balayage, de trachée de porcs. Le cliché A révèle, chez un porc sain, les cils vibratiles des cellules ciliées de l'épithélium trachéal, ainsi que des cellules à microvillosités. Les clichés B, C et D ont été obtenus chez des porcs expérimentalement infectés par *Mycoplasma hyopneumoniae*, respectivement 3 semaines (B) et cinq semaines (C et D) après l'infection. On observe en B des mycoplasmes à l'apex des cils vibratiles, en C une desquamation de l'épithélium trachéal et en D, à un plus fort grossissement, la desquamation des cellules ciliées et la disparition des cils.

2004). L'adhésine P97 interagit avec trois glycoprotéines localisées sur les cils des cellules ciliées. Le séquençage de trois génomes de *M. hyopneumoniae* a permis de montrer l'implication d'autres adhésines (P65, P76, P110, P146 et P216) (Minion *et al.* 2004, Vasconcelos *et al.* 2005). Les dommages cellulaires s'expliqueraient par l'action cytotoxique de certaines protéines (dont la P54), par l'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire lors de l'attachement aux cellules hôtes (Park *et al.* 2002), par la production de peroxyde d'hydrogène par le mycoplasme (Rottem 2003).

Les mycoplasmes sont capables d'adaptations particulières. Le phénomène le plus répandu, qui permet une adaptation à l'environnement, est la variabilité antigénique. Cette variabilité des

antigènes de surface, principales cibles du système immunitaire, résulte de mutations spontanées aboutissant à une multitude de variants phénotypiques. Elle est responsable pour une grande part du pouvoir pathogène des mycoplasmes, en leur permettant d'échapper aux mécanismes de défense de l'hôte. Ces mécanismes n'ont pas été décrits chez *M. hyopneumoniae* qui possède peu d'éléments répétés en tandem (à l'exception du gène codant l'adhésine P97). D'autre part, Vicca *et al.* (2003), Strait *et al.* (2006) et C. Marois *et al.* (comm. pers.) ont décrit une variabilité du pouvoir pathogène au sein des souches de *M. hyopneumoniae*. Ceci est confirmé par le séquençage du génome de trois souches (dont une souche de référence dénuée de pouvoir pathogène), qui montre l'existence de réarrangements génomiques (Minion *et al.* 2004, Vasconcelos *et al.* 2005).

Symptomatologie

Les porcs infectés par *M. hyopneumoniae* présentent généralement des symptômes discrets : une légère hyperthermie (40-40,5 °C) et une toux parfois quinteuse, environ une semaine après l'infection. Ces symptômes restent intenses pendant 8 à 12 semaines, puis diminuent progressivement. La morbidité peut atteindre 100 p. 100 des animaux, mais la mortalité est très faible en l'absence de surinfection. L'infection par *M. hyopneumoniae* concerne toutes les catégories d'animaux. La truie contamine ses porcelets dès la naissance, mais l'immunité maternelle et la vaccination précoce, dès la première semaine de vie, protègent l'animal. Cependant, au vu du nombre de porcs charcutiers concernés par les lésions pulmonaires à l'abattoir, il semble que l'infection s'exprime, à l'heure actuelle, plus tardivement. Dans les élevages de production, *M. hyopneumoniae* est souvent associé à des bactéries vraies ou à des virus, ce qui aggrave les signes cliniques et peut induire une mortalité élevée.

Pathologie

M. hyopneumoniae induit une pneumonie affectant les lobes pulmonaires antérieurs. Un exsudat de type séreux est observé dans la trachée, les bronches et les bronchioles. Dans la phase chronique de l'infection, et en l'absence de surinfection, apparaissent de profonds sillons cicatriciels. Ces lésions sont associées à une hypertrophie des nœuds lymphatiques proches.

Les examens anatomopathologiques révèlent une pneumonie interstitielle, dans la phase aiguë de l'infection. Une accumulation de cellules mononucléées, lymphocytes et monocytes, est observée autour des bronches, bronchioles et vaisseaux. Au cours de la phase chronique de l'infection, de volumineux nodules de tissu lymphoréticulaire compriment la lumière bronchiolaire.

Diagnostic

Les symptômes et les lésions, macroscopiques et microscopiques, ne sont pas pathognomoniques de l'infection par *M. hyopneumoniae*. Des méthodes spécifiques permettant de détecter cette espèce mycoplasmatique doivent donc être utilisées. Son isolement et son identification, qui nécessitent des milieux de culture complexes et un temps considérable, ne sont pas compatibles avec un diagnostic de routine. Cependant, afin de réaliser une étude moléculaire ou de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique, il est nécessaire d'isoler la souche présente chez l'animal examiné.

La détection de *M. hyopneumoniae* par une réaction d'immunofluorescence est souvent utilisée. Des coupes de tissu pulmonaire, réalisées au cryomicrotome, sont colorées par un immunosérum dont les immunoglobulines sont couplées à un fluorochrome. La présence du mycoplasme est révélée sous forme d'un liseré fluorescent sur l'épithélium bronchiolaire (Kobisch *et al.* 1978). Plus récemment, des techniques PCR sont utilisées en routine. Ces tests PCR (simple ou nichée) peuvent être appliqués à des prélèvements effectués chez l'animal vivant (Calsamiglia *et al.* 1999, Verdin *et al.* 2000, Kurth *et al.* 2002,

Stakenborg *et al.* 2006). Leur résultat est obtenu en quelques heures. La PCR en temps réel est également utilisée avec profit, puisqu'elle permet de quantifier les mycoplasmes présents dans un prélèvement (C. Marois *et al.*, comm. pers.).

L'infection par *M. hyopneumoniae* induit une immunité à médiation cellulaire, ainsi qu'une immunité humorale locale et générale. Les anticorps sériques sont détectés par différentes techniques. Les tests ELISA de blocage sont utilisés en routine (Feld *et al.* 1992 ; Le Potier *et al.* 1994). Les anticorps sériques sont généralement mis en évidence entre 3 et 5 semaines après l'infection, ils persistent durant une vingtaine de semaines. L'induction d'anticorps est stimulée lors de chaque contact avec *M. hyopneumoniae*. Des anticorps peuvent également être recherchés dans le colostrum des truies de l'élevage. Le nombre d'animaux à prélever doit être choisi en fonction de la prévalence de l'infection au sein de l'élevage. La dynamique de l'infection est évaluée en contrôlant des animaux à différents stades (4, 10, 16, 22 semaines d'âge) à la fois par sérologie et par PCR.

Traitement et prévention

Les antibiotiques peuvent aider à contrôler l'infection par *M. hyopneumoniae*, mais ne permettent pas son éradication. Les antibiotiques généralement utilisés sont plus bactériostatiques que bactéricides. L'absence de paroi chez les mycoplasmes les rend insensibles à certains antibiotiques, dont les β -lactamines, les polymyxines, les sulfamides. De nombreuses études ont été menées sur l'efficacité d'un traitement par différents antibiotiques, dont l'oxytétracycline, la tylosine et des quinolones. Lors de la prescription par le vétérinaire, plusieurs antibiotiques peuvent être associés (Thacker 2006). Une augmentation des CMI a été observée pour plusieurs familles d'antibiotiques dont les tétracyclines, les macrolides et certaines fluoroquinolones. Cependant, les résultats des études menées *in vitro* ne sont pas toujours transposables *in vivo*.

L'antibiothérapie est à considérer comme une aide au contrôle de l'infection mycoplasmatique, elle est d'autant plus efficace qu'elle est associée à des conditions d'élevage favorables.

En France, la vaccination est très utilisée en élevage, depuis plus de 10 ans. Les vaccins sont inactivés et correspondent à des cellules entières associées à un adjuvant. On évalue à 90 p. cent les élevages de production qui utilisent la vaccination (une dose ou double dose dans le jeune âge) pour diminuer l'impact de l'infection par *M. hyopneumoniae*. Ces vaccins sont parfois utilisés en association avec des vaccins destinés à prévenir certaines infections virales concomitantes comme celle due au virus du SDRP.

Les vaccins contre *M. hyopneumoniae* améliorent les performances zootechniques, ils réduisent les symptômes et les lésions pulmonaires mais ils ne suppriment pas la multiplication du mycoplasme dans l'appareil respiratoire. Des vaccins de nouvelle génération et différentes voies de vaccination devront faire l'objet d'études.

POLYSÉRITES ET ARTHRITES À *MYCOPLASMA HYORHINIS*

M. hyorhinis, souvent associé à *M. hyopneumoniae* dans l'appareil respiratoire du porc, a surtout un rôle dans les polysérites et les arthrites. Il est également isolé dans certains cas d'otite et de conjonctivite. *M. hyorhinis* colonise fréquemment les voies respiratoires et les amygdales de porcs cliniquement sains. Il métabolise le glucose, se multiplie *in vitro* en quelques jours et forme des colonies typiques « en œuf sur le plat » (Friis, 1975).

La transmission de cet agent est souvent réalisée par les truies qui contaminent leurs porcelets. L'expression clinique des polysérites se manifeste surtout chez les porcelets de 3 à 10 semaines d'âge. Dans la phase aiguë de l'infection, les signes cliniques se caractérisent par une légère hyperthermie, une perte d'appétit et une hypertrophie des articulations (en particulier des membres postérieurs) souvent associée à une claudication. Ces manifestations s'accompagnent parfois de difficultés respiratoires et se prolongent pendant 3 à 6 mois (Thacker *et al.* 1999).

Les lésions correspondent à une inflammation sérofibrineuse du péricarde, de la plèvre et du péritoine. Les membranes synoviales sont œdémateuses et le liquide synovial abondant. Au cours de la phase chronique, les adhérences sont de nature fibreuse. Une érosion du cartilage articulaire peut être observée dans certains cas. L'examen histologique révèle une inflammation sérofibrineuse des séreuses et la présence de cellules mononucléées.

Au laboratoire, il est possible d'isoler la bactérie et l'examen anatomopathologique apporte des informations complémentaires. Des tests PCR peuvent également être utilisés.

M. hyorhinis est sensible aux différents antibiotiques actifs sur *M. hyopneumoniae*, cependant les traitements n'apportent pas toujours de résultats satisfaisants. Il est probable que les réactions inflammatoires engendrées par l'infection limitent la pénétration des antibiotiques. Il n'existe pas de vaccins.

LES AUTRES MYCOPLASMES DU PORC

Mycoplasma hyosynoviae

M. hyosynoviae peut coloniser l'appareil respiratoire et les amygdales du porc, mais il a une affinité pour les articulations, induisant des arthrites et surtout des polyarthrites.

Il se développe rapidement en milieu artificiel, il métabolise l'arginine et forme des colonies typiques « en œuf sur le plat » (Friis, 1975).

Les porcelets, souvent contaminés par les truies, transmettent la bactérie à leurs congénères. Ce sont surtout les porcs de 50-60 kg qui présentent des symptômes, sous forme de difficultés locomotrices et une inaptitude à la station debout. Les lésions articulaires sont essentiellement observées au niveau des membres postérieurs et s'accompagnent de bursites. Le liquide synovial est abondant, de couleur brune, les membranes syno-

viales sont œdémateuses. Le cartilage articulaire n'est généralement pas atteint. Ces lésions peuvent être observées chez le porc en croissance et à l'abattoir.

M. hyosynoviae est facilement isolé au laboratoire. Des tests PCR ont été mis au point, mais sont peu utilisés en routine.

L'usage des antibiotiques peut masquer la présence de *M. hyosynoviae*.

Mycoplasma flocculare

M. flocculare affecte l'appareil respiratoire du porc, mais son rôle dans les pneumopathies n'est pas établi. Il suscite néanmoins de l'intérêt de par ses similitudes avec *M. hyopneumoniae* auquel il est souvent associé.

Mycoplasma hyopharyngis

Cette espèce mycoplasémique a été isolée en Amérique du Nord et en Europe, à partir des voies respiratoires supérieures ou des articulations de porcs présentant des arthrites. Les exigences nutritionnelles de ce mycoplasme sont proches de celles de *M. hyosynoviae*.

L'épidémiologie de l'infection et ses manifestations cliniques ne sont pas connues.

Mycoplasma suis

Mycoplasma suis (*Eperythrozoon suis*) peut causer une anémie chez le porc et à la faveur d'un stress, provoquer la mort des jeunes porcelets, au sevrage ou plus tardivement. Il existe aussi des porteurs asymptomatiques.

Le diagnostic de laboratoire est généralement effectué par la détection des anticorps, mais des tests PCR ont récemment été développés.

CONCLUSION

Les mycoplasmoses porcines correspondent majoritairement à des pathologies graves et l'infection à *M. hyopneumoniae* est la plus préoccupante. Elle induit des dommages cellulaires, lors de la colonisation des voies respiratoires du porc, qui facilitent l'entrée d'agents infectieux secondaires et entraînent des pertes économiques considérables pour la filière porcine. La mise en place d'une prophylaxie sanitaire, associée si nécessaire à une prophylaxie médicale, devrait permettre une prévention efficace de l'infection. L'étude des facteurs de virulence et de la variabilité du pouvoir pathogène de *M. hyopneumoniae* doivent conduire à de nouvelles thématiques de recherche.

BIBLIOGRAPHIE

- Calsamiglia, M., Pijoan, C., Trigo, A. 1999. Application of a nested polymerase chain reaction assay to detect *Mycoplasma hyopneumoniae* from nasal swabs. *J Vet Diagn Invest.* 11: 246 – 251.
- Djordjevic, S.P., Cordwell, S.J., Djordjevic, M.A., Wilton, J., Minion, F.C. 2004. Proteolytic processing of the *Mycoplasma hyopneumoniae* cilium adhesin. *Infect Immun.* 72: 2791 – 2802.
- Feld, N.C., Qvist, P., Ahrens, P., Friis, N.F., Meyling, A. 1992. A monoclonal blocking ELISA detecting serum antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet Microbiol.* 30: 35 – 46.
- Friis, N.F. 1975. Some recommendations concerning primary isolation of *Mycoplasma suis pneumoniae* and *Mycoplasma flocculare* a survey. *Nord Vet Med.* 27: 337 – 339.
- Kobisch, M. & Tillon, J.-P. 1976. Pneumonie enzootique du porc: isolement d'une souche de *Mycoplasma suis pneumoniae* et reproduction de la maladie. *Rec Méd Vét.* 152: 817 – 827.
- Kobisch, M., Tillion, J.-P., Vannier, P. 1978. Pneumonie enzootique à *Mycoplasma suis pneumoniae* chez le porc: diagnostic rapide et recherches d'anticorps. *Rec Méd Vét.* 154: 847 – 852.
- Kurth, K.T., Hsu, T., Snook, E.R., Thacker, E.L., Thacker, B.J., Minion, F.C. 2002. Use of a *Mycoplasma hyopneumoniae* nested polymerase chain reaction test to determine the optimal sampling sites in swine. *J Vet Diagn Invest.* 14: 463 – 469.
- Le Potier, M.F., Abiven, P., Kobisch, M., Crevat, D., Desmettre, P. 1994. A blocking ELISA using a monoclonal antibody for the serological detection of *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Res Vet Sci.* 56: 338 – 345.
- Minion, F.C., Lefkowitz, E.J., Madsen, M.L., Cleary, B.J., Swartzell, S.M., Mahairas, G.G. 2004. The genome sequence of *Mycoplasma hyopneumoniae* strain 232, the agent of swine mycoplasmosis. *J Bacteriol.* 186: 7123 – 7133.
- Park, S.C., Yibchok-Anun, S., Cheng, H., Young, T.F., Thacker, E.L., Minion, F.C., Ross, R.F., Hsu, W.H. 2002. *Mycoplasma hyopneumoniae* increases intracellular calcium release in porcine ciliated tracheal cells. *Infect Immun.* 70: 2502 – 2506.
- Razin, S., Yogev, D., Naot, Y. 1998. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol Mol Biol Rev.* 62: 1094 – 1156.
- Rottem, S. 2003. Interaction of mycoplasmas with host cells. *Physiol Rev.* 83: 417 – 432.
- Stakenborg, T., Vicca, J., Maes, D., Peeters, J., de Kruif, A., Haesebrouck, F., Butaye, P. 2006. Comparison of molecular techniques for the typing of *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates. *J Microbiol Methods* 66: 263 – 275.
- Strait, E.L., Madsen, M.L., Thacker, E.L., Minion, C. 2006. Virulence and molecular analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates. In 16th International Congress of International Organization for Mycoplasmaology, Cambridge, 9-14 July 2006, Résumé N° 144, p 91.
- Tajima, M. & Yagihashi, T. 1982. Interaction of *Mycoplasma hyopneumoniae* with the porcine respiratory epithelium as observed by electron microscopy. *Infect Immun.* 37: 1162 – 1169.
- Tajima, M., Yagihashi, T., Nunoya, T. 1985. Ultrastructure of mycoplasmal capsules as revealed by stabilization with antiserum and staining with ruthenium red. *Nippon Juigaku Zasshi.* 47: 217 – 223.
- Thacker, E.L. 2006. Mycoplasmal Diseases. In *Diseases of swine*, 9th edition (ed. B.E. Straw, J. Zimmerman, S. D'Allaire, D.J. Taylor), pp. 701 – 717. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Thacker, E.L., Halbur, P.G., Ross, R.F., Thanawongnuwech, R., Thacker, B.J. 1999. *Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. *J Clin Microbiol.* 37: 620 – 627.
- Vasconcelos, A.T., Ferreira, H.B., Bizarro, C.V., Bonatto, S.L., Carvalho, M.O., Pinto, P.M., Almeida, D.F., Almeida, L.G., Almeida, R., Alves-Filho, L., et al. 2005. Swine and poultry pathogens: the complete genome sequences of two strains of *Mycoplasma hyopneumoniae* and a strain of *Mycoplasma synoviae*. *J Bacteriol.* 187: 5568 – 5577.
- Verdin, E., Saillard, C., Labbe, A., Bove, J.-M., Kobisch, M. 2000. A nested PCR assay for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in tracheobronchiolar washings from pigs. *Vet Microbiol.* 76: 31 – 40.
- Vicca, J., Stakenborg, T., Maes, D., Butaye, P., Peeters, J., de Kruif, A., Haesebrouck, F. 2003. Evaluation of virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates. *Vet Microbiol.* 97: 177 – 190.