

résultats originaux

la prévalence des infections

à *Mycoplasma bovis* en France

dans la filière laitière

François Poumarat¹
Marie-Anne Arcangioli¹
Dominique Le Grand¹
Myriam Chazel¹
Éric Sellal², Arnaud Duet³
Pierre Bézille¹
Didier Calavas¹

¹ UMR "Mycoplasmoses des ruminants"
AFSSA Lyon ENVL.

² Laboratoire Service International,

³ Clinique Vétérinaire,
01340 Montrevel en Bresse

Objectif pédagogique

Connaître la prévalence de *M. bovis* dans les affections respiratoires des veaux et dans les mammites des vaches laitières en France.

NOTE

* Cf. l'article "VIGIMYC : le réseau français d'épidémiosurveillance des mycoplasmoses des ruminants" de F. Poumarat dans ce numéro.

Essentiel

Le rôle de *M. bovis* dans les pneumopathies des veaux diffère largement d'un département à l'autre, selon la seule étude statistique réalisée en France entre 1997 et 1998.

Deux nouvelles enquêtes ont été menées en 2003 et 2005.

Reproduction interdite

Toute reproduction ou représentation, intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, de la présente publication sans autorisation est illicite et constitue une contrefaçon. L'autorisation de reproduire un article dans une autre publication doit être obtenue auprès de l'éditeur, NÉVA. L'autorisation d'effectuer des reproductions par reprographie doit être obtenue auprès du Centre français d'exploitation du droit de la copie (C.F.C.).

Mycoplasma bovis est, après l'agent de la péripneumonie contagieuse bovine, le mycoplasme le plus pathogène pour les bovins. Il est à l'origine de différentes affections ; les pneumopathies et les mammites sont les plus fréquentes. L'extension rapide de ces mycoplasmoses en élevage intensif ont des conséquences économiques majeures. Quelle est la situation en France ?

En Europe, *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) serait incriminé dans un tiers à un quart des pneumopathies des veaux [7]. Cette moyenne cache cependant des disparités régionales importantes [13]. Quant aux formes mammaires, elles ne semblent atteindre des proportions vraiment alarmantes qu'en Amérique du Nord [6, 7].

En France, une seule étude statistiquement fiable est disponible.

Réalisée entre 1997 et 98, elle porte sur la population adulte en élevage bovin allaitant. Cette enquête sérologique montre des disparités importantes entre les départements, avec respectivement 2 à 13 p. cent, et 28 à 90 p. cent des animaux et des troupeaux infectés [5].

Depuis cette enquête, les seules données au niveau national proviennent du réseau d'épidémio-surveillance des mycoplasmoses des ruminants VIGIMYC*.

Elles indiquent une fréquence élevée d'isolement de *M. bovis* lors d'affection respiratoire chez les jeunes non sevrés (veaux de boucherie). En revanche, les formes mammaires semblent exceptionnelles, mais peut-être sont-elles effectivement sous-diagnostiquées ?

Pour préciser et actualiser ces informations, deux enquêtes ont été mises en place en 2003 et en 2005 par l'U.M.R. "Mycoplasmoses des ruminants" AFSSA-ENVL.

La 1^{re} vise une pré-évaluation de l'incidence des affections à *M. bovis* en élevage de veaux de boucherie ;

la 2^{de} cherche à établir la prévalence de l'infection mammaire à *M. bovis* en élevage bovin laitier.

1^{RE} ENQUÊTE

M. BOVIS

DANS LES AFFECTIONS RESPIRATOIRES DES VEAUX DE BOUCHERIE

Le protocole de l'enquête

En 2003, neuf bandes de veaux de races laitières ont été suivies sur une période de 1 à 2 mois, à compter du jour d'allotement. Collectés dans l'est de la France, à l'âge de 2 à 3 semaines, ils sont conduits en bande unique, entretenus sur aire paillée et disposent d'un distributeur automatique commun de lait reconstitué.

Les bandes comptaient en moyenne une centaine d'animaux, sept étaient situées dans des établissements différents, deux dans des bâtiments distincts d'un même site (tableau 2).

À l'entrée en bande, les animaux ont été vaccinés contre les virus B.V.D (Bovine Viral Diarrhea) et R.S.V. (Respiratory Syncytial Virus) (sauf le lot 7 : B.V.D. seulement) et mis sous antibiothérapie préventive pendant 10 jours.

Le suivi sanitaire de ces bandes dépendait d'un même vétérinaire.

Dans chacune des bandes, 15 veaux tirés au hasard ont fait l'objet d'un suivi selon le protocole décrit dans le tableau 1.

Ce protocole visait à caractériser les agents infectieux présents au début de l'épisode respiratoire et à confirmer leur implication par analyse des cinétiques d'apparition des anticorps.

Les analyses réalisées et les méthodes utilisées sont décrites dans le tableau 1.

Par convention, dans cette enquête :

un épisode d'affection respiratoire dans une bande était considéré comme grave, donc justifiait la mise en place d'un traitement collectif quand au moins 30 p. cent des animaux étaient atteints, ou quand le taux de consommation de lait chutait de plus de 10 p. cent ;

Tableau 1 - Chronologie, types d'intervention et analyses mises en oeuvre sur les 15 veaux témoins tirés au sort dans chacune des neuf bandes de veaux de boucherie suivies

Chronologie	Jour du regroupement en bande (J0)	Jour de la décision de traiter la bande pour affection respiratoire (J + 9/19)	Au moins 40 jours après l'épisode d'affection respiratoire (J + 40/70)
● Type d'intervention	- Prise de sang (P.S.1)	- Prise de sang (P.S.2) - Lavage bronchoalvéolaire (L.B.A.), avant traitement antibiotique, sur 15 veaux, 10 veaux malades et 5 veaux non encore malades*	- Prise de sang (PS3)
● Type d'analyse	- Sérologie <i>M. bovis</i> - Sérologie P.I.3 - Sérologie R.S.V.	- Recherche et identification des mycoplasmes - Bactériologie classique - Recherche du virus R.S.V. dans les L.B.A. - Recherche du virus B.V.D. dans P.S.2 - Sérologie <i>M. bovis</i> - Sérologie R.S.V.	- Sérologie <i>M. bovis</i> - Sérologie P.I.3 - Sérologie R.S.V.
● Méthodes d'analyse	- ELISA Chekit <i>M. bovis</i> , Bommeli - R.S.V. et P.I.3 Kit LSI	- Culture en milieu "Axcell Bio technologies" et identification des mycoplasmes par dot immunodinding sur membrane de filtration [9] - Culture sur gélose au sang et identification API (Biomérieux) - ELISA Chekit <i>M. bovis</i> , Bommeli - R.S.V. par <i>nested RT-PCR</i> . [14] - B.V.D. par P.C.R. en temps réel (Kit Taqvet, LSI) - R.S.V. Kit LSI	- ELISA Chekit <i>M. bovis</i> , Bommeli R.S.V. et P.I.3 Kit LSI

NOTE

* Si ce ratio 10/5 ne pouvait pas être obtenu en s'en tenant uniquement aux veaux témoins, d'autres veaux de la bande étaient inclus pour le respecter.

- un individu était considéré comme atteint d'une affection respiratoire quand il présentait au moins un des symptômes suivants : écoulement nasal, toux, fréquence respiratoire augmentée, bruits respiratoires anormaux, ou quand au moins un de ces signes cliniques était associé à une température rectale supérieure à 39,5°C.

Les résultats

● Un épisode d'affection respiratoire nécessitant la mise en place d'un traitement collectif est apparu dans toutes les bandes dans les 10 à 20 j suivant l'entrée (tableau 2, photo 1).

● Dans les lavages broncho-alvéolaires (L.B.A.), *M. bovis* a été isolé, à des titres élevés, dans huit des neuf bandes et chez au moins 10 des 15 animaux testés par bande (tableau 2).

● Dans ces huit bandes, 60 à 100 p. cent des témoins ont fait une séroconversion vis-à-vis de *M. bovis* dans les semaines suivant l'épisode respiratoire.

En revanche, aucun *M. bovis* et aucune trace sérologique de son passage n'ont été détectés dans le lot N°5.

● Les espèces bactériennes classiquement reconnues pathogènes sont très peu présentes : des *Pasteurella* et *Mannheimia* n'ont été isolées que dans 6 p. cent des L.B.A.



1 Malgré la vaccination contre les virus B.V.D et R.S.V et la mise sous antibiothérapie préventive, un épisode d'affection respiratoire est apparu dans toutes les bandes dans les 10 à 20 jours suivant l'entrée (photo J.-M. Nicol).

(tableau 3). Ceci peut s'expliquer simplement par une intervention très précoce dans le processus infectieux respiratoire, et par l'application à la mise en lot d'une antibiothérapie préventive des diarrhées avec des antibiotiques potentiellement actifs sur les pasteurelles.

● L'intervention des virus, compte tenu des vaccinations, reste plus délicate à évaluer (tableau 3).

● Une infection virale à *Parainflenza 3* (P.I.3) est probable dans trois élevages au moins, peut être six. Un passage du virus R.S.V. est certain dans le lot N°5, et possible dans les lots N°1 et N°8, si l'on s'en tient aux

Essentiel

■ Cette étude montre que *M. bovis* intervient massivement souvent associé au virus B.V.D. lors d'affection respiratoire chez les veaux allotés.

RUMINANTS

Tableau 2 - Résumé des résultats d'analyses concernant la recherche bactériologique et sérologique de *Mycoplasma bovis* chez les 15 veaux suivis dans chacune des neuf bandes

Caractéristiques des bandes de veaux		
N° des bandes Taille des bandes	Date de la maladie ¹	Nombre de veaux
N°1 120 veaux	+ 9 j	
N°2 75 veaux	+ 10 j	
N°3 150 veaux	+ 8 j	
N°4 130 veaux	+ 10 j	
N°5 120 veaux	+ 13 j	
N°6 50 veaux	+ 12 j	
N°7 100 veaux	+ 9 j	
N°8 70 veaux	+ 19 j	
N°9 100 veaux	+ 10 j	

COMMENTAIRES DU TABLEAU 2

Nombre d'animaux séropositifs parmi les 15 veaux suivis dans chaque bande

- À la mise en bande : J0
- En début d'épisode respiratoire : J+9/19
- 1 à 2 mois après l'épisode respiratoire : J+40/70

Nombre de veaux avec *M. bovis* dans L.B.A.² parmi les 15 veaux suivis dans chaque bande

- En début d'épisode respiratoire : J+9/19

¹ Date de décision de traiter la bande pour affection respiratoire, exprimée en jours écoulés depuis l'entrée en bande.

² L.B.A. : lavage broncho-alvéolaire.

³ Un des veaux témoins est mort.

Tableau 3 - Résumé des résultats d'analyses concernant la recherche bactériologique, virologique et sérologique des agents pathogènes autres que *M. bovis* chez les 15 veaux suivis dans chacune des neuf bandes

Numéro des lots	Virologie	Nombre de veaux
	Isolement	
	B.V.D.³ dans le sérum PS2 R.S.V.² dans L.B.A.	
● N°1		
● N°2	VT ⁴	
● N°3	IPI ⁵	
● N°4	IPI ⁵ et VT ⁴	
● N°5	IPI ⁵ et VT ⁴ + (1)	
● N°6	IPI ⁵	
● N°7	VT ⁴	
● N°8	VT ⁴	
● N°9	VT ⁴	

COMMENTAIRES DU TABLEAU 3

Bactériologie des L.B.A. sur 15 veaux suivis dans chaque bande

- Mannheimia* ou *Pasteurella*
- Autres pathogènes potentiels

Nombre de séroconversions

- P.I.3
- R.S.V.

¹ *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Aspergillus* sp. et streptococci.

² Tester sur cinq L.B.A. par bande.

³ Rechercher sur les sérums de la prise de sang effectuée au début de l'épisode clinique.

⁴ VT : au moins un veau avec une virémie transitoire.

⁵ IPI : infectés permanents immunotolérants.

Essentiel

■ *M. bovis* intervient très tôt dans le processus infectieux.

■ L'infection d'une bande se ferait par diffusion très rapide à partir de quelques individus porteurs.

■ Une possible re-contamination d'une bande à l'autre par persistance du germe dans l'environnement ne doit pas être totalement exclue.

■ En effet, *M. bovis* présente une étonnante résistance dans le milieu extérieur.

séroconversions importantes qui ne peuvent être imputées à la seule vaccination. La détection de veaux à virémie transitoire signe l'intervention du virus B.V.D. dans six bandes.

- Ainsi, il apparaît dans cette étude que *M. bovis* intervient massivement, souvent associé au virus B.V.D. lors d'affection respiratoire chez les veaux allotés.

- Le taux d'incidence moyen avancé récemment pour l'Europe, soit 25 à 30 p. cent [7], était déjà signalé dans une enquête datant de 1988 en région Rhône-Alpes qui a été réalisée sur 27 bandes de veaux de bouche-

- L'exemple décrit ci-joint démontre qu'en France, l'incidence de *M. bovis* peut atteindre désormais les taux maximums reportés dans certaines études d'Amérique du Nord [3, 13]. Cependant, il convient de souligner que l'intervention en tout début de maladie pourrait avoir un effet majorant par rapport à la plupart des études publiées entreprises sur des épisodes respiratoires explorés plus tardivement.

- En revanche, elle démontre clairement que *M. bovis* intervient très tôt dans le processus infectieux.

- À l'entrée en bande, très peu d'animaux (2 p. cent des 135) possédaient des anticorps anti-*M. bovis* (tableau 2).

À cet âge, ces anticorps sont d'origine colostrale ce qui suppose un taux d'infection faible des mères, que confirment différentes enquêtes antérieures (2-13 p. cent) [2, 10].

- Ainsi, l'infection d'une bande se ferait par diffusion très rapide à partir de quelques individus porteurs ; c'est l'hypothèse la plus communément retenue.

- En revanche, une possible re-contamination d'une bande à l'autre par persistance du germe dans l'environnement ne doit pas être totalement exclue.

- En effet, *M. bovis* présente, pour un mycoplasme, une étonnante résistance dans le milieu extérieur [4] qui pourrait s'expliquer par la production de structures protectrices de type biofilm* [8].

2^E ENQUÊTE

LA PRÉVALENCE DE L'INFECTION A *M. BOVIS* DANS LE LAIT DE TANK : enquête en régions Rhône-Alpes et Auvergne

Le protocole de l'enquête

- Cette enquête a été organisée en collaboration avec la coopérative laitière O.R.L.A.C. (Organisation Régionale Laitière



2 L'enquête sur la prévalence de l'infection à *M. bovis* dans le lait de tank a été effectuée sur 1522 troupeaux laitiers (photo J.-M. Nicol).

Agricole et Coopérative-Vienne) sur une population de 1522 troupeaux laitiers (25 animaux en moyenne), répartis sur six départements (figure).

- Le sondage a été réalisé par recherche directe de *M. bovis* dans les laits de tank selon deux méthodes distinctes.

- La 1^{re} consiste en l'ensemencement du lait en milieux spécifiques pour mycoplasmes, suivi après 10 jours d'incubation d'une recherche systématique de *M. bovis* par une méthode immuno-enzymatique (MF-dot) [9]. Trois autres mycoplasmes potentiellement pathogènes pour la mamelle : *M. canadense*, *M. bovigenitalium* et *M. alkalescens* ont été recherchés parallèlement.

Cette méthode est bien éprouvée, elle est utilisée en routine pour le dépistage de *M. agalactiae* dans les laits de tank d'élevages ovins pouvant compter plus de 100 animaux [1].

Le milieu de culture utilisé apparaît très performant : d'après un essai inter-laboratoires récent, il permet de détecter moins de 60 mycoplasmes viables par ml.

- La 2^{de} méthode consiste en une recherche directe sur les laits par P.C.R. (Kit LSI, Laboratoire Service International) qui affiche une sensibilité sur culture en bouillon de *M. bovis* de 10² à 10³ U.F.C./ par ml.

- À partir des 1522 élevages de la coopérative, nous avons déterminé un échantillon aléatoire d'élevages à tester sur l'hypothèse d'une prévalence d'infection des laits de tank de 2 p. cent, définie à partir de données établies dans les États les moins touchés aux U.S.A. [11].

- L'échantillon minimum requis de 275 troupeaux a été majoré à 345 pour compenser les éventuels prélèvements qui seraient impossibles à analyser car trop contaminés.

- La répartition géographique de l'échan-

Essentiel

- Aucun mycoplasme n'a été isolé et/ou caractérisé par P.C.R. dans les laits de tank en régions Rhône-Alpes et Auvergne.

- La taille des troupeaux et surtout le type de conduite d'élevage dans les très grands troupeaux seraient un des principaux facteurs favorisant les mammites bovines à *M. bovis* aux USA.

NOTE

* Cf. l'article "Les mycoplasmes, stratégies d'adaptation et de persistance de bactéries minimales" de C. Citti dans ce numéro.

Remerciements

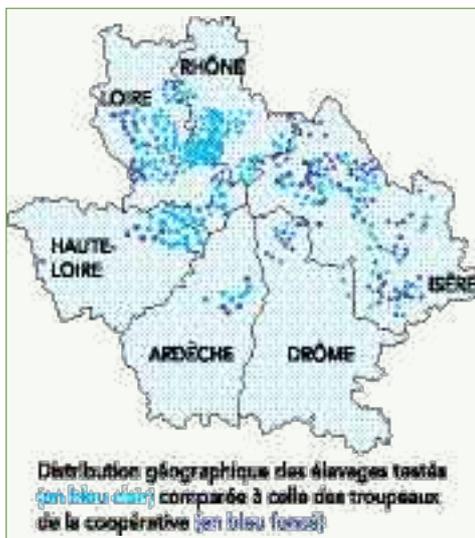
Nous remercions J. Amedéo, Lilly-Dépt ELANCO ; G. Meyer, ENVT ; J.P. Picquendar, ORLAC ; et C. Mottet, A. Paoli, C. Fournier et P. Cuchet pour leur assistance technique.

RUMINANTS

Références

- Bergonier D, Valognes A, Van de Wiele A, Grenouillat D, Berthelot X, Poumarat F. Interest of bulk tank milk for characterization of *Mycoplasma agalactiae* subclinical infection in dairy ewe flocks. In : Frey J and Sarris K, eds. COST 826 *Mycoplasmas of ruminants : pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics*. Report EUR 18756 EN, 1996;1:119-121.
- Burnens AP, Bonnemain P, Bruderer U, Schalch L, Audigé L, Le Grand D, Poumarat F, Nicolet J. Etude sur la séroprévalence de *Mycoplasma bovis* chez la vache laitière en Suisse, en particulier dans la République et Canton du Jura. Schweiz. Arch. Tierheilk. 1999;141: 455-460.
- Gagea MI, Bateman KG, van Dreumel T, McEwen TJ, Carman S, Archambault M, Shanahan RA, Caswell JL. Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. J. Vet. Diagn. Invest. 2006;18:18-26.
- Le Grand D, Poumarat F, Bézille P. Mycoplasmoses bovines à *Mycoplasma bovis*. Le Point Vétérinaire 1996;28:771-778.
- Le Grand D, Calavas D, Brank M, Citti C, Rosengarten R, Bézille P. Serological prevalence of *Mycoplasma bovis* infection in suckling beef cattle in France. The Veterinary Record 2002; 150:268-73.
- 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.
- Nicholas RA, Ayling RD. *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. Research in Veterinary Science 2003;74:105-112.
- McAuliffe L, Ellis RJ, Miles K, Ayling RD, Nicholas RA. Biofilm formation by *mycoplasma* species and its role in environmental persistence and survival. Microbiology 2006;152:913-22.
- Poumarat F, Perrin B, Longchambon D. Identification of ruminant mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration (MF dot). Vet. Microbiol. 1991;29:329-338.
- Poumarat F, Perrin M, Gauthier N, Lepage D, Martel JP. 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. Recueil de Médecine Vétérinaire 1988;164:625-632.
- Rosengarten R, Citti C. The role of ruminant mycoplasmas in systemic infections. In : Stipkovits L, Rosengarten R, Frey J, eds. COST 826 "Mycoplasmas of ruminants : pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics" Report EUR 18756 EN, 1999;3:14-17.
- Thomas CB, Jasper DE. *Mycoplasma mastitis* and the herd size factor. Calif. Vet. 1982;34:15-16.
- Thomas A, Mainil J, Linden A. *Mycoplasma bovis* : summary of current knowledge. Annales de Médecine Vétérinaire 2003;147:23-39.
- Valarcher JF, Bourhy H, Gelfi J, Schelcher F. Evaluation of a nested reverse transcription-P.C.R. assay based on the nucleoprotein gene for diagnosis of spontaneous and experimental bovine respiratory syncytial virus infections. Journal of Clinical Microbiology 1999;37:1858-1862.

Figure - Répartition géographique des élevages d'après une enquête sur les laits de tank



tillon retenu a été vérifiée, de sorte qu'il correspondre à la répartition géographique des élevages affiliés à la coopérative (figure).

Les résultats

- Les 345 laits de tank récoltés ont pu être analysés.
- Aucun mycoplasme n'a été isolé et/ou caractérisé par P.C.R.
- On peut donc affirmer que dans cette population de troupeaux laitiers, la prévalence de l'infection à *M. bovis* est nulle à très faible, entre 0 et 1 p. cent (intervalle de confiance à 95 p. cent).
- Des résultats comparables ont déjà été obtenus récemment dans une autre région : en Pays de Loire sur un échantillon de 101 élevages [6], *M. bovis* n'a pas été détecté par P.C.R. indiquant une prévalence inférieure à 2,9 p. cent (borne supérieure de l'intervalle de confiance).
- À ces niveaux d'infection, il est probable que les mammites cliniques à *M. bovis* ne sont que sporadiques. Elles existent cependant puisque, entre 1983 et 2005, des foyers ont été identifiés dans huit départements différents (données VIGIMYC).
- La taille des troupeaux, et surtout le type de conduite d'élevage dans les très grands

troupeaux, seraient un des principaux facteurs favorisants.

Aux U.S.A., la fréquence de contamination des laits de tank est multipliée par cinq au-delà de 350 animaux et par 11 au-delà de 700 [12]. Ce type d'élevage restant exceptionnel en France on peut trouver là une des raisons du caractère sporadique des mammites à *M. bovis* dans notre pays.

CONCLUSION

- Ces travaux montrent qu'en France *M. bovis* est devenu un agent étiologique majeur en pathologie respiratoire des veaux de boucherie, qu'il intervient en tout début dans le processus infectieux et que la diffusion de l'infection est rapide et massive (60 à 100 p. cent de morbidité).
- En revanche, l'infection mammaire à *M. bovis* chez les vaches laitières semble très rare, ce qui peut surprendre puisque ces animaux sont les mères des veaux de boucherie fortement infectés. Le lait ne serait donc pas la voie principale de contamination.
- D'autres sites pourraient être des niches écologiques plus favorables pour *M. bovis* chez l'adulte (l'appareil respiratoire, voire l'appareil génital).
- Le faible taux d'anticorps maternels chez les veaux à l'entrée ne va pas non plus dans le sens d'une infection massive des mères.
- Ainsi, les conditions d'élevage des veaux de boucherie seraient l'élément amplificateur majeur, particulièrement favorable à la diffusion d'une infection même limitée au départ.
- La possibilité de re-contamination des bandes successives par le milieu extérieur devrait être également envisagée.
- Mais tout ceci n'explique pas le pourquoi d'une telle progression de ces infections : apparition de souches plus virulentes ? Conséquence de la maîtrise d'autres agents impliqués en pathologies respiratoires ? Brassage plus important d'animaux ? Données de prévalence sur adultes à réactualiser ? Il reste aujourd'hui encore beaucoup d'inconnues.

formation continue

- Lors d'affections respiratoires chez les veaux allotés, *M. bovis* intervient massivement, souvent associé au virus B.V.D. : oui non
- M. bovis* intervient très tôt dans le processus infectieux : oui non
- Cette enquête tend à montrer que les mammites cliniques à *M. bovis*, en France, ne sont que sporadiques : oui non

Reproduction interdite

Toute reproduction ou représentation, intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, de la présente publication sans autorisation est illicite et constitue une contrefaçon. L'autorisation de reproduire un article dans une autre publication doit être obtenue auprès de l'éditeur, NÉVA. L'autorisation d'effectuer des reproductions par reprographie doit être obtenue auprès du Centre français d'exploitation du droit de la copie (C.F.C.).

RUMINANTS



NÉVA

EUROPARC 15, rue E. Le Corbusier
94035 CRÉTEIL CEDEX
Tél : (33) 1-41-94-51-51
Courriel : neva@neva.fr