

Recherche de *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinis* et *M. flocculare* dans des poumons atteints de pneumonie : étude exploratoire dans 41 lots de porcs

Sarah FOUROUR (1,3), Christelle FABLET (2,3), Véronique TOCQUEVILLE (1,3), Virginie DORENLOR (2,3), Florent EONO (2,3), Eric EVENO (2,3), Isabelle KEMPF (1,3), Corinne MAROIS-CREHAN (1,3)

(1) Anses, Unité Mycoplasmologie Bactériologie, B.P. 53, 22440 Ploufragan, France

(2) Anses, Unité Epidémiologie et Bien-Etre du Porc, B.P. 53, 22440 Ploufragan, France

(3) Université Bretagne-Loire, Ploufragan, France

christelle.fablet@anses.fr

Research on *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinis* and *M. flocculare* in pneumonia: an exploratory study in 41 pig herds

Mycoplasma hyopneumoniae (Mhp), involved in the Porcine Respiratory Disease Complex, is the etiologic agent of porcine enzootic pneumonia. Two other mycoplasma species are in the same ecological niche as Mhp: *M. hyorhinis* (Mhr) and *M. flocculare* (Mfloc). The aims of this study were to investigate (i) the frequency of associations and the amounts of these mycoplasma species in pig lungs with pneumonia-like gross lesions and (ii) the impacts of mycoplasmal associations on the severity of pneumonia-like gross lesions. At the slaughterhouse, 615 lungs from 41 herds with a history of respiratory disorders were collected. They were analyzed by qPCR TaqMan multiplex, targeting the *p102*, *p37* and *fruA* genes of Mhp, Mhr and Mfloc, respectively. Mhp, Mhr and Mfloc were detected in 85.4%, 34.1% and 95.1% of herds, respectively, with an average of 3.4×10^7 , 1.1×10^7 and 7.8×10^6 mycoplasma genome equivalents/mL, respectively. At the herd level, Mhr was always detected in batches qPCR positive for another mycoplasma. Mhp was associated with Mfloc or with Mfloc + Mhr in 51.2% or 9.8% of herds, respectively. Multidimensional analysis revealed correlations between the extent of pneumonia-like gross lesions and the mycoplasmal associations, describing three groups of herds characterized by (i) no or few pneumonia-like gross lesions and qPCR-positive results for Mfloc, or qPCR-negative results for all three mycoplasmal species; (ii) moderate lung lesions associated with qPCR-positive results for Mhp; and (iii) severe lesions associated with qPCR-positive results for Mhr alone or in combination with at least one of the other mycoplasmas. No relationship was found, however, between the extent of pneumonia-like gross lesions and the amounts of mycoplasmal genomes. This exploratory study provides a basis for assessing the role of mycoplasmal interactions in respiratory pathology.

INTRODUCTION

Mycoplasma hyopneumoniae (Mhp) est l'agent initiateur de la pneumonie enzootique du porc et l'agent primaire du complexe respiratoire porcin (Kobisch et Marois 2008). Au sein de ce complexe deux autres mycoplasmes sont présents : *M. hyorhinis* (Mhr) (responsable de polysérites et de pneumonies) et *M. flocculare* (Mfloc) (sans pouvoir pathogène décrit) (Kobisch et Marois 2008, Tocqueville *et al.*, 2013). Ces trois espèces mycoplasmiques partagent une même niche écologique, le poumon, sans que l'on connaisse l'impact de leur association sur les maladies pulmonaires, maladies économiquement pénalisantes pour les éleveurs de porcs et nécessitant fréquemment le recours aux antibiotiques.

Les objectifs de la présente étude étaient i) d'estimer les fréquences et les quantités de Mhp, Mhr et Mfloc dans des poumons atteints de pneumonie et ii) d'étudier l'impact des associations mycoplasmiques sur la sévérité de la pneumonie.

1. MATERIEL ET METHODES

En 2016, 615 poumons ont été collectés dans 5 abattoirs bretons. Les poumons provenaient de 41 élevages à raison de 15 poumons/lot. Ils ont été sélectionnés de manière aléatoire sur la chaîne. Chaque poumon a été examiné individuellement et un score de pneumonie a été attribué en suivant la grille de notation de Madec et Kobisch (1982). Les poumons ont été transférés au Laboratoire de Ploufragan-Plouzané de l'Anses afin d'être analysés par qPCR TaqMan multiplex. Ce nouveau test, décrit par Fourour *et al.* (2017), permet de détecter et quantifier Mhp, Mhr et Mfloc simultanément. Il a pour cibles le gène *p102* de Mhp, le gène *p37* de Mhr et le gène *fruA* de Mfloc. Les seuils de détection pour Mhp, Mhr et Mfloc sont, respectivement, de 14, 146 et 16 équivalent génomes/ μ l. La spécificité diagnostique est de 100% pour les trois espèces mycoplasmiques ciblées. Les sensibilités diagnostiques pour Mhp, Mhr et Mfloc sont, respectivement, de 96%, 97% et 100%, montrant une capacité élevée du test à détecter les trois espèces mycoplasmiques.

Les données ont été analysées à l'échelle de l'élevage. Un lot a été considéré positif vis-à-vis de chaque mycoplasme lorsqu'au moins un poumon du lot était positif par qPCR vis-à-vis de ce mycoplasme. La fréquence des porcs atteints à différents niveaux de sévérité de pneumonie et la proportion de porcs positifs vis-à-vis de chaque espèce mycoplasmiq ue ont été estimées en tenant compte de l'effet élevage (modèle marginal utilisant les équations d'estimations généralisées (GEE), proc GENMOD, SAS 9.1). La fréquence de porcs du lot positifs vis-à-vis de différentes combinaisons de mycoplasmes (au sein d'un même poumon, détection de Mhp et Mhr, ou de Mhp et Mfloc, ou de Mhr et Mfloc ou des trois mycoplasmes) ont été calculées. Les relations entre la proportion de porcs du lot atteints à différents niveaux de sévérité de pneumonie (note de pneumonie ≤ 1 , $2 \leq$ note de pneumonie ≤ 7 , note de pneumonie ≥ 8), la fréquence de porcs du lot positifs vis-à-vis de Mhp seul, de Mhr seul, de Mfloc seul et la fréquence de porcs du lot positifs vis-à-vis de différentes combinaisons de mycoplasmes ont été recherchées par une Analyse en Composantes Principales (ACP). Celle-ci a été complétée par une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) (R Development Core Team, 2008).

2. RESULTATS

De la pneumonie a été observée dans les 41 lots contrôlés. La sévérité d'atteinte était variable selon les lots (Figure 1).

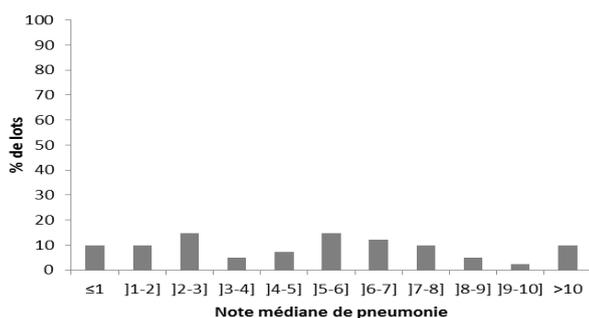


Figure 1 – Répartition des notes médianes de pneumonie (41 élevages, 615 poumons)

Mfloc et Mhp ont été les deux espèces les plus fréquemment détectées (Tableau 1). En termes d'association mycoplasmiq ue, dans tous les élevages où Mhr était détecté, Mhp ou Mfloc était également présent. Mhp était associé avec Mfloc ou avec Mfloc et Mhr dans respectivement 51,2% ou 9,8% des lots.

Tableau 1 – Détection et quantification de Mhp, Mhr et Mfloc dans 41 lots de porcs contrôlés à l'abattoir (615 poumons)

	Mhp	Mhr	Mfloc
Fréquence de lots positifs (%)	85,1	34,1	95,1
Quantité moyenne de mycoplasmes (eg/ml ¹)	3,4x10 ⁷	1,1x10 ⁷	7,8x10 ⁶

¹eg : équivalent génome / ml de prélèvement

L'analyse par ACP et CAH a permis d'identifier trois groupes d'élevages en fonction de la sévérité d'atteinte en pneumonie

et la fréquence de détection des mycoplasmes. Un premier groupe (9 lots) est caractérisé par une fréquence élevée de porcs avec des lésions peu étendues de pneumonie (note ≤ 1) et une fréquence élevée de porcs qPCR positifs vis-à-vis de Mfloc ou qPCR négatifs vis-à-vis des trois espèces mycoplasmiq ues. Un second groupe (26 élevages) est caractérisé par une fréquence élevée de porcs ayant des notes modérées de pneumonie (entre 2 et 7) et une fréquence élevée de porcs infectés par Mhp. Le troisième groupe comprend des élevages (6 lots) avec une fréquence élevée de porcs ayant des notes élevées de pneumonie (≥ 8) et une fréquence élevée de porcs qPCR positifs vis-à-vis de Mhr seul ou en association avec au moins un des deux autres mycoplasmes étudiés. Il est à noter qu'aucune relation n'a été mise en évidence entre l'étendue de la pneumonie et la charge génomique des trois mycoplasmes ciblés.

DISCUSSION-CONCLUSION

Dans notre étude, Mhp et Mfloc étaient les principaux mycoplasmes détectés dans les lots de porcs atteints de pneumonie. Mhr a également été détecté seul ou en association avec Mhp et/ou Mfloc dans près d'un tiers de l'échantillon. Le rôle principal de Mhp dans la gravité de la pneumonie a été confirmé. Mfloc seul a été identifié essentiellement dans les lots de poumons présentant des lésions peu étendues. Ce résultat est conforme aux données de la littérature, indiquant que Mfloc est certainement une bactérie commensale des voies respiratoires supérieures, qui peut être trouvée dans les lésions pulmonaires mais sans rôle important dans la pneumonie (Kobisch et Marois, 2008). Nous avons montré également que Mhr, seul ou avec Mhp et/ou Mfloc, était associé à des lésions étendues de pneumonie. Le rôle de Mhr dans le développement de la pneumonie est actuellement toujours discuté au sein de la communauté scientifique. Notre enquête met en évidence la participation de Mhr dans la pneumonie dans les conditions d'élevage en France. L'infection expérimentale de porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiés par ces trois espèces mycoplasmiq ues, seules ou combinées, permettrait d'approfondir ces premiers résultats exploratoires. Toutefois la participation d'autres agents infectieux du complexe respiratoire porcin (tels que *Actinobacillus pleuropneumonie*, virus du SDRP, virus influenza) dans la sévérité des lésions observées ne peut être exclue. L'interaction de ces agents avec les trois espèces mycoplasmiq ues reste à étudier.

Les résultats de notre étude montrent la nécessité de prendre en compte les associations mycoplasmiq ues afin de lutter plus efficacement contre les troubles respiratoires chez le porc.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les éleveurs et leurs vétérinaires pour leur participation à l'étude ainsi que le personnel des abattoirs pour leur accueil.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Fourour S., Tocqueville V., Fablet C., Kempf I., Marois-Créhan C., 2017. Développement d'une qPCR multiplex Taqman pour la quantification de *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinae* et *M. flocculare*. Journées Rech. Porcine, 49, 229-230.
- Kobisch M., Marois C., 2008. Les mycoplasmoses porcines. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France, 161, 179-184.
- Madec F., Kobisch M., 1982. Bilan lésionnel des poumons de porcs charcutiers à l'abattoir. Journées Rech. Porcine, 14, 405-412.
- Tocqueville V., Nguyen N.H.P., Kempf I., Marois-Créhan C., 2013. Etat actuel des connaissances sur *Mycoplasma hyorhinae*. Actualités en production porcine : Les contaminants respiratoires bactériens – Valorisation de l'acte vétérinaire. AFMVP. 12 et 13 décembre 2013.