



Réseaux

Principe et bilan du réseau Vigimyc consacré à l'épidémiosurveillance des mycoplasmoses des ruminants en France

F. Poumarat^{1,2} (françois.poumarat@anses.fr), N. Jarrige³, F. Tardy^{1,2}

1. Anses, Laboratoire de Lyon, UMR Mycoplasmoses des ruminants, Lyon, France.

2. Université de Lyon, VetAgro Sup, UMR Mycoplasmoses des ruminants, Marcy-L'étoile, France.

3. Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Epidémiologie, Lyon, France.

Les mycoplasmes sont à l'origine, chez les ruminants, de plusieurs maladies dont trois sont inscrites sur la liste des maladies préoccupantes au niveau mondial telle qu'établie par l'organisation mondiale de la santé animale. Le réseau Vigimyc a été créé pour surveiller en France le statut de ces maladies réglementées et des autres mycoplasmoses économiquement délétères. Vigimyc permet d'entretenir une collection de souches représentatives de la situation nationale, qui est régulièrement valorisée à travers le développement et la validation de tests de diagnostic et diverses études visant à une meilleure connaissance des mycoplasmes, y compris leur antibiosensibilité, et des maladies associées.

Mots-clés : réseau, Mycoplasma, animal, biodiversité.

Introduction

La classe des Mollicutes, qui regroupe des petites bactéries sans paroi, est essentiellement représentée chez l'animal par le genre *Mycoplasma*. Chez les ruminants une quarantaine d'espèces ou sous-espèces ont été décrites parmi lesquelles certaines sont pathogènes.

Trois mycoplasmoses ont des conséquences économiques et un impact sur les échanges suffisamment importants pour justifier de mesures de contrôle au niveau mondial et de leur inscription sur la liste de l'organisation mondiale de la santé animale (OIE). Il s'agit, d'une part, de deux mycoplasmoses « exotiques » qui représentent des menaces de réémergence ou d'émergence en France : la péripneumonie contagieuse bovine (PPCB) et la pleuropneumonie contagieuse caprine (PPCC) et, d'autre part, de l'agalactie contagieuse (AC) bien présente en Europe du sud. La PPCB est due à *Mycoplasma* (*M.*) *mycoides* subsp. *mycoides* (Mmm). D'origine européenne, elle est devenue une panzootie mondiale majeure au 19^e siècle. Elle est encore très présente en Afrique et sporadique en Asie. En Europe, avec la mise en place d'un programme d'éradication dans les années 1980-90 suite à une vaste résurgence, plus aucun foyer n'a été identifié depuis 1999. La PPCC est due à *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* (Mccp). On croyait cette maladie limitée au nord-est de l'Afrique, mais l'amélioration des techniques de diagnostic a révélé une répartition bien plus large en Afrique et en Asie jusqu'aux frontières avec l'Europe ainsi qu'une possible infection de la faune sauvage et notamment des animaux de zoos. L'AC est un syndrome complexe associant mammites, arthrites, pneumonies et septicémies. Elle est mondialement répandue avec un fort impact dans le bassin Méditerranéen. Plusieurs mycoplasmes peuvent en être à l'origine : *M. mycoides* subsp. *capri* (Mmc), *M. capricolum* subsp. *capricolum* (Mcc), *M. putrefaciens* chez les chèvres et *M. agalactiae* chez les ovins et caprins.

Quoique non listées par l'OIE, les mycoplasmoses à *M. bovis* ont pris une réelle importance avec le développement des échanges commerciaux et des mélanges liés à l'élevage bovin moderne. Elles s'expriment de façon très protéiforme associant mammites, arthrites, otites et pneumopathies. Les bronchopneumonies des jeunes bovins posent des problèmes au niveau mondial et les mammites voire les otites deviennent fréquentes et économiquement handicapantes dans certains pays comme ceux d'Amérique du nord.

À côté de ces pathologies majeures certaines autres mycoplasmoses deviennent préoccupantes. *M. ovipneumoniae* chez les petits ruminants est considéré dans certains pays comme un intervenant important en pathologie respiratoire. *M. leachii* signalé sporadiquement en Europe s'est avéré fortement pathogène chez les bovins en Chine et en Australie (arthrites, avortements, mammites). *M. canis* et *M. alkalescens* sont suspectés d'être également pathogènes chez les bovins. Par ailleurs, beaucoup d'autres espèces mycoplasmiennes saprophytes sont présentes chez les ruminants et parfois abondantes. L'isolement d'un mycoplasme n'a donc aucune signification clinique tant qu'une identification précise de la (sous)espèce n'est pas effectuée.

Afin de suivre ces pathologies, nous avons créé en 2003 un réseau d'épidémiologie-surveillance des mycoplasmoses des ruminants en France, le réseau Vigimyc. Cet article décrit l'organisation de ce réseau, présente un bilan des cinq dernières années et de la valorisation scientifique qu'il a engendré.

Objectifs et fonctionnement du réseau Vigimyc

Conçu à l'origine comme un service d'aide au diagnostic pour stimuler le diagnostic des mycoplasmoses, Vigimyc a évolué pour couvrir une proportion importante du territoire national et peut donc se prévaloir de l'appellation « réseau de surveillance » en dépit de certaines limites méthodologiques.

Vigimyc poursuit les objectifs suivants :

- identifier les espèces de mycoplasmes isolées chez les ruminants ;
- établir la situation épidémiologique et suivre l'évolution des mycoplasmoses des ruminants sur l'ensemble du territoire français, en particulier celles inscrites sur la liste OIE ;
- détecter l'émergence de nouvelles espèces ou variants mycoplasmiens ;
- partager des informations scientifiques et techniques relatives aux mycoplasmes ;
- constituer et valoriser une collection de souches représentative au niveau national.

Vigimyc est administré par le Laboratoire de Lyon de l'Anses et supervisé par un comité de pilotage constitué des représentants de l'ensemble des interlocuteurs du réseau : laboratoires adhérents, autorités publiques, vétérinaires praticiens, éleveurs et scientifiques.



Réseaux

Vigimyc est un réseau de type « passif » puisque la décision de rechercher des mycoplasmes est à la seule initiative du vétérinaire praticien. La recherche de mycoplasmes par culture à partir des échantillons cliniques est réalisée par les laboratoires d'analyses vétérinaires départementaux guidés en partie par nos conseils techniques revus régulièrement à l'occasion d'essais inter laboratoires. Lorsque des mycoplasmes sont isolés, les primocultures nous sont envoyées pour identification, accompagnées d'une fiche normalisée de saisie des commémoratifs liés au prélèvement. L'identification est réalisée par dot-immunoblotting sur membrane de filtration (Poumarat *et al.*, 1991). Chaque primoculture est testée vis-à-vis d'une batterie de sérums hyperimmuns représentatifs des principales espèces mycoplasmiennes rencontrées chez les ruminants et d'un anticorps monoclonal spécifique de l'agent de la PPCB. En cas de réponse ambiguë ou négative, l'analyse est complétée par des PCR spécifiques ou des PCR et/ou séquençage de divers « gènes de ménage ». Le résultat est transmis en retour au laboratoire demandeur. L'ensemble des données épidémiologiques et des résultats d'identification sont centralisés dans une base de données et une synthèse est transmise annuellement aux adhérents et membres du comité de pilotage.

Tendances actuelles des mycoplasmoses de ruminants observées à travers Vigimyc pendant les cinq dernières années

Analyse globale

Les données chiffrées sont présentées dans les tableaux n°1 et 2. Sur la période 2009-2013, 46 laboratoires d'analyses vétérinaires ont participé au réseau, 1938 primocultures de mycoplasmes issues de 1526 foyers ont été envoyées à l'Anses Lyon conduisant à l'identification de 2105 isolats en prenant en compte les mélanges d'espèces. Ces isolats provenaient de 77 départements différents, i.e. 80% du territoire, et concernaient pour 44% des bovins, 38% des caprins, 12% des ovins et 6% la faune sauvage, essentiellement des bouquetins.

Chez les bovins, les isolats sont issus majoritairement de pathologies respiratoires chez de jeunes animaux et *M. bovis* est le mycoplasme le plus fréquemment identifié. Chez les caprins les isolats proviennent principalement de manifestations d'AC, *Mmc*, *Mcc* et *M. putrefaciens* étant les mycoplasmes les plus couramment isolés. Chez les ovins, les isolats sont issus surtout de pathologies respiratoires chez l'agneau, avec l'isolement croissant de *M. ovipneumoniae*. Chez les ongulés de montagne, les isolats sont issus soit de lésions de pneumopathie avec la caractérisation de *M. agalactiae*, soit d'écouvillons nasaux ou auriculaires révélant un portage important de *M. feriruminatoris* chez des animaux sains.

Deux espèces mycoplasmiennes non pathogènes, *M. bovirhinis* chez les bovins et *M. arginini* chez tous les ruminants, sont très fréquemment isolées, seules ou en association, cet isolement n'ayant aucune signification diagnostique.

Il n'est pas noté d'évolution vraiment notoire depuis le dernier bilan 2003-2008 (Chazel *et al.*, 2010), à l'exception d'une augmentation des isollements de *M. ovipneumoniae* chez les ovins.

Situation des mycoplasmoses inscrites sur la liste OIE

L'agent spécifique de la PPCB, recherché systématiquement, n'a été retrouvé sur aucune espèce animale, ni sur les bovins, hôtes habituels, ni sur des petits ruminants qui peuvent être un hôte occasionnel.

Trois types d'AC à *M. agalactiae* coexistent sur le territoire :

une ovine, limitée au bassin laitier de l'ouest des Pyrénées, en forte progression depuis 2006, une caprine évoluant de façon sporadique sur l'ensemble du territoire (onze foyers dispersés dans huit départements entre 2009-2013) et une « sauvage » découverte dans les Alpes suite à un épisode de mortalité liée à des bronchopneumonies dans les populations de bouquetins et de chamois. L'AC caprine à *Mmc*, *Mcc* ou *M. putrefaciens* s'avère très présente sur notre territoire. Elle est majoritairement due à *Mmc*, mais le taux annuel d'isolement de *Mcc* fluctue fortement (supérieur à *Mmc* en 2013). *M. putrefaciens*, moins fréquent, est essentiellement lié à des mammites. *Mmc* est également rencontré sporadiquement chez les bovins et ovins. Certaines cliniques sévères d'AC caprine sont très évocatrices de la PPCB. En raison des difficultés pour cultiver *Mccp* sur les milieux commerciaux, de tels foyers pourraient échapper à la surveillance. Aussi une information a été largement diffusée via Vigimyc, afin que tout foyer de pneumopathies graves accompagnées de fortes morbidité et mortalité chez des caprins soit signalé à l'Anses qui réalise alors un test PCR spécifique de la PPCB directement sur liquide pleural ou à partir de broyat de poumon sans enrichissement préalable. Ainsi entre 2009 et 2013, deux suspicions ont été enregistrées mais se sont révélées être dues à *Mmc*.

Situation des mycoplasmoses à *M. bovis*

M. bovis est le mycoplasme le plus fréquemment isolé chez les bovins en France mais essentiellement lors de pneumopathies, avec une prévalence globale estimée à 15% d'après une enquête ponctuelle en 2013 auprès des laboratoires Vigimyc. Les autres formes cliniques, mammites, arthrites et otites restent plus exceptionnelles. Seuls quatre foyers de mammites dispersées dans quatre départements ont été signalés entre 2009 et 2013. Cette incidence très faible à nulle ne semble pas être un biais de sous-estimation car une enquête par recherche systématique sur les laits de tank en région Rhône-Alpes avait conduit à la même conclusion (Arcangioli *et al.*, 2011). Les arthrites sont souvent associées aux pathologies respiratoires tandis que des foyers d'otites sporadiques commencent à être identifiés par Vigimyc (huit foyers dans trois départements entre 2009 et 2013).

Autres mycoplasmoses

M. ovipneumoniae était encore récemment peu isolé, même si la co-infection très fréquente avec *M. arginini*, un mycoplasme à croissance rapide pouvait masquer cette infection. Mais depuis 2010, sans modification des procédures, les isolements se sont multipliés en pathologie respiratoire des petits ruminants. Deux hypothèses sont avancées pour expliquer cette progression, soit une évolution des souches en cause, soit une modification dans le type de prélèvements recrutés. Ceux-ci proviennent aujourd'hui essentiellement d'agneaux mis en lot pour engraissement, cette concentration d'animaux favorisant une forte pression d'infection.

Deux espèces, *M. canis* et *M. alkalescens* ont émergé chez les bovins et connaissent une forte progression au Royaume-Uni et dans certains pays européens. On les suspecte d'intervenir en pathologie respiratoire et pour *M. alkalescens* également dans des arthrites, des mammites. Une étude rétrospective sur les anciennes collections de l'Anses a montré que ces mycoplasmes existaient en France depuis longtemps, les plus anciens isolements datant respectivement de 1965 et 1993. De plus on ne constate pas de progression notoire en France depuis dix ans.

Aucun isolat présentant un profil pouvant rappeler *M. leachii* n'a été détecté tant sur les bovins, les ovins ou les caprins.



Réseaux

Valorisation du matériel biologique généré par Vigimyc

Sans avoir l'ambition d'un centre de ressources biologiques, la collection de souches de mycoplasmes issues de Vigimyc constitue un échantillonnage de choix représentatif de la situation épidémiologique nationale au cours du temps et de la diversité biologique des mycoplasmes de ruminants. Elle permet non seulement la validation et le développement méthodologique, pour le diagnostic, la surveillance et l'épidémiologie moléculaire, mais également, plus en amont, pour l'analyse de l'évolution et des facteurs de virulence des mycoplasmes.

Développement et validation de techniques de détection et d'identification des mycoplasmes

Les évolutions constantes à la fois des souches et des techniques de diagnostic imposent en périphérie immédiate du réseau de valider régulièrement des méthodes de détection et d'identification des mycoplasmes. En effet, les performances de spécificité et d'universalité des techniques sont parfois remises en question dès lors qu'on les évalue sur des échantillonnages importants et diversifiés, comme ceux fournis par Vigimyc (Le Grand *et al.*, 2004; Marena *et al.*, 2005). Ces difficultés résultent de l'extrême plasticité des génomes de mycoplasmes (Marena, 2014) conduisant à une diversité parfois importante au sein des (sous)espèces et ce malgré à une proximité phylogénique parfois étroite. Par exemple, l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE) de séquences d'ARNr 16S amplifiées préalablement par PCR, une technique largement plébiscitée par nos collègues du Royaume-Uni comme nouvelle méthode universelle d'identification des mycoplasmes, s'est révélée, dans le contexte épidémiologique français plus complexe, insuffisamment discriminante pour certaines (sous) espèces très proches d'un point de vue phylogénétique (Tardy *et al.*, 2008). La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF, évaluée plus récemment, semble en revanche très prometteuse (Pereyre *et al.*, 2013). Cette technique permet l'identification des micro-organismes en comparant leur profil de protéines majoritaires à une bibliothèque de spectres de référence. La collection Vigimyc constitue un excellent outil pour vérifier régulièrement l'exhaustivité et l'exactitude de cette bibliothèque. Un effort régulier est porté également au développement de nouvelles techniques diagnostiques qui soient adaptées à l'épidémiologie nationale. Par exemple, une PCR en temps réel capable de détecter et d'identifier simultanément les quatre agents étiologiques de l'AC a été mise au point et portée au format kit commercial en partenariat avec un industriel (Becker *et al.*, 2012). Par ailleurs, une PCR à usage de vigilance sanitaire a été conçue pour distinguer sans ambiguïté *Mcc*, fréquemment isolé d'AC caprine, de *M. leachii*, et surtout de *Mccp*, l'agent de la PPCB par recherche directe à partir d'un spécimen clinique (Maigre *et al.*, 2008).

Sous-typage moléculaire des souches

Le sous-typage moléculaire peut être d'un apport majeur dans la connaissance épidémiologique et la gestion des maladies. La collection issue de Vigimyc est dans ce cas très utile pour comparer des souches d'époques, d'hôtes, de pathologies et de régions différentes. Par exemple, le sous-typage de différents isolats de *M. agalactiae* issus de notre collection, notamment par Multiple Locus Variable number of tandem repeat Analysis (MLVA) et macrorestriction suivie d'une analyse en champs pulsé (ECP), a permis de mieux comprendre l'AC à *M. agalactiae*

au niveau national. Il a été notamment établi que les différentes vagues, dont la plus récente, d'AC ovine dans le bassin laitier des Pyrénées étaient toutes des résurgences d'un même et unique clone implanté depuis au moins trente ans dans cette région à forte densité d'élevage (Nouvel *et al.*, 2012). A contrario, les souches de *M. agalactiae* isolées de foyers sporadiques caprins sont très diversifiées indiquant une enzootie ancienne diffuse sur le territoire. Plus récemment, les souches de *M. agalactiae* isolées de bouquetins des Alpes se sont avérées i) très proches entre elles mais ii) différentes des souches responsables historiquement d'une AC domestique chez les caprins dans les mêmes vallées de Savoie et iii) atypiques par rapport à toutes les souches domestiques connues à ce jour, signant une enzootie probablement ancienne propre aux ongulés sauvages (Tardy *et al.*, 2012).

Dans l'AC caprine à *Mmc* le portage et l'excrétion asymptomatique semblent fréquents, l'oreille externe chez la chèvre constituant une niche privilégiée où cohabitent plusieurs souches, voire espèces, de mycoplasmes (Mercier *et al.*, 2007). Une série d'enquêtes réalisées en partenariat avec l'Anses (laboratoire de Niort) a permis d'estimer la prévalence de ce portage et de recruter des souches non accessibles par Vigimyc. Pour des troupeaux sans historique connu de mycoplasme, en moyenne 8% des animaux sont porteurs de *Mmc* dans l'oreille externe et 5% des laits de tank sont positifs pour *Mmc* (Tardy *et al.*, 2007). Un sous-typage de différentes souches de *Mmc* par ECP et micro restriction suivie d'une analyse en Southern Blot du profil des séquences d'insertion a montré 1) un très important polymorphisme des souches d'oreilles, 2) la coexistence de plusieurs clones chez les animaux sains ou dans des troupeaux sans clinique associée et, en revanche, 3) la circulation d'un clone unique lors d'un épisode pathologique. Pour autant, aucune différence n'a pu être identifiée entre les souches de portage et les souches de foyers cliniques issues de Vigimyc, tant génétiquement que sur leur potentiel de virulence expérimentale (Tardy *et al.*, 2010). Ainsi, les mycoplasmoses à *Mmc* chez la chèvre apparaîtraient comme des infections enzootiques latentes avec l'émergence sporadique de souches pathogènes. Dans ces conditions, l'application d'une prophylaxie exclusivement sanitaire semble vouée à l'échec (Tardy *et al.*, 2007).

De par son mode de fonctionnement actuel, Vigimyc constitue un très bon observatoire de l'évolution des souches d'un point de vue antigénique et/ou génétique. La caractérisation détaillée des souches atypiques est essentielle pour maintenir une vigilance sanitaire qui prenne en compte la diversité génomique des souches et leur évolution ainsi que l'émergence de nouvelles espèces ou variants. Récemment, une souche isolée à partir d'un échantillon clinique d'arthrite caprine, réagissait avec l'anticorps monoclonal spécifique de *Mmm*, l'agent de la PPCB. Elle s'est avérée après expertise moléculaire appartenir à l'espèce *Mmc*. Cette réaction croisée était alarmante sachant que la chèvre pourrait être un réservoir occasionnel de PPCB et aurait pu mettre en doute la fiabilité du test de dépistage sérologique recommandé pour la PPCB qui est basé sur un ELISA compétition utilisant l'épitope cible de ce monoclonal. Une étude de la variabilité de la région codant l'épitope dans un ensemble de souches de *Mmc* nous a permis de montrer que la probabilité d'apparition de clones faussement positifs est très rare et aléatoire (Tardy *et al.*, 2011) et donc ne remet pas en cause la fiabilité de dépistage, ni la stratégie de surveillance par Vigimyc en France.



Réseaux

Antibiosensibilité

Contrairement à de nombreuses autres bactéries pathogènes des ruminants, les mycoplasmes échappent aux divers réseaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques dans la mesure où l'évaluation de leur antibiosensibilité fait appel à des techniques spécifiques non déployées en routine par les laboratoires partenaires. Pour autant, sur le terrain il est régulièrement rapporté des échecs thérapeutiques avec évolution vers la chronicité. Ce constat nous a conduit à utiliser les souches de Vigimyc pour faire le point sur le niveau de sensibilité actuel des souches de mycoplasmes.

La première espèce testée a été *M. bovis* qui intervient fréquemment dans les bronchopneumonies infectieuses enzootiques (BPIE) du veau, une pathologie multifactorielle forte consommatrice d'antibiotiques et pour laquelle aucune évaluation exhaustive n'avait été réalisée en France depuis 20 ans. Grâce à notre collection de souches, en partie issue de Vigimyc, nous avons pu comparer les concentrations minimales inhibitrices de divers antibiotiques d'usage vétérinaire susceptibles d'être actifs sur les mycoplasmes vis à vis de 27 isolats anciens (1978-1979) et 46 isolats récents (2010-2012) de *M. bovis* issus de 73 foyers distincts de BPIE dispersés sur l'ensemble de la France (Gautier-Bouchardon *et al.*, 2014). Une perte de sensibilité statistiquement représentative a été prouvée vis-à-vis de huit antibiotiques et ce pour 100% des souches contemporaines. Ainsi, si on se réfère aux valeurs critiques admises pour les bactéries pathogènes de la sphère respiratoire chez les bovins, toutes les souches contemporaines

seraient classées « résistantes » aux macrolides, tétracyclines, spectinomycine, florfenicol et « intermédiaires » pour les fluoroquinolones. Sachant que les mycoplasmes sont naturellement résistants à l'ensemble des antibiotiques actifs sur la paroi (beta-lactamines et glycopeptides) l'arsenal thérapeutique vis-à-vis des mycoplasmoses à *M. bovis* se trouverait extrêmement restreint.

Le niveau de base des résistances des autres espèces mycoplasmaïques aux différents antibiotiques en usage à ce jour est en cours.

Exploitation de la diversité des souches pour la connaissance du genre *Mycoplasma*

La collection de souches issues de Vigimyc alimente un certain nombre de projets de recherche questionnant l'évolution des mycoplasmes, les frontières entre espèces, la virulence des souches, etc. En retour, les informations obtenues permettent d'adapter notre surveillance microbiologique des mycoplasmoses.

Pour exemple, le projet Evolmyco (ANR-07-GMGE-001), a permis de mettre à la disposition de la communauté scientifique, vingt séquences de génomes de mycoplasmes de ruminants supplémentaires, parmi lesquels huit correspondent à des souches issues de la collection Vigimyc (Dordet-Frisoni *et al.*, 2013; Dupuy *et al.*, 2013; Manso-Silvan *et al.*, 2013; Tardy *et al.*, 2012). Les premiers résultats de génomique comparative bousculent les bases actuelles de la mycoplasmiologie et montrent que très peu de familles de gènes distinguent clairement les souches selon leur pathogénicité ou leur hôte.

Tableau 1. Bilan chiffré du réseau Vigimyc sur la période 2009-2013 : nombre de foyers traités, espèces animales étudiées, types d'animaux et fréquence des différentes pathologies rencontrées

	Hôtes			
	Bovins	Caprins	Ovins	Faune sauvage
Volume d'analyses et origine des souches				
Nombre de départements d'origine des prélèvements	62	55	34	1
Nombre d'isolats analysés	856	725	237	120
Nombre de foyers	735	511	192	89
Répartition des prélèvements en fonction de l'âge de l'hôte animal en %				
Animaux adultes	7	71	18	80
Jeunes animaux	76	18	57	5
Animaux d'âge non connu	17	11	25	15
Répartition des prélèvements par type de pathologies en % (Pathologie présente seule ou en association à d'autres signes cliniques)				
Pathologie respiratoire	89	24	68	32
Mammite	2	36	2	0
Arthrite	2	15	2	0
Otite	1	0	0	0
Septicémie	0	2	0	0
Avortement	0	0	3	0
Pathologie oculaire	0	0	3	4
Pathologie inconnue	5	19	20	21
Suivi sanitaire	0	0	0	43
Aucune pathologie	1	4	2	0



Réseaux

De plus l'existence d'importants transferts horizontaux de gènes (HGT) entre espèces éloignées mais partageant la même niche écologique ont été prédites *in silico* (Sirand-Pugnet *et al.*, 2007), remettant en cause le dogme d'une évolution essentiellement régressive des mycoplasmes, par perte massive de gènes. Notre collection de souches nous a permis de rechercher les vecteurs potentiels de ces HGT. Si les plasmides constituent des contributeurs mineurs aux HGT (Breton *et al.*, 2012), les Eléments Conjugatifs intégratifs (ICEs) semblent bien plus prometteurs et leurs transferts inter souches ont été récemment reproduits *in vitro* (Dordet Frisoni *et al.*, 2013). Aujourd'hui, les mycoplasmes apparaissent comme des mosaïques génétiques

(Marenda, 2014). Nous avons ainsi montré que l'espèce *M. leachii* était en fait une chimère génomique entre l'espèce *capricolum* et l'espèce *mycoides* et constituait un excellent exemple du continuum génétique existant entre les souches au delà des frontières d'espèces (Tardy *et al.*, 2009). Ce nouveau concept pourrait remettre en question la notion d'espèce elle-même et donc la taxonomie sur laquelle se fonde, à ce jour, le diagnostic des mycoplasmoses animales. Dans ces conditions, le diagnostic devrait évoluer plutôt vers une approche globale des pathologies à mycoplasmes avec la recherche de marqueurs de virulence trans-taxon.

Tableau 2. Distribution des 2105 isolats (en prenant en compte les mélanges d'espèces) identifiés entre 2009 et 2013 en fonction de l'espèce animale

(sous)-espèce de mycoplasme	Hôte animal								Total n
	Bovins (n=1029)		Caprins (n=703)		Ovins (n=275)		Bouquetins (n=98)		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Pathogènes									
<i>M. agalactiae</i>	0		29		2		16	16,3	47
<i>M. bovis</i>	488	47,4	0		1		0		489
<i>M. capricolum subsp. capricolum</i>	0		192	27,3	0		1		193
<i>M. capricolum subsp. capripneumoniae</i>	0		0		0		0		0
<i>M. leachii</i>	0		0		0		0		0
<i>M. mycoides subsp. capri</i>	5		288	41,0	6		0		299
<i>M. mycoides subsp. mycoides</i>	0		0		0		0		0
<i>M. putrefaciens</i>	0		85		0		1		86
Au pouvoir pathogène incertain									
<i>M. alkalescens</i>	34		0		0		0		34
<i>M. canadense</i>	13		0		0		0		13
<i>M. canis</i>	5		0		0		0		5
<i>M. conjunctivae</i>	0		0		6		0		6
<i>M. feriruminatoris subsp. nov.</i>	0		0		0		72	73,5	72
<i>M. ovipneumoniae</i>	0		24		78	28,4	0		102
Opportunistes									
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	3		1		0		0		4
<i>M. arginini</i>	121		75		180	65,5	6		382
<i>M. auris</i>	0		3		0		2		5
<i>M. bovigenitalium</i>	10		1		2		0		13
<i>M. bovirhinis</i>	350	34,0	0		0		0		350
<i>M. edwardii</i>	0		1		0		0		1
<i>M. yeatsii</i>	0		4		0		0		4

n=nombre d'isolats ; %=proportion d'isolats par hôte animal (la proportion est donnée seulement pour les deux (sous)-espèces les plus fréquentes).



Sommaire

Point de vue

Méthodes

Focus

Réseaux

Agenda



Réseaux

Conclusion

Le réseau Vigimyc est original au niveau européen, n'ayant d'équivalent qu'au Royaume-Uni. Au terme d'une décennie d'existence, Vigimyc, a largement rempli son premier objectif, celui de faire le point sur la situation épidémiologique des mycoplasmoses réglementées et économiquement délétères au niveau national chez les ruminants. De part son fonctionnement actuel, par un abord global de l'ensemble des mycoplasmes et des mycoplasmoses, il est parfaitement adapté aux évolutions futures en matière de diagnostic et de surveillance. Le point fort des dernières années se situe surtout dans l'effort de valorisation de la collection de souches générée par Vigimyc. Très probablement c'est dans ce sens que Vigimyc va renforcer son action, en redéployant son activité de diagnostic vers les laboratoires périphériques, évolution rendue possible grâce aux innovations technique récentes.

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des laboratoires partenaires de Vigimyc, l'équipe technique de Vigimyc à l'Anses et notamment Patrice Cuchet et Véronique Lefriand et également Jean-Luc Vinard pour la conception et le développement de la base de données de Vigimyc.

Bibliographie

Arcangioli, M., Chazel, M., Sellal, E., Botrel, M., Bezille, P., Poumarat, F., Calavas, D., Le Grand, D., 2011. Prevalence of *Mycoplasma bovis* udder infection in dairy cattle: Preliminary field investigation in southeast France. *New Zealand Veterinary Journal* 59, 75-78.

Becker, C.A., Ramos, F., Sellal, E., Moine, S., Poumarat, F., Tardy, F., 2012. Development of a multiplex real-time PCR for contagious agalactia diagnosis in small ruminants. *Journal of microbiological methods* 90, 73-79.

Breton, M., Tardy, F., Dordet-Frisoni, E., Sagne, E., Mick, V., Renaudin, J., Sirand-Pugnet, P., Citti, C., Blanchard, A., 2012. Distribution and diversity of mycoplasma plasmids: lessons from cryptic genetic elements. *BMC microbiology* 12, 257.

Chazel, M., Tardy, F., Le Grand, D., Calavas, D., Poumarat, F., 2010. Mycoplasmoses of ruminants in France: recent data from the national surveillance network. *BMC Veterinary Research* 6, 32.

Dordet-Frisoni, E., Baranowski, E., Barre, A., Blanchard, A., Breton, M., Couture, C., Dupuy, V., Gaurivaud, P., Jacob, D., Lemaitre, C., Manso-Silvan, L., Nikolski, M., Nouvel, L.X., Poumarat, F., Sirand-Pugnet, P., Thebault, P., Theil, S., Thiaucourt, F., Citti, C., Tardy, F., 2013. Draft genome sequences of *Mycoplasma auris* and *Mycoplasma yeatsii*, two species of the ear canal of caprinae. *Genome announcements* 1.

Dordet Frisoni, E., Marena, M.S., Sagne, E., Nouvel, L.X., Guerillot, R., Glaser, P., Blanchard, A., Tardy, F., Sirand-Pugnet, P., Baranowski, E., Citti, C., 2013. ICEA of *Mycoplasma agalactiae*: a new family of self-transmissible integrative elements that confers conjugative properties to the recipient strain. *Molecular microbiology* 89, 1226-1239.

Dupuy, V., Sirand-Pugnet, P., Baranowski, E., Barre, A., Breton, M., Couture, C., Dordet-Frisoni, E., Gaurivaud, P., Jacob, D., Lemaitre, C., Manso-Silvan, L., Nikolski, M., Nouvel, L.X., Poumarat, F., Tardy, F., Thebault, P., Theil, S., Citti, C., Blanchard, A., Thiaucourt, F., 2013. Complete genome sequence of *Mycoplasma putrefaciens* strain 9231, one of the agents of contagious agalactia in goats. *Genome announcements* 1.

Gautier-Bouchardon, A.V., Ferre, S., Le Grand, D., Paoli, A., Gay, E., Poumarat, F., 2014. Overall decrease in the susceptibility of *Mycoplasma bovis* to antimicrobials over the past 30 years in France. *PLoS one* 9, 1-9, e87672.

Le Grand, D., Saras, E., Blond, D., Solsona, M., Poumarat, F., 2004. Assessment of PCR for routine identification of species of the *Mycoplasma mycoides* cluster in ruminants. *Veterinary Research* 35, 635-649.

Maigre, L., Citti, C., Marena, M., Poumarat, F., Tardy, F., 2008. Suppression-subtractive hybridization as a strategy to identify taxon-specific sequences within the *Mycoplasma mycoides* cluster: design and validation of an *M. capricolum* subsp. *capricolum*-specific PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology* 46, 1307-1316.

Manso-Silvan, L., Tardy, F., Baranowski, E., Barre, A., Blanchard, A., Breton, M., Couture, C., Citti, C., Dordet-Frisoni, E., Dupuy, V., Gaurivaud, P., Jacob, D., Lemaitre, C., Nikolski, M., Nouvel, L.X., Poumarat, F., Thebault, P., Theil, S., Thiaucourt, F., Sirand-Pugnet, P., 2013. Draft genome sequences of *Mycoplasma alkalescens*, *Mycoplasma arginini*, and *Mycoplasma bovis genitalium*, three species with equivocal pathogenic status for cattle. *Genome announcements* 1.

Marena, M. 2014. Genomic Mosaics. In: Browning, G.F., Citti, C. (Eds.) *Mollicutes: molecular biology and pathogenesis*. Caister Academic Press, Norfolk, UK, 2-15.

Marena, M.S., Sagne, E., Poumarat, F., Citti, C., 2005. Suppression subtractive hybridization as a basis to assess *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* genomic diversity and species-specific sequences. *Microbiology* 151, 475-489.

Mercier, P., Pellet, M.P., Mornat, E., Calavas, D., Poumarat, F., 2007. Prevalence of mycoplasmas in external ear canal of goats: influence of the sanitary status of the herd. *Small Ruminant Research* 73, 296-299.

Nouvel, L.X., Marena, M.S., Glew, M.D., Sagne, E., Giammarinaro, P., Tardy, F., Poumarat, F., Rosengarten, R., Citti, C., 2012. Molecular typing of *Mycoplasma agalactiae*: tracing european-wide genetic diversity and an endemic clonal population. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*.

Pereyre, S., Tardy, F., Renaudin, H., Cauvin, E., Del Pra Netto Machado, L., Tricot, A., Benoit, F., Treilles, M., Bebear, C., 2013. Identification and subtyping of clinically relevant human and ruminant mycoplasmas by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology* 51, 3314-3323.

Poumarat, F., Perrin, B., Longchambon, D., 1991. Identification of ruminant mycoplasma by dot-immunobinding on membrane filtration (MF dot). *Veterinary Microbiology* 29, 329-338.

Sirand-Pugnet, P., Lartigue, C., Marena, M., Jacob, D., Barré, A., Barbe, V., Schenowitz, C., Mangelot, S., Couloux, A., Segurens, B., de Daruvar, A., Blanchard, A., Citti, C., 2007. Being pathogenic, plastic, and sexual while living with a nearly minimal bacterial genome. *PLoS Genetics* 3, e75.

Tardy, F., Baranowski, E., Nouvel, L.X., Mick, V., Manso-Silvan, L., Thiaucourt, F., Thebault, P., Breton, M., Sirand-Pugnet, P., Blanchard, A., Garnier, A., Gibert, P., Game, Y., Poumarat, F., Citti, C., 2012. Emergence of atypical *Mycoplasma agalactiae* strains harbouring a new prophage and associated with a mortality episode of Alpine wild-ungulates. *Applied and Environmental Microbiology* 78, 4659-4668.

Tardy, F., Gaurivaud, P., Manso-Silvan, L., Thiaucourt, F., Pellet, M.P., Mercier, P., Le Grand, D., Poumarat, F., 2011. Extended surveillance for CBPP in a free country: challenges and solutions regarding the potential caprine reservoir. *Preventive Veterinary Medicine* 101, 89-95.

Tardy, F., Gaurivaud, P., Tricot, A., Maigre, L., Poumarat, F., 2008. Epidemiological surveillance of mycoplasmas belonging to the '*Mycoplasma mycoides*' cluster: is DGGE fingerprinting of 16S rRNA genes suitable? *Letters in Applied Microbiology* 48, 210-217.

Tardy, F., Maigre, L., Poumarat, F., Citti, C., 2009. Identification and distribution of genetic markers in three closely related taxa of the *Mycoplasma mycoides* cluster: refining the relative position and boundaries of the *Mycoplasma sp. bovine* group 7 taxon (*Mycoplasma leachii*). *Microbiology* 155, 3775-3787.

Tardy, F., Maigre, L., Tricot, A., Poumarat, F., Nguyen, L., Le Grand, D., 2010. Comparison of isolates of *Mycoplasma mycoides* subspecies capri from asymptomatic and septicaemic goats. *Journal of Comparative Pathology* 144, 70-77.

Tardy, F., Mercier, P., Solsona, M., Saras, E., Poumarat, F., 2007. *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype large colony isolates from healthy and diseased goats: prevalence and typing. *Veterinary Microbiology* 121, 268-277.