



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 17669

To cite this version :

Fagot, Mathieu. *Importance de mycoplasma hyorhinis dans les co-infections bactériennes respiratoires profondes du porc a l'engrais : étude comparative préliminaire dans des élevages avec et sans maladies respiratoires cliniques*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 140 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

IMPORTANCE DE *MYCOPLASMA HYORHINIS* DANS LES CO-INFECTIONS BACTÉRIENNES RESPIRATOIRES PROFONDES DU PORC À L'ENGRAIS : ÉTUDE COMPARATIVE PRÉLIMINAIRE DANS DES ÉLEVAGES AVEC ET SANS MALADIES RESPIRATOIRES CLINIQUES

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

FAGOT Mathieu

Né, le 5 avril 1988 à HARFLEUR (76)

Directeur de thèse : M. Guy-Pierre MARTINEAU

JURY

PRESIDENT :
M. Éric OSWALD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Guy-Pierre MARTINEAU
Mme Agnès WARET-SZKUTA

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :
Mme Mathilde PAUL
M. Gino SCIMIA

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Responsable Vétérinaire National Gamme Porc, Zoetis

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : M. A. MILON

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M. **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

Au Président de thèse,

Monsieur le Professeur Eric OSWALD

DVM, PhD

Laboratoire de Bactériologie- Hygiène, CHU Toulouse-Purpan
INSERM UMR 1043 – CNRS UMR 5282 – Université Toulouse III
USC INRA

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse, veuillez accepter mes respectueux hommages.

Au jury de thèse,

Monsieur le Professeur Guy-Pierre MARTINEAU

Professeur de classe exceptionnelle – Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour

Pour m'avoir suivi et encadré tout au long de ce projet, pour votre soutien et vos précieux conseils dans la réalisation de ce travail, veuillez accepter mes sincères remerciements.

Madame le Docteur Agnès WARET-SZKUTA

Maître de conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Production et pathologie porcine

Pour ton aide, ton soutien, tes conseils avisés et le temps que tu m'as consacré, je te prie d'accepter mes sincères remerciements.

Madame le Docteur Mathilde PAUL

Maître de conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins

Pour ton aide, ta patience, ton soutien et tes précieux conseils qui m'ont permis de démarrer, d'avancer et de terminer ce projet, je te prie d'accepter mes sincères remerciements.

Au membre invité,

Monsieur le Docteur Gino SCIMIA

Responsable Vétérinaire National Gamme Porc, Zoetis

Pour m'avoir permis de réaliser ce projet et m'avoir accompagné, suivi et guidé sur le terrain et en dehors, je te prie d'accepter mes sincères remerciements.

À tous les vétérinaires du Réseau Cristal, impliqués de près ou de loin dans ce projet,

Dominique Marchand, Dominique Descamps, Vincent Müller, Marie Retureau, Hugues Perrin, Audrey Guillemet, Ludovic Lecarpentier, Jeanne Dupuis, David Perroz, Laurent Werner, Laurence Goureau, Patrick Bourguignon, Jérôme Houlbert, Olivier Maniaval, Benoît Gobeaux, Vincent Chamoulaud, Patrice Naval, Michel Le Nard.

**À Corinne Marois, Véronique Tocqueville
et l'ANSES - Laboratoire de Ploufragan-Plouzané**

Pour votre participation à cette étude, l'analyse de ses nombreux échantillons et votre aide tout au long de ce travail

À tous les éleveurs qui ont accepté de participer à cette étude

Le GAEC de la Glinais, la SARL Mahé, la SCEA du Pont des Champs, M.Gautier René-Marc, le GAEC des Granges, la SCEA Annic, la SCEA Le Dily, l'EARL Vivier, l'EARL Van de Broeck, la SARL Gougeon, l'EARL de la Pontais, la SCEA de la Métairie Neuve, l'EARL Porcine de Trédion, M. Toublanc André.

Merci à tous de m'avoir permis de réaliser ce projet.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	5
TABLE DES ABREVIATIONS	15
TABLE DES ILLUSTRATIONS	16
INTRODUCTION	21
1. Etude bibliographique : Mycoplasma hyorhinis et la pathologie respiratoire en élevage porcin.....	23
1.1. La pathologie respiratoire porcine, une entité multifactorielle complexe	25
1.1.1. L'écosystème porcin, entre pression microbienne et capacité de défense de l'organisme.....	25
1.1.2. Facteurs de risque non infectieux.....	26
1.1.2.1. L'aire de vie.....	26
1.1.2.2. Températures et écarts de températures.....	26
1.1.2.3. Qualité de la ventilation	27
1.1.2.4. Qualité de l'air.....	27
1.1.2.5. Conduite hygiénique.....	28
1.1.2.6. Renouvellement du cheptel.....	28
1.1.2.7. Situation géographique de l'élevage	29
1.1.2.8. Autres facteurs de risque non infectieux.....	29
1.1.3. Facteurs de risque infectieux.....	29
1.1.3.1. Principaux agents responsables	29
1.1.3.2. Les entités respiratoires « classiques »	30
1.2. Les co-infections dans la pathologie respiratoire porcine.....	32
1.2.1. Classification des différents agents pathogènes respiratoires.....	32
1.2.1.1. Agents « primaires » et « secondaires » / « initiateurs » et « suiveurs » ^[85]	32
1.2.1.2. Importance relative des principaux agents pathogènes respiratoires	32
1.2.2. Le PRDC	33
1.2.2.1. Définition	33
1.2.2.2. Epidémiologie.....	33
1.2.2.3. Mécanisme d'apparition.....	34
1.2.2.4. Facteurs impliqués dans le PRDC.....	34
1.2.2.5. Les co-infections dans le PRDC	37
1.2.2.6. Limites dans l'interprétation des résultats d'analyses sur poumons.....	38
1.3. Mycoplasma hyorhinis : agent de polysérosite et de pneumonie ?.....	40
1.3.1. Etiologie.....	40
1.3.2. Epidémiologie	41
1.3.2.1. Localisation.....	41
1.3.2.2. Elevages cibles.....	41
1.3.2.3. Animaux cibles	41
1.3.2.4. Transmission.....	42
1.3.2.5. Prévalence.....	42
1.3.2.6. Dynamique de colonisation	42
1.3.2.7. Facteurs de risque de transmission	43
1.3.3. Pathogénie.....	43

1.3.3.1.	Dissémination systémique.....	43
1.3.3.2.	Interactions avec l'hôte	43
1.3.3.3.	Pouvoir pathogène	43
1.3.3.4.	Implication de M.hyorhivis dans la pathologie respiratoire	43
1.3.3.5.	Facteurs favorisants.....	44
1.3.4.	Signes cliniques.....	44
1.3.4.1.	Symptômes	45
1.3.4.2.	Lésions	46
1.3.5.	Diagnostic	47
1.3.5.1.	Diagnostic direct.....	47
1.3.5.2.	Diagnostic indirect.....	50
1.3.5.3.	Quand prélever ?	50
1.3.6.	Les co-infections impliquant M.hyorhivis	50
1.3.6.1.	Co-infection avec le SDRPv	51
1.3.6.2.	Co-infection avec S.suis	51
1.3.6.3.	Co-infection avec H.parasuis	51
1.3.6.4.	Co-infection avec P.multocida	51
1.3.7.	Traitement et vaccination	51
1.3.7.1.	Sensibilité et résistance de M.hyorhivis aux traitements antibiotiques	51
1.3.7.2.	Mise en place du traitement	52
1.3.7.3.	Vaccination.....	52
1.3.8.	Contrôle de l'infection à M.hyorhivis	52

2. Etude comparée de la fréquence d'isolement de Mycoplasma hyorhivis en élevage porcin dans l'ouest de la France..... 53

1.1.	Contexte de l'étude expérimentale	55
1.1.1.	Point de départ de l'étude	55
1.1.2.	Position actuelle des vétérinaires face à M.hyorhivis	55
1.1.3.	Objectifs et principes de l'étude.....	56
1.2.	Matériel et méthodes	56
1.2.1.	Matériel.....	56
1.2.1.1.	Répartition géographique des élevages inclus dans l'étude.....	56
1.2.1.2.	Description des élevages « cas » et des troubles sanitaires.....	58
1.2.1.3.	Description des élevages « témoins » et des troubles sanitaires	66
1.2.1.4.	Les animaux.....	71
1.2.2.	Méthodes.....	72
1.2.2.1.	Protocole expérimental.....	72
1.2.2.2.	Techniques de prélèvement.....	74
1.2.2.3.	Traitement statistique des données	76
1.2.2.4.	Détection des agents pathogènes.....	77
1.3.	Résultats.....	79
1.3.1.	Etude de la fréquence d'isolement de M.hyorhivis en élevages porcins.....	79
1.3.1.1.	Fréquence d'isolement de M.hyorhivis dans les élevages étudiés	79
1.3.1.2.	Comparaison des fréquences d'isolement globales entre animaux cliniques et animaux non cliniques	80
1.3.1.3.	Comparaison des fréquences d'isolement entre animaux cliniques et animaux non cliniques dans les élevages cas	82
1.3.2.	Etude des co-infections impliquant M.hyorhivis.....	84
1.3.2.1.	Etude globale des co-infections impliquant M.hyorhivis	84

1.3.2.2. Etude comparée des co-infections impliquant M.hyorhinis entre élevages « cas » et élevages « témoins ».....	85
1.3.2.3. Les co-infections impliquant M.hyorhinis chez les animaux présentant des signes cliniques	85
1.4. Discussion.....	86
1.4.1. Choix des élevages et des animaux.....	86
1.4.1.1. Choix des élevages	86
1.4.1.2. Sélection des animaux.....	87
1.4.2. Limites dans l'interprétation des résultats.....	87
1.4.2.1. Techniques de prélèvements et interprétation des résultats.....	87
1.4.2.2. Confirmation des résultats.....	88
1.4.3. Comparaison des fréquences d'isolement des quatre agents étudiés.....	88
1.4.3.1. Fréquences d'isolement globales	88
1.4.3.2. Interprétation des isoléments bactériens sur la santé respiratoire	89
1.4.4. Implication de M.hyorhinis dans les co-infections et dans le PRDC	89
1.4.5. Contribution sur la dynamique d'infection de M.hyorhinis.....	89
1.4.6. Méthodes d'évaluation de la santé respiratoire du porc	90
1.4.7. Choix de la technique de prélèvement.....	90
1.4.7.1. Réalisation pratique de l'acte.....	91
1.4.7.2. Réalisation du prélèvement et matériel prélevé	91
1.4.7.3. Sites de prélèvements	91
1.4.7.4. Contamination des prélèvements	92
1.4.7.5. Sensibilité et spécificité des deux techniques de prélèvements.....	92
<u>CONCLUSION</u>	93
ANNEXE 1 : Rappels anatomiques et fonctionnels de l'appareil respiratoire des porcs	97
ANNEXE 2 : Enjeux de la pathologie respiratoire en élevage porcin	103
ANNEXE 3 : Principales entités cliniques respiratoires du porc	108
ANNEXE 4 : Principe de la PCR	109
ANNEXE 5 : Résultats des analyses PCR des élevages « cas »	111
ANNEXE 6 : Résultats des analyses des élevages « témoins »	119
ANNEXE 7 : Comparaison des méthodes de prélèvement - lavage trachéo-bronchique VS écouvillon trachéo-bronchique	122
ANNEXE 8 : Evaluation of the performances of two sampling methods for qPCR detection of mycoplasmas in live pigs using a Bayesian approach	126
<u>REFERENCES</u>	127

TABLE DES ABRÉVIATIONS

°C : degré Celsius
ADN : Acide Désoxyribo-nucléique
AFSSA : Agence Française de sécurité sanitaire des aliments
A. pleuropneumoniae : *Actinobacillus pleuropneumoniae*
App : *Actinobacillus pleuropneumoniae*
ARNr16S : sous-unité 16S de l'Acide Ribo-Nucléique ribosomal
BAL : Lavage broncho-alvéolaire
BALT : bronchus-associated lymphoid tissue (tissu lymphoïde associé aux bronches)
BPE : Bronchopneumonie Enzootique du Porc
caud : caudal
cm : centimètre
cran : crânial
CrI : credibility interval of posterior distribution
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GMQ : Gain Moyen Quotidien
GTE : Gestion Technico-Economique
H₂S : sulfure d'hydrogène
H.parasuis : *Haemophilus parasuis*
Hps : *Haemophilus parasuis*
IC : Indice de consommation
Ig : immunoglobuline
IL : interleukine
INF : interféron
kb : kilobase
LDA : Laboratoire départemental d'analyses
m : mètre
M.flocculare : *Mycoplasma flocculare*
Mhp : *Mycoplasma hyopneumoniae*
Mhr : *Mycoplasma hyorhinis*
M.hyo : *Mycoplasma hyopneumoniae*
M.hyorh : *Mycoplasma hyorhinis*
M.hyorhinis : *Mycoplasma hyorhinis*
MAP : Maladie d'Amaigrissement du Porcelet
mg : milligramme
mm : millimètre
mpm : mouvements par minute
MRC : Maladie Réputée Contagieuse
PCAD : Porcine Circovirus associated disease
PCR : Polymerase Chain Reaction
PCV2 : Porcine Circovirus 2
P.multocida : *Pasteurella multocida*
Pmult : *Pasteurella multocida*
ppm : partie par million
PRDC : Porcine Respiratory Disease Complex = complexe des maladies respiratoires porcines
PS : post-sevrage
SDRP : Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin
Se : sensibilité
SIV : swine Influenza virus
SPF : Specific Pathogen Free
Sp : spécificité
Spp : species pluralis
S.suis : *Streptococcus suis*
µm : micromètre

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

<u>FIGURE 1</u> : REPRESENTATION DES FACTEURS DE RISQUE AUTOUR DE L'ECOSYSTEME PORCIN ^[42]	25
<u>FIGURE 2</u> : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA BALANCE ENTRE PRESSION MICROBIENNE ET CAPACITE DE DEFENSE PULMONAIRE ET L'IMPLICATION DES DIFFERENTS FACTEURS DE RISQUE. ^[42]	26
<u>FIGURE 3</u> : BILAN DES MECANISMES ET DE L'APPARITION DES INFECTIONS VIRALES OU BACTERIENNES DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE DANS LE DEVELOPPEMENT DU PRDC ^[95]	34
<u>FIGURE 4</u> : COLONISATION DE L'APPAREIL MUCOCILIAIRE DU NASOPHARYNX PAR <i>M.HYORHINIS</i> ^[122]	40
<u>FIGURE 5</u> : DYNAMIQUE DE COLONISATION NASALE DE <i>M.HYORHINIS</i> EN ELEVAGE PORCIN. ^[26]	42
<u>FIGURE 6</u> : ŒDEME VENTRAL CHEZ UN PORCELET EN PS ^[85]	45
<u>FIGURE 7</u> : PORC EN « CHIEN ASSIS » ^[85]	45
<u>FIGURE 8</u> : CONJONCTIVITE CHEZ LE PORC ^[85]	45
<u>FIGURE 9</u> : LESIONS DE POLYSEROSITES A <i>M.HYORHINIS</i> : PLEURESIE CHRONIQUE (A. ET B.) / PERITONITE (C.) ^[85]	46
<u>FIGURE 10</u> : EROSION ARTICULAIRE OBSERVEE DANS LES STADES CHRONIQUES D'INFECTION PAR <i>M.HYORHINIS</i> . ^[65]	47
<u>FIGURE 11</u> : COLONIES DE <i>M.HYORHINIS</i> (EN « ŒUF AU PLAT »)	48
<u>FIGURE 12</u> : SUIVI SEROLOGIQUE DE L'INFECTION A <i>M.HYORHINIS</i> ^[117]	50
<u>FIGURE 13</u> : REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES ELEVAGES INCLUS DANS L'ETUDE (ROUGE : ELEVAGES « CAS » / BLEU : ELEVAGES « TEMOINS »)	56
<u>FIGURE 14</u> : TECHNIQUE DE L'ECOUVILLONNAGE TRACHEO-BRONCHIQUE (1. CONTENTION ET MISE EN PLACE DU PAS D'ANE/ 2. INTRODUCTION DU CATHETER DANS LA TRACHEE / 3. RECUPERATION DE L'EXTREMITE DISTALE DU CATHETER)	75
<u>FIGURE 15</u> : TECHNIQUE DU LAVAGE TRACHEO-BRONCHIQUE (1. CONTENTION ET MISE EN PLACE DU PAS D'ANE/ 2. INTRODUCTION DU CATHETER DANS LA TRACHEE / 3. INTRODUCTION DU CATHETER (COMBICATH) DANS LE CATHETER DE PLUS GROS DIAMETRE / 4. INJECTION DE 20 mL DE SOLUTION SALINE A 0,9% PUIS REASPIRATION IMMEDIATE)	76
<u>FIGURE 16</u> : FREQUENCE DES CO-INFECTIONS IMPLIQUANT <i>M.HYORHINIS</i> DANS TOUS LES ELEVAGES (40 MHR + / 217 PRELEVEMENTS)	84
<u>FIGURE 17</u> : FREQUENCE DES CO-INFECTIONS IMPLIQUANT <i>M.HYORHINIS</i> DANS LES ELEVAGES TEMOINS (N=8) ET DANS LES ELEVAGES CAS (N=32)	85
<u>FIGURE 18</u> : FREQUENCE DES CO-INFECTIONS MISES EN EVIDENCE SUR LES ANIMAUX CAS MHR+ (N=19)	85
<u>FIGURE 19</u> : COMPARAISON DES FREQUENCES D'ISOLEMENT DE <i>M.HYORHINIS</i> SELON LA TECHNIQUE DE PRELEVEMENTS.	87

FIGURE 20 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU PRELEVEMENT DE MUCUS A PARTIR DE LAVAGES TRACHEO-BRONCHIQUES (GAUCHE) ET D'ECOUVILLONNAGE TRACHEO-BRONCHIQUES (DROITE).	91
FIGURE 21 : NARINES ET GROIN DE PORC ^[100]	97
FIGURE 22 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE EN COUPE DE LA TRACHEE DU PORC ^[100]	98
FIGURE 23 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA TRACHEE ET DES BRONCHES DE PORC ^[100]	99
FIGURE 24 : POUMON DE PORC (VUE DORSALE)	100
FIGURE 25 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE POUMONS DE PORC – VUE DORSALE ^[115]	100
FIGURE 26 : REPRESENTATION DES PRINCIPAUX CRITERES GTE EN 2006, SELON LES CINQ GROUPES DE MALADIES PULMONAIRES DEFINIS (100 ELEVAGES, FAIBLES : ELEVAGES FAIBLEMENT AFFECTES PAR LES MALADIES PULMONAIRES, PLEU : ELEVAGES ATTEINTS DE PLEURESIE, PNEU ; ELEVAGES ATTEINTS DE PNEUMONIE, PNPL- : ELEVAGES MOYENNEMENT ATTEINTS PAR DE LA PNEUMONIE ET DE LA PLEURESIE, PNPL+ ; ELEVAGES SEVEREMENT ATTEINTS PAR LES 2 MALADIES PULMONAIRES). ^[2]	104
FIGURE 27 : REPRESENTATION DES PRINCIPAUX CRITERES GTE EN 2006, SELON LES TROIS GROUPES DE MALADIES PULMONAIRES DEFINIS (100 ELEVAGES, FAIBLES : ELEVAGES FAIBLEMENT AFFECTES PAR LES MALADIES PULMONAIRES, MOYENS : ELEVAGES MOYENNEMENT ATTEINTS, SEVERES : ELEVAGES SEVEREMENT AFFECTES PAR DE LA PNEUMONIE ET LA PLEURESIE). ^[2]	105
FIGURE 28 : ECART DE MARGE DES ELEVAGES MOYENNEMENT (MOYENS) ET SEVEREMENT (SEVERES) AFFECTES PAR LES MALADIES PULMONAIRES PAR RAPPORT AUX ELEVAGES DU GROUPE « FAIBLES » (EN €/100KG PRODUITS) POUR DIFFERENTS PRIX D'ALIMENT.	105
FIGURE 29 : DEMARCHE DU PRATICIEN FACE A UNE MALADIE RESPIRATOIRE EN ELEVAGE PORCIN.	107
FIGURE 30 : SUIVI EN TEMPS REEL D'UNE REACTION DE PCR.	109
FIGURE 31 : PRINCIPE DE LA PCR EN TEMPS REEL UTILISANT LA TECHNOLOGIE "SYBR-GREEN" (A) ET UTILISANT LA TECHNOLOGIE "TAQMAN" (B).	110

LISTE DES TABLEAUX

<u>TABLEAU 1</u> : ESTIMATION DE LA VARIATION SAISONNIERE MOYENNE DE LA PREVALENCE DES OBSERVATIONS PATHOLOGIQUES A L'ABATTOIR. ^[1]	27
<u>TABLEAU 2</u> : REPARTITION DES AGENTS PATHOGENES CAUSANT DES TROUBLES RESPIRATOIRES SELON LEUR FAMILLE.	29
<u>TABLEAU 3</u> : AGENTS PATHOGENES COMMUNEMENT RECONNUS COMME ETANT « D'IMPORTANCE MAJEURE » OU « D'IMPORTANCE MINEURE » DANS L'INDUSTRIE PORCINE.	33
<u>TABLEAU 4</u> : MODE D'ACTION DES AGENTS PATHOGENES « MAJEURS »	35
<u>TABLEAU 5</u> : MODE D'ACTION DES AGENTS PATHOGENES « MINEURS »	36
<u>TABLEAU 6</u> : RESULTATS D'INTERACTIONS MISES EN EVIDENCE DANS LE CADRE DU PRDC. ^[95] (MHP : M.HYOPNEUMONIAE, BORD : BORDETELLA BRONCHISEPTICA, APP : ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE, PMULT : PASTEURELLA MULTOCIDA, HPS : HAEMOPHILUS PARASUIS, SDRPV : VIRUS DU SYNDROME DYSGENESIQUE ET RESPIRATOIRE PORCIN, SIV : SWINE INFLUENZA VIRUS, PCV2 : PORCINE CIRCOVIRUS 2, PCMV : PORCINE CYTOMEGALOVIRUS, PMV : PARAMYXOVIRUS, PRCV : PORCINE RESPIRATORY CORONAVIRUS, PRV : PSEUDORABIES VIRUS).	38
<u>TABLEAU 7</u> : TABLEAUX CLINIQUES DE M.HYORHINIS SELON L'AGE DES ANIMAUX ATTEINTS.....	45
<u>TABLEAU 8</u> : SENSIBILITE ET RESISTANCE DEMONTREES FACE AUX ANTIBIOTIQUES DE M.HYORHINIS.	51
<u>TABLEAU 9</u> : LISTE DES ELEVAGES INCLUS DANS L'ETUDE.	57
<u>TABLEAU 10</u> : FICHE DESCRIPTIVE DU GAEC LA GLINAIS.....	58
<u>TABLEAU 11</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE LA SARL MAHE.....	59
<u>TABLEAU 12</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE LA SCEA DU PONT DES CHAMPS.....	60
<u>TABLEAU 13</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE L'ELEVAGE DE M.GAUTIER RENE-MARC	61
<u>TABLEAU 14</u> : FICHE DESCRIPTIVE DU GAEC DES GRANGES	62
<u>TABLEAU 15</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE LA SCEA ANNIC.....	63
<u>TABLEAU 16</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE LA SCEA LE DILY.....	64
<u>TABLEAU 17</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE L'EARL VIVIER.....	65
<u>TABLEAU 18</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE L'EARL VAN DE BROECK	66
<u>TABLEAU 19</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE LA SARL GOUGEON.....	67
<u>TABLEAU 20</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE L'EARL DE LA PONTAIS	68
<u>TABLEAU 21</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE LA SCEA DE LA METAIRE NEUVE.....	69
<u>TABLEAU 22</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE L'EARL PORCINE DE TREDION	70

<u>TABLEAU 23</u> : FICHE DESCRIPTIVE DE L'ELEVAGE DE M. TOUBLANC ANDRE.....	71
<u>TABLEAU 24</u> : CRITERES D'INCLUSION DANS L'ETUDE DES ELEVAGES "CAS" ET "TEMOINS"	72
<u>TABLEAU 25</u> : CRITERES D'INCLUSIONS DES PORCS DANS LES ELEVAGES "CAS"	73
<u>TABLEAU 26</u> : FREQUENCES D'ISOLEMENT PAR PCR DE M.HYORHINIS DANS LES ELEVAGES CAS A PARTIR DES LAVAGES ET DES ECOUVILLONS TRACHEO-BRONCHIQUES.	79
<u>TABLEAU 27</u> : FREQUENCES D'ISOLEMENT PAR PCR DE M.HYORHINIS DANS LES ELEVAGES TEMOINS A PARTIR DES LAVAGES ET DES ECOUVILLONS TRACHEO-BRONCHIQUES.	80
<u>TABLEAU 28</u> : COMPARAISON DES FREQUENCES D'ISOLEMENT PAR PCR DE M.HYORHINIS CHEZ LES ANIMAUX PRESENTANT DES SIGNES CLINIQUES (N=77) ET CEUX N'EN PRESENTANT PAS (N=140).....	80
<u>TABLEAU 29</u> : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR L'EVALUATION DE L'INDEPENDANCE DE LA DETECTION DE M.HYORHINIS A PARTIR DE LAVAGES TRACHEO-BRONCHIQUES ET LA PRESENCE DE SIGNES CLINIQUES.	81
<u>TABLEAU 30</u> : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR L'EVALUATION DE L'INDEPENDANCE DE LA DETECTION DE M.HYORHINIS A PARTIR DE LAVAGES TRACHEO-BRONCHIQUES ET LA PRESENCE DE SIGNES CLINIQUES.	81
<u>TABLEAU 31</u> : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR L'EVALUATION DE L'INDEPENDANCE DE LA DETECTION DE M.HYORHINIS A PARTIR DE LAVAGES TRACHEO-BRONCHIQUES ET LA PRESENCE DE SIGNES CLINIQUES.	82
<u>TABLEAU 32</u> : TABLEAU DE CONTINGENCE POUR L'EVALUATION DE L'INDEPENDANCE DE LA DETECTION DE M.HYORHINIS A PARTIR DES ECOUVILLONS TRACHEO-BRONCHIQUES ET LA PRESENCE DE SIGNES CLINIQUES.	83
<u>TABLEAU 33</u> : FREQUENCES D'ISOLEMENT DES QUATRE AGENTS ETUDIES SUR LES ANIMAUX AVEC CLINIQUES ET SANS CLINIQUES A PARTIR D'ECOUVILLONS TRACHEO-BRONCHIQUES (MT) ET DE LAVAGES TRACHEO-BRONCHIQUES (LTB).....	88
<u>TABLEAU 34</u> : PRESENTATION DES PRINCIPALES ENTITES CLINIQUES RESPIRATOIRES PROVOQUEES PAR DES AGENTS PATHOGENES A TROPISME RESPIRATOIRE	108

INTRODUCTION

Au cours de ces dernières décennies, les outils et les techniques de production dans l'élevage porcin français ont considérablement changé, modifiant par conséquent l'environnement économique de celui-ci. Les unités de production se sont de plus en plus spécialisées et ont considérablement augmenté de taille. La filière porcine quant à elle, s'est organisée, les entreprises se sont concentrées et la régionalisation s'est accentuée.

Tous ces facteurs ont contribué, depuis le début des années 1980, à faire des maladies respiratoires une dominante dans la pathologie porcine, touchant particulièrement les unités d'engraissement.

La complexité de la pathologie respiratoire réside dans son caractère multifactoriel, qui la rend, souvent difficile à gérer en élevage. En effet, en plus des différents facteurs non infectieux intervenant dans le développement des maladies respiratoires, il est très fréquent d'identifier plusieurs agents pathogènes simultanément. La difficulté réside donc dans la compréhension de la séquence pathologique, à savoir, lequel a initié la maladie et lequel (ou lesquels) l'a compliquée.

Mycoplasma hyorhinitis, isolé pour la première fois dans les années 1950, a été associé à une polysérosite subaiguë à chronique touchant des animaux en post-sevrage et en début d'engraissement. Peu isolé jusqu'aux années 2000, il est depuis de plus en plus identifié, principalement dans le cas de maladies respiratoires polymicrobiennes. Identifié initialement comme un agent d'une importance mineure^[95] pouvant compliquer notamment le SDRP (Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin) et le PCAD (Porcine Circovirus Associated Disease), son rôle primaire dans les maladies respiratoires est, aujourd'hui, de plus en plus discuté.

La première partie de cette étude propose un aperçu de la pathologie respiratoire en élevages porcins et de la difficulté de son approche pratique, du fait de son caractère multifactoriel. L'exemple du PRDC (Porcine Respiratory Disease Complex) permet de comprendre la complexité de cette pathologie liée aux différentes co-infections. Associé à une synthèse des données actuelles recueillies sur *M.hyorhinitis*, l'objectif de cette partie est de comprendre la difficulté de statuer sur le caractère pathogène de cette bactérie dans les maladies respiratoires.

La seconde partie de ce travail expose le déroulement et les conclusions d'une enquête cas-témoins menée d'août à novembre 2013 par le Réseau Cristal en collaboration avec le laboratoire Zoetis et l'ANSES de Ploufragan.

L'objectif est de comparer les fréquences d'isolement de *M.hyorhinitis* dans des élevages présentant de la pathologie respiratoire (élevages « cas ») et des élevages où celle-ci n'est pas une dominante (élevages « témoins »), en comparant les fréquences d'isolement entre les porcs présentant des symptômes respiratoires et ceux n'en présentant pas. Cette étude a également permis d'étudier l'implication de *M.hyorhinitis* dans les co-infections bactériennes, en recherchant trois autres agents bactériens dont l'importance dans la pathologie respiratoire porcine a déjà été démontrée : *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Haemophilus parasuis* et *Streptococcus suis*.

La recherche de ces 4 agents a été effectuée par des analyses PCR à partir de lavages et d'écouvillonnages trachéo-bronchiques. Aucune donnée sur ces deux techniques n'avait été rapportée jusque là, quant à la recherche de *M.hyorhinitis* ; mais celles-ci avaient déjà été identifiées comme les meilleures techniques (les plus sensibles) pour détecter *M.hyopneumoniae* chez le porc vivant.^[37]

1. Etude bibliographique :

***Mycoplasma hyorhinis* et la pathologie respiratoire en élevage porcin**

1.1. La pathologie respiratoire porcine, une entité multifactorielle complexe

1.1.1. L'écosystème porcine, entre pression microbienne et capacité de défense de l'organisme

Les maladies respiratoires sont souvent le résultat de la combinaison de nombreux facteurs, qu'ils soient infectieux, environnementaux, relatifs à la conduite d'élevage ou encore génétiques.

Dans le cadre de l'étude de ces maladies respiratoires multifactorielles, il est alors indispensable de ne pas considérer uniquement le facteur infectieux.

Le porc est soumis à un ensemble de facteurs. Il est au cœur de ce qui peut être appelé l'écosystème porcine (Figure 1).

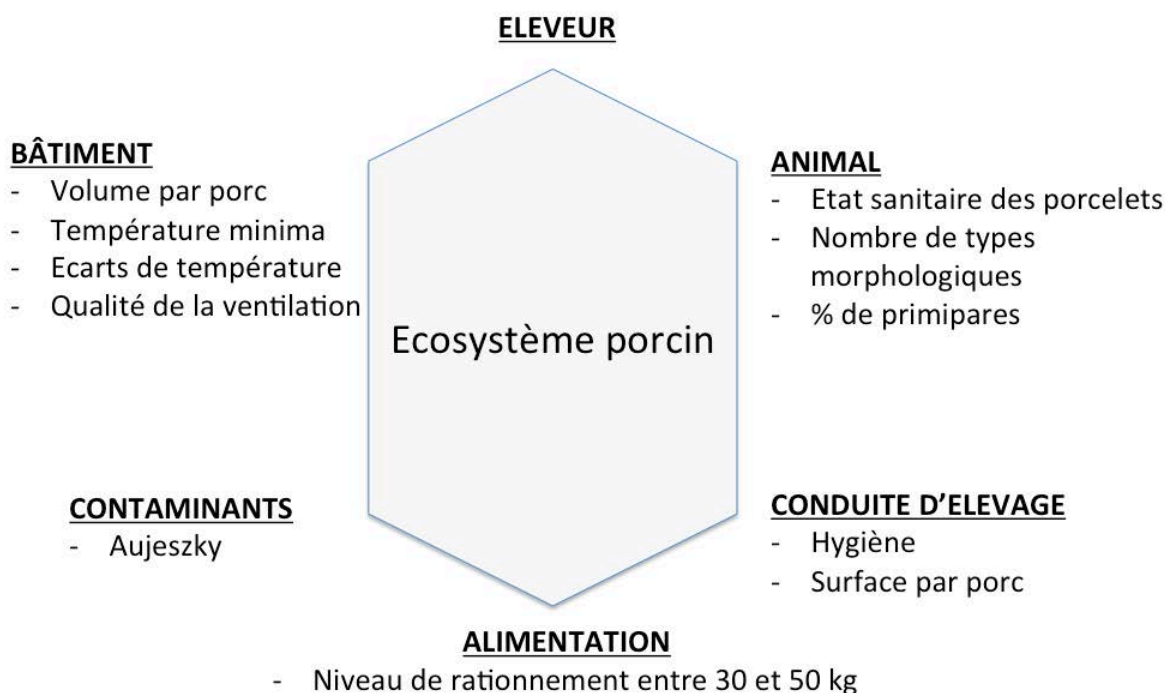


Figure 1 : Représentation des facteurs de risque autour de l'écosystème porcine [42]

En élevage porcine, la pression infectieuse est forte et multiforme. L'état de santé de l'appareil respiratoire est maintenu par un équilibre entre la capacité de défense de l'organisme des porcs et les agents pathogènes respiratoires. Les facteurs non infectieux vont intervenir sur cet équilibre, et pourront expliquer pourquoi deux élevages exposés aux mêmes agents pathogènes ne développeront pas forcément la même maladie, comme le montre la Figure 2.

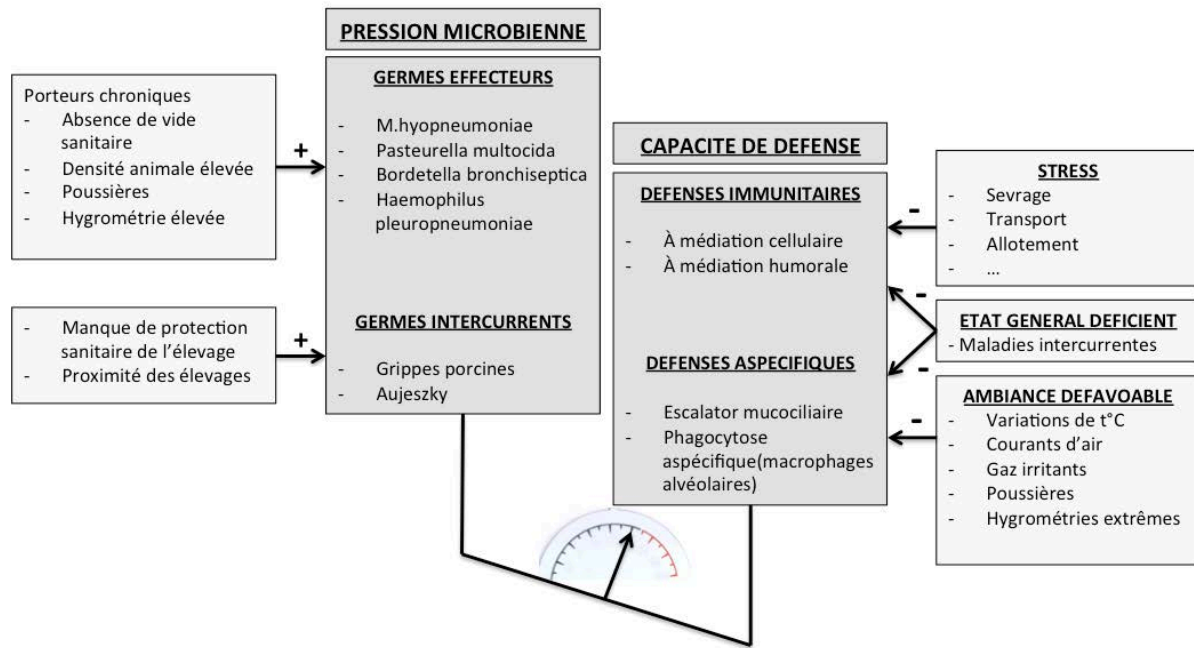


Figure 2 : Représentation schématique de la balance entre pression microbienne et capacité de défense pulmonaire et l'implication des différents facteurs de risque.^[42]

1.1.2. Facteurs de risque non infectieux

1.1.2.1. L'aire de vie

- *Densité animale*

De nombreuses études^[86] ont montré que le risque qu'une maladie respiratoire se développe dans un élevage augmente de manière significative avec l'augmentation de la taille de celui-ci. Cependant, les très grandes exploitations échappent à cette règle car elles sont, en général, contraintes de subdiviser leur élevage et travaillent en lots.

Les problèmes respiratoires deviennent très compliqués à gérer si plus de 200 à 300 animaux sont logés dans le même bâtiment.^[103]

- *Surface et volume disponible par porc*

Sur caillebotis partiel, une surface au sol pour le gisoir inférieure à 0,60m²^[16] et un volume inférieur à 3m³ par porc sont de réels facteurs de risque.^[75]

1.1.2.2. Températures et écarts de températures

- *Écarts de température ambiante*

De grands écarts de températures ambiantes perturbent le système immunitaire des porcs et augmentent donc leur sensibilité face aux agents pathogènes.^[56]

En effet, un refroidissement brutal entraîne la vasoconstriction des vaisseaux péribronchiques et péribronchioliques accompagnant une modification des sécrétions de mucus et une diminution de l'activité ciliaire, et par conséquent, une baisse de la clairance

bactérienne.^[31] L'agression thermique entraîne également une réaction neuroendocrinienne de l'organisme qui perturbe les capacités de défense spécifique (sécrétion des anticorps locaux et immunité à médiation cellulaire).

Il a été également montré que si pendant 30 jours, la température ambiante est supérieure à la température de consigne (>6°C), les risques de troubles respiratoires sont très importants.

- *Températures minimales pendant les deux premiers mois d'engraissement*

Une température moyenne inférieure à 15°C pendant les deux premiers mois d'engraissement semble favoriser l'apparition de troubles respiratoires. Ceci est lié au niveau de rationnement de ces animaux. On observe à cette période une réduction du rapport [surface corporelle / poids] et une augmentation de la capacité isolante du tégument avec l'âge, ce qui contribue à diminuer le rapport [pertes de chaleur / poids] et donc une baisse de la température critique minimale inférieure.

- *Influence du type de sol*

Un sol mal isolé provoque une augmentation de la température critique inférieure des porcs (la température critique inférieure des porcs sera augmentée de 4 à 6°C sur un sol plein mal isolé par rapport à une litière de paille sèche^[16]). Ainsi, la fréquence des pneumonies et pleurésies est augmentée quand le sol est mal isolé.^[41]

- *Influence des saisons*

	Printemps	Eté	Automne	Hiver
Pneumonie enzootique	++	+	+++	+
Pleurésie	+++	+++	+++	+
Rhinite atrophique	+	+++	++	+

Tableau 1 : Estimation de la variation saisonnière moyenne de la prévalence des observations pathologiques à l'abattoir. ^[1]

1.1.2.3. Qualité de la ventilation

Dans les bâtiments en claustration, il est nécessaire d'utiliser un système de ventilation dynamique afin d'éviter une trop grande pollution de l'air et de maintenir une humidité relative acceptable. Plus la densité animale est élevée, plus le renouvellement d'air nécessaire doit être important.

Les conditions d'ambiance sont beaucoup plus difficiles à maîtriser dans les bâtiments en semi-plein air ou à ventilation statique.

Les courants d'air sont également à maîtriser.

1.1.2.4. Qualité de l'air

- *Hygrométrie*

Une hygrométrie élevée entraîne une diminution d'activité des macrophages alvéolaires et une sécrétion moindre d'anticorps locaux. Sur le plan microbiologique, elle augmente également la durée de survie de la plupart des microorganismes.

- *Ammoniac*

De fortes concentrations en ammoniac sont préjudiciables pour la santé de l'appareil respiratoire des porcs. En effet, des concentrations de 50 à 100 ppm perturbent le fonctionnement de l'escalator muco-ciliaire, ce qui, associé à son action irritative au niveau des voies aériennes, facilite les infections par des agents pathogènes. [30]

- *Sulfure d'hydrogène*

Au-delà de 50-100 ppm, le sulfure d'hydrogène provoque une irritation du tractus respiratoire et des yeux. Une exposition prolongée à une concentration supérieure à 150 ppm peut entraîner la mort.[30]

- *Poussières*

La relation entre la poussière respirée et l'incidence des maladies respiratoires n'a pas été mise en évidence. Cependant, des normes existent quant à la quantité de particules en suspension dans l'air (elle ne doit pas excéder 5 à 10 mg de poussières respirables par m³ ; le seuil de 6 mg/m³ est le seuil au-delà duquel une augmentation de la pathologie respiratoire est observée). Les poussières respirables, sont celles qui peuvent atteindre les alvéoles, c'est-à-dire ayant un diamètre inférieur à 5 µm. Les poussières fines jouent également le rôle de vecteurs de contaminants.

1.1.2.5. Conduite hygiénique

Lorsque la séparation entre les porcs de différents âges n'est pas respectée, les jeunes porcs sont contaminés par les plus âgés. Cela entretient une multiplication « en continu » de l'agent pathogène et sa dissémination au sein de l'élevage.

La conduite en bandes ou la conduite en « tout plein / tout vide », permettant une séparation physique entre les animaux de différents âges, ainsi qu'un nettoyage et une désinfection entre chaque lot, évite aux animaux les plus jeunes de se contaminer auprès des plus âgés. Plusieurs études^[34, 40, 74] ont révélé que l'incidence des troubles respiratoires est plus faible dans les élevages pratiquant la conduite en bande avec vide sanitaire systématique.

1.1.2.6. Renouvellement du cheptel

- *Pourcentage de primipares*

Les cochettes sont moins bien protégées que les multipares vis-à-vis du microbisme ambiant et transfèrent donc une protection immunitaire de moindre qualité via le colostrum aux porcelets. Ceux-ci seront donc prédisposés à développer précocement des troubles respiratoires.[80]

De plus, les cochettes moins bien immunisées, pourront entraîner une excrétion accrue des contaminants respiratoires en maternité.

Au-delà d'un tiers du troupeau reproducteur, le pourcentage de primipares est considéré comme un facteur de risque.

- *Auto-renouvellement / introductions*

Chaque élevage présente un microbisme qui lui est propre. Les animaux provenant d'élevages différents n'auront donc pas le même statut sanitaire. Lors d'introductions, la transmission d'agents pathogènes est donc quasi-inévitable :

- lors de l'introduction d'un animal à faible statut sanitaire dans un élevage à haut statut sanitaire, il est prévisible que l'animal contamine l'élevage « naïf »,
- lors de l'introduction d'un animal à haut statut sanitaire dans un élevage à faible statut sanitaire, il est prévisible que l'animal introduit « naïf » se contamine.

Lorsque l'éleveur maîtrise mal son auto-renouvellement, les conséquences sont en général identiques. En effet, souvent, les cochettes sont prélevées en porcherie d'engraissement et vont participer au « recyclage » des agents pathogènes respiratoires.

1.1.2.7. Situation géographique de l'élevage

Selon les régions, plus la concentration en élevages et la pression sanitaire sont élevées, plus la prévalence des maladies respiratoires observée y est élevée.

1.1.2.8. Autres facteurs de risque non infectieux

- *Castration*

La castration, facteur de stress et de modifications hormonales, pourrait être associée à des prévalences élevées de pleurésie et pneumonie.^[66]

- *Maladies intercurrentes*

Le statut sanitaire de l'élevage conditionne fortement le développement de troubles respiratoires. Il est indispensable de connaître les statuts SDRP, Aujeszky et de grippe des élevages.

1.1.3. Facteurs de risque infectieux

1.1.3.1. Principaux agents responsables

Les affections respiratoires chez le porc mettent en jeu de nombreux contaminants viraux, mycoplasmatiques, bactériens ou parasitaires (Tableau 2).

Virus	Bactéries	Mycoplasmes	Parasites
SDRPv PCV2 Influenza (H1N1, H1N2, H3N2) Herpesvirus type I (Aujeszky)	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> <i>Actinobacillus suis</i> <i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Corynebacterium spp.</i> <i>Haemophilus parasuis</i> <i>Klebsiella spp.</i> <i>Moraxella spp.</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Salmonella cholerae suis</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i>	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> <i>Mycoplasma hyorhinis</i>	<i>Ascaris suum</i> <i>Metastrongylus spp.</i>

Tableau 2 : Répartition des agents pathogènes causant des troubles respiratoires selon leur famille.

Le tractus respiratoire est pourvu de moyens de défense vis-à-vis de ces agents. Cependant, des circonstances défavorables liées à l'environnement des animaux, un déficit éventuel de protection immunitaire des porcs et la virulence particulière de certains germes, font que les agents pathogènes peuvent coloniser les voies aériennes et y créer des lésions.

L'origine des pneumonies est multifactorielle (lors d'analyses, un germe n'est, en général, jamais isolé seul), rendant difficile l'interprétation de la clinique, des analyses et des lésions anatomopathologiques.

On distinguera les « maladies respiratoires strictes » causées par des agents pathogènes dont le tropisme respiratoire est la cause des symptômes et les « grandes maladies systémiques » pouvant provoquer des troubles respiratoires.

Les principales maladies respiratoires du porc, provoquées par des agents pathogènes à tropisme respiratoire sont synthétisées en Annexe 3, restituant la démarche du clinicien en élevage, s'attachant tout d'abord à décrire l'atelier touché, l'épidémiologie de la maladie puis les symptômes.

1.1.3.2. Les entités respiratoires « classiques »

Les grandes maladies systémiques pouvant provoquer des troubles respiratoires sont présentées ci-dessous. Elles doivent faire partie intégrante des diagnostics différentiels, d'autant que bien souvent, elles constituent l'infection primaire, qui sera compliquée voire masquée par des agents secondaires (souvent bactériens).

- *Le PCAD – pathologie respiratoire associée au PCV2*

Le Porcine Circovirus 2 est présent dans la quasi-totalité des élevages. Il s'agit d'un agent primaire qui, associé à des cofacteurs infectieux ou non (stress immunologique, conduite d'élevage, facteurs génétiques) conduit à une maladie sévère. Il est impliqué dans la Maladie d'Amaigrissement du Porcelet (MAP), dans de nombreux problèmes de reproduction, dans le Syndrome dermatite-néphrite et dans le complexe des maladies respiratoires en fin d'engraissement.

- *Le Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP)*

Présent dans un grand nombre d'élevages, principalement dans les zones à forte production, le virus responsable du SDRP fait partie de la famille des arteriviridae. La forme respiratoire de la maladie apparaît dans les élevages infectés chroniquement. Elle atteint les porcelets après le sevrage, mais aussi les porcs en engraissement, avec une dynamique d'infection propre à chaque élevage. Les animaux malades sont abattus, amaigris, ils présentent des signes respiratoires (toux, dyspnée, respiration abdominale) et un syndrome fébrile. Chez les porcelets sevrés et les porcs à l'engraissement, le virus du SDRP permet l'émergence de nombreuses maladies secondaires associées notamment à *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyorhinis*...

- *La maladie de Glässer (Haemophilus parasuis)*

Cette maladie touche les élevages à haut niveau sanitaire et y affecte les porcs en post-sevrage et en engraissement. Dans sa forme primaire, elle est responsable d'une polysérosite (avec méningite) avec en général, l'absence de toux, dyspnée et cyanose, anorexie et prostration, des symptômes neurologiques et une parésie. Dans sa forme secondaire

(complicant le SDRP ou le PCAD), les signes respiratoires sont plus marqués (toux, dyspnée, respiration abdominale), l'abattement, l'amaigrissement et la fièvre également.

- *Les infections à Streptococcus suis*

Elles sont marquées chez les porcelets sevrés et les porcs à l'engrais. Selon la virulence de la souche et l'organe cible, les symptômes sont variés. La pathologie respiratoire (pneumonie) associée à *S.suis* est une forme plus souvent secondaire et souvent reliée à des infections virales (SDRP, PCAD, Influenza) et évolue en général très rapidement (1 ou 2 jours).

- *Les infections à Actinobacillus suis*

Cet agent a été identifié chez les porcelets en lactation et sevrés dans les élevages multisites de haut niveau sanitaire, après une phase de repeuplement. Il émerge désormais en phase d'engraissement ainsi que dans tous types d'élevages. La clinique est peu caractéristique puisque l'infection provoque une septicémie et des lésions de polysérosite fibrineuse. Les lésions cutanées sont proches de celles du Rouget et les lésions pulmonaires sont proches de celles de la pleuropneumonie à *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

- *La maladie d'Aujeszky (pseudo-rage)*

Cette Maladie Réputée Contagieuse (MRC) est provoquée par un herpès virus de type I. La forme respiratoire de la maladie prédomine chez les porcs à l'engrais sous la forme d'un syndrome grippal. La mortalité est faible.

L'écosystème porcin est donc soumis à une multitude de facteurs. L'équilibre entre capacité de défense de l'organisme et la pression microbienne peut donc rapidement être altéré et peut parfois être très difficile à retrouver. En effet, dans la pathologie respiratoire porcine, il est souvent difficile d'attribuer une conséquence à une cause particulière car les facteurs non infectieux et infectieux se mêlent. Le caractère polymicrobien de cette pathologie la rend très complexe à appréhender et les phénomènes de co-infection sont primordiaux dans son étude et sa compréhension.

1.2. Les co-infections dans la pathologie respiratoire porcine

Les maladies respiratoires chez le porc sont, le plus souvent, voire toujours, le résultat d'une infection associant un ou plusieurs virus à des bactéries. Les maladies respiratoires mono-infectieuses chez le porc sont quasi-inexistantes.

Dans ces associations, tous les agents infectieux n'ont pas la même importance, ce qui rend le diagnostic difficile, ainsi que le dispositif général de lutte à mettre en place.

1.2.1. Classification des différents agents pathogènes respiratoires

1.2.1.1. Agents « primaires » et « secondaires » / « initiateurs » et « suiveurs »^[85]

Les agents pathogènes respiratoires peuvent être classés dans deux catégories :

- les agents « primaires », capables d'induire des lésions sévères au niveau de l'appareil respiratoire du seul fait de leur virulence propre,
- les agents « secondaires » (ou « opportunistes »), nécessitant des agents pathogènes co-infectants ou des cofacteurs non infectieux pour provoquer des lésions importantes au niveau de l'appareil respiratoire.^[95]

Certains^[85], souhaitant intégrer dans cette définition la séquence des événements qui concourent au processus pathologique, parleront de :

- agent « initiateur », capable à lui seul, de provoquer des lésions chez des animaux sains « normaux » dans des conditions « normales »,
- agent « suiveur », qui nécessite soit une altération de l'organe-cible, soit une altération systémique, pour provoquer la maladie. Une fois installé, et en augmentant la pression d'infection, un suiveur peut à son tour initier une pathologie majeure.

Les interactions varieront selon le mode d'action propre de chaque agent pathogène : schématiquement, le suiveur n'interviendra que si l'initiateur a créé un « terrain propice » à sa colonisation.

Les interactions cellulaires et moléculaires lors d'une co-infection sont complexes. Certes, le paradigme d'une infection virale primaire suivie de surinfections bactériennes, peut exister, mais les interactions plus complexes, font en général intervenir plusieurs virus et bactéries sans que la séquence d'infection puisse être clairement identifiée.

La dichotomie n'est donc pas toujours évidente, d'autant que certains agents peuvent être initiateurs et suiveurs dans certaines conditions (PCV2, SDRPv, *Actinobacillus pleuropneumoniae*). De plus, pour les suiveurs, l'agent initiateur n'est pas forcément infectieux (stress, lésion, problème circulatoire). Quelques fois, l'agent pathogène fait partie de la flore commensale de l'appareil respiratoire des porcs et n'est donc pas pathogène initialement mais peut le devenir sous certaines conditions.

1.2.1.2. Importance relative des principaux agents pathogènes respiratoires

Bien que la chronologie de l'infection soit importante à prendre en compte, il faut désormais raisonner en terme de co-infections. En effet, plusieurs agents pathogènes peuvent être séparément induits et leurs actions sur l'appareil respiratoire (lésions ou encore production de

cytokines) peuvent permettre l'expression du pouvoir pathogène d'un autre agent. Ainsi, ce sont les « dommages collatéraux » des différents agents qui vont engendrer l'apparition d'une maladie respiratoire sévère.

C'est pour cela que certains préfèrent classer les différents agents en fonction de leur importance relative, basée à la fois sur leur fréquence d'isolement en élevage porcin et sur leur capacité à induire seuls ou non des lésions et une maladie respiratoire. Et ce, malgré les différences qui peuvent exister en terme de pression d'infection selon les régions, les types d'élevages... T.Opriessnig^[95] propose la classification suivante (Tableau 3) :

	Agents d'importance majeure	Agents d'importance mineure
Virus	SDRPv Virus de la maladie d'Aujeszky Virus de l'Influenza porcine	Paramyxovirus PCV2 <i>Cytomegalovirus porcin</i> <i>Coronavirus respiratoire porcin</i> <i>Torque teno virus</i>
Bactéries	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> <i>Actinobacillus suis</i> <i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> <i>Salmonella spp.</i>	<i>Arcanobacterium pyogenes</i> <i>Haemophilus parasuis</i> <i>Mycoplasma hyorhinis</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Streptococcus suis</i>

Tableau 3 : Agents pathogènes communément reconnus comme étant « d'importance majeure » ou « d'importance mineure » dans l'industrie porcine.

Cette approche particulière des co-infections dans leur ensemble permet de mieux appréhender et de mieux comprendre les mécanismes d'apparition du PRDC.

1.2.2. Le PRDC

1.2.2.1. Définition

Le complexe des maladies respiratoires porcines ou PRDC (Porcine respiratory disease complex) est l'illustration de ces co-infections, mais également de la complexité des maladies respiratoires porcines.

Décrit dans les années 1990 en Amérique du Nord, comme étant une affection respiratoire survenant en fin d'engraissement, le terme PRDC a été abusivement utilisé pour décrire des infections mixtes d'étiologies variées, intervenant en fin d'engraissement.

Il s'agit au départ, d'une infection à *Mycoplasma hyopneumoniae* (« initiateur ») compliquée par des suiveurs pouvant être viraux (SDRPv, PCV2, Influenza...) ou bactériens (*Actinobacillus pleuropneumoniae*...).

Le PRDC résulte donc de la combinaison d'infections par plusieurs agents primaires et secondaires, associée à des facteurs non infectieux comme ceux décrits précédemment.

1.2.2.2. Epidémiologie

Il se rencontre en général dans des élevages multisites et les symptômes généraux sont observés à partir de 8 à 10 semaines après l'entrée en engraissement avec :

- Symptômes : anorexie, fièvre, toux, dyspnée, baisse du GMQ (Gain Moyen Quotidien) et augmentation de l'IC (Indice de Consommation),

- Morbidité de 30 à 70% (plus élevée que pour la bronchopneumonie enzootique),
- Mortalité de 4 à 6%.

Les symptômes respiratoires sont majeurs, et en général résultent de la combinaison des symptômes associés à l'infection mycoplasémique (broncho-pneumonie aiguë) et ceux associés aux infections suiveuses (pneumonie interstitielle lors d'une infection par le SDRPv ou PCV2 / mortalités aiguës caractéristiques lors d'une infection par *A.pleuropneumoniae*).^[85]

1.2.2.3. Mécanisme d'apparition

Les interactions entre les différents agents pathogènes jouent un rôle primordial dans le développement et l'apparition du PRDC. La notion de « dommages collatéraux » permet de bien comprendre comment une maladie respiratoire sévère peut apparaître. Bien que certains agents soient capables d'induire à eux seuls une maladie respiratoire, l'infection simultanée de plusieurs agents provoquent souvent des lésions beaucoup plus sévères.^[95]

Chaque agent agira donc sur l'appareil respiratoire, que ce soit au niveau de l'appareil mucociliaire ou de la réponse immunitaire, par divers mécanismes, qui combinés, aboutiront à une maladie respiratoire sévère. Les mécanismes d'action de chaque agent sont importants à connaître pour comprendre le mécanisme d'apparition du PRDC, comme le montre la Figure 3.

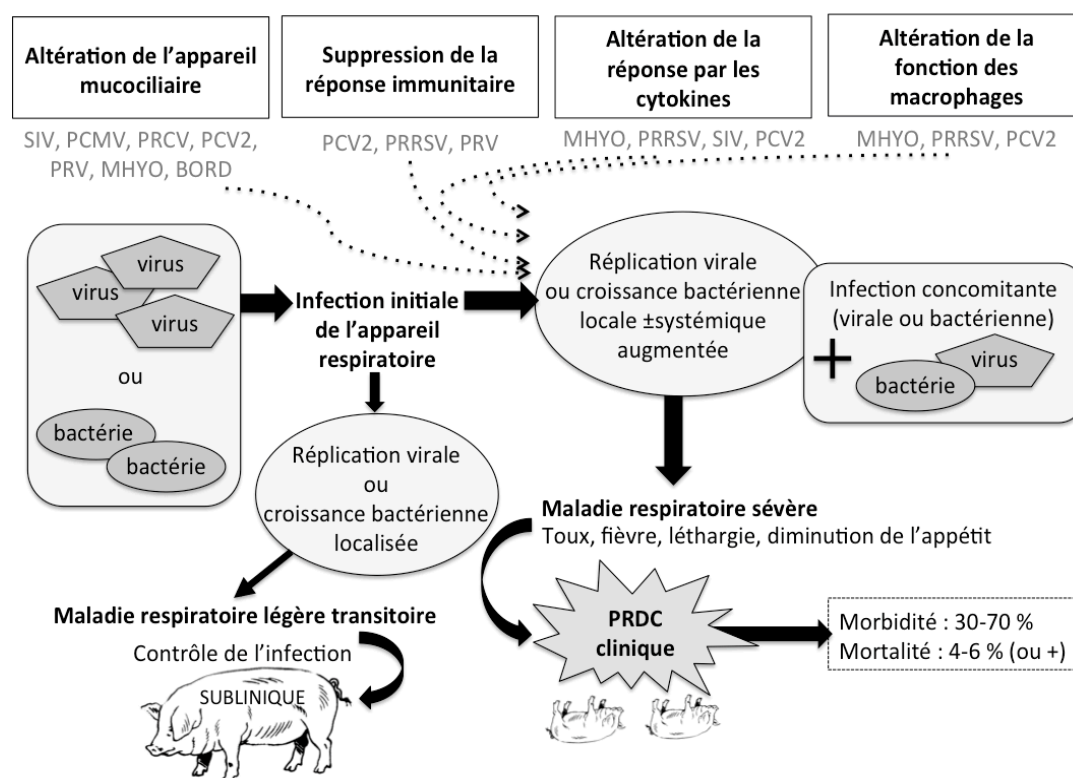


Figure 3 : Bilan des mécanismes et de l'apparition des infections virales ou bactériennes de l'appareil respiratoire dans le développement du PRDC^[95]

1.2.2.4. Facteurs impliqués dans le PRDC

En plus des facteurs non infectieux, tels que ceux évoqués précédemment, les différents agents du PRDC sont présentés dans les Tableaux 4 et 5, associés à leur mode d'action.

De nombreux agents viraux et bactériens ont été associés au PRDC. La pathogénie associée aux virus est souvent liée à la destruction de l'appareil mucociliaire et à la diminution de la fonction des macrophages alvéolaires et intravasculaires. Les bactéries, quant à elles, sont impliquées dans le PRDC par l'activation de l'inflammation (production accrue de cytokines).

- *Agents d'importance majeure :*

Agent pathogène	Mode d'action
SDRPv	<ul style="list-style-type: none"> - Réplication dans les macrophages et cellules dendritiques des tonsils - Induction de la lyse cellulaire, de l'apoptose et modification de la fonction des macrophages alvéolaires et intravasculaires - Altération de l'escalator mucociliaire - Modifications des populations de lymphocytes T
Virus de la maladie d'Aujeszky	<ul style="list-style-type: none"> - Réplication dans les macrophages alvéolaires et les monocytes - Perturbation de l'activité ciliaire --> production accrue de mucus → adhésion facilitée des autres agents - Altération de la fonction des macrophages - Destruction des macrophages et monocytes
Virus de l'Influenza porcine	<ul style="list-style-type: none"> - Réplication dans les cellules épithéliales. - Destruction de l'escalator mucociliaire - Exsudation de neutrophiles et de macrophages - Nécrose et métaplasie de l'épithélium - Augmentation des TNFα, IFNα et IL-1
Actinobacillus pleuropneumoniae	<ul style="list-style-type: none"> - Colonisation des tonsils, des tissus pulmonaires nécrotiques et des cavités nasales - 3 exotoxines → nécrose et hémorragie - Inhibition de la phagocytose
Bordetella bronchiseptica	<ul style="list-style-type: none"> - Altération de l'escalator mucociliaire - Toxine dermonécrotique → atrophie des cornets nasaux, nécrose, hémorragie, neutrophilie et fibrose des poumons - Accumulation de mucus
Mycoplasma hyopneumoniae	<ul style="list-style-type: none"> - Altération de l'appareil mucociliaire - Immunostimulation et immunosuppression - Activation des macrophages → production accrue de cytokines - Effet mitogène sur les lymphocytes

Tableau 4 : *Mode d'action des agents pathogènes « majeurs »*

- *Agents d'importance mineure :*

Agent pathogène	Mode d'action
PCV2	- Ulcération de l'épithélium - Fibroplasie bronchiolaire et périfibroplasiolaire - Colonisation des macrophages pulmonaires et des cellules épithéliales
Cytomegalovirus porcin	- Destruction des cellules de la muqueuse nasale et des glandes tubuloalvéolaires - Altération de l'appareil mucociliaire
Coronavirus respiratoire porcin	- Réplication dans les pneumocytes II - Altération de l'appareil mucociliaire - Altération de la fonction des macrophages alvéolaires
Torque teno virus Paramyxovirus	Mode d'action mal connu
Arcanobacterium pyogenes Haemophilus parasuis Streptococcus suis Mycoplasma hyorhinis Salmonella spp.	- Souvent lésions pulmonaires associées à une septicémie - Colonisation des monocytes (Ssuis) - Inhibition de la phagocytose (Ssuis) - Inflammation suppurative et abcédation (APYO)
Pasteurella multocida	- Résistance à la phagocytose - Protéine Tox-A → rhinite atrophique progressive

Tableau 5 : *Mode d'action des agents pathogènes « mineurs »*

- *Rôles des parasitoses :*

Le parasitisme (concernant essentiellement les porcs élevés en extérieur) peut également altérer la capacité à lutter contre les agents pathogènes, en permettant à ceux-ci de se développer sur un « terrain propice ». Par exemple, les formes adultes de *Metastrongylus spp* se localisent dans les bronchioles terminales, provoquant une obstruction des bronchioles et une atélectasie. De même, les larves migrantes d'ascaris provoquent des lésions du parenchyme pulmonaire.

Dans le cas du PRDC toutes les combinaisons d'agents pathogènes sont envisageables. Certaines, plus fréquemment rencontrées sur le terrain que d'autres ont été étudiées de façon plus précises.

1.2.2.5. Les co-infections dans le PRDC

De nombreuses études ont mis en évidence les conséquences des interactions entre différents agents pathogènes. Des épreuves d'inoculation sur porcs SPF (Specific Pathogen Free) ont notamment permis de comprendre les effets de certaines associations d'agents pathogènes. Plusieurs modèles de co-infections expérimentales ont été évalués. De plus, la séquence d'infection étant susceptible de jouer un rôle très important, celle-ci a été également évaluée.

Les observations des différentes études sont synthétisées dans le tableau suivant :

Agents pathogènes	Intervalle entre les infections	Observations des différentes études sur les co-infections dans le PRDC
CO-INFECTION BACTERIE - BACTERIE		
<i>Mhp - Pmult</i>	23 j	Augmentation de la sévérité de la pneumonie initiée par <i>Mhp</i> .
<i>Mhp - App</i>	14-28 j	Les lésions pulmonaires provoquées par <i>Mhp</i> favorisent l'infection par <i>App</i> , avec une baisse de l'activité phagocytaire des macrophages alvéolaires.
<i>Bord - Pmult</i>	4 j	L'adhésion et la colonisation de <i>Pmult</i> sont favorisées par <i>Bord</i> . La toxine dermonécrotique ne semble pas indispensable.
<i>Bord - Hps</i>	7 j	La colonisation par <i>Hps</i> est favorisée par <i>Bord</i> .
CO-INFECTION VIRUS-VIRUS		
SDRPv - PRCV	3 - 10 j	Chez les porcs SPF, l'augmentation de la sévérité de la maladie est moins forte que pour les autres. Chez les porcs SPF, une légère augmentation de la sévérité des lésions est observées lorsque le PRCV est inoculé 10 jours après (du fait de l'interaction entre la réponse immunitaire innée et adaptative).
SDRPv - SIV	3 j	Pathologie pulmonaire plus sévère mais la réplication du SIV n'est que peu modifiée par l'infection préalable par le SDRPv.
PRCV - SIV	2-3 j	Sévérité de la maladie augmentée
SDRPv - PRV	7 j	Augmentation de la sévérité et de la durée des signes cliniques et des lésions pulmonaires. Le PRV induirait une immuno-suppression qui altérerait la survie et la fonction des lymphocytes.
SDRPv - PCV2	0 j	L'IFN γ induit par le PCV2 réduit l'infection par le SDRPv et ses effets cytopathiques.
PCV2 - PPV	0 j	Baisse de l'expression de l'IFN α 1 et IFN γ , et de la phagocytose par les macrophages alvéolaires.

CO-INFECTION BACTERIE - VIRUS		
SDRPv - <i>Ssuis</i>	7 j	Augmentation de la sévérité de la maladie due à la suppression de la fonction des macrophages pulmonaires intravasculaires, augmentant la sensibilité à <i>Ssuis</i> .
SDRPv - <i>Bord</i>	0 j	Augmentation de la sévérité de la maladie. Cette co-infection favoriserait l'infection par <i>Pmult</i> .
SDRPv - <i>Pmult</i>	5 j	Pas d'interaction identifiée entre les deux agents.
<i>Mhp</i> - SDRPv	5-21 j	La charge virale en SDRPv est augmentée chez les animaux co-infectés. <i>Mhp</i> potentialiserait l'infection et les lésions provoquées par le SDRPv. Rôle important de la production de cytokines pro-inflammatoires IL-1 α , IL-1 β , IL-8, IL-10 dans l'apparition d'une pneumonie chronique sévère.
SDRPv - <i>App</i>	7 j	Augmentation de l'intensité des lésions montrée dans 1 étude sur 3. L'infection préalable par le SDRPv, ne serait donc pas nécessaire pour favoriser l'infection bactérienne.
PRV - <i>Pmult</i>	0 j	Pneumonie sévère chez les porcs co-infectés.
PRV - <i>Mhp</i>	7 j	L'infection par le PRV semble avoir un effet sur la sévérité de la pneumonie aiguë induite par <i>Mhp</i> chez les sujets jeunes.
PRCV - <i>Bord</i>	0 j	Augmentation de la sévérité de la maladie.
<i>Mhp</i> - PCV2	14 j	Augmentation de la sévérité de la maladie.
<i>Mhp</i> - SIV	21 j	Augmentation de la sévérité de la maladie dans une moindre mesure que la co-infection <i>Mhp</i> -SDRPv.
PCMV - <i>Bord</i>	0 j	Légère augmentation de la sévérité de la maladie mais pas dans la sévérité de l'atrophie des cornets nasaux.
SIV - <i>Bord</i>	0 j	Augmentation de la colonisation par <i>Bord</i> et augmentation de la production de médiateurs pro-inflammatoires qui contribueraient à l'exacerbation des lésions pulmonaires.

Tableau 6 : Résultats d'interactions mises en évidence dans le cadre du PRDC.^[95] (*Mhp* : *M.hyo*pneumoniae, *Bord* : *Bordetella Bronchiseptica*, *App* : *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pmult* : *Pasteurella multocida*, *Hps* : *Haemophilus parasuis*, SDRPv : virus du Syndrome dysgénésique et respiratoire porcin, SIV : Swine Influenza Virus, PCV2 : Porcine Circovirus 2, PCMV : Porcine Cytomegalovirus, PMV : Paramyxovirus, PRCV : Porcine Respiratory Coronavirus, PRV : Pseudorabies virus).

La liste des associations possibles n'est évidemment pas exhaustive, d'autant que bien souvent, plus de 2 agents bactériens sont isolés simultanément. Cela complique donc l'interprétation des analyses pouvant être réalisées en élevage.

1.2.2.6. Limites dans l'interprétation des résultats d'analyses sur poumons.

Le caractère multifactoriel de la pathologie respiratoire porcine rend l'interprétation des examens complémentaires souvent difficile.

L'existence d'une flore commensale de l'appareil respiratoire ainsi que des co-infections quasi-systématiques amènent le clinicien à se poser différentes questions :

- le fait d'isoler tel ou tel agent pathogène, signifie-t-il qu'il est directement responsable de la clinique observée ?
- lorsque plusieurs agents sont identifiés, qui est l'initiateur, quels sont les suiveurs ? Dans ce cas, quel agent le traitement doit-il viser ?
- quelle est la part des facteurs environnementaux dans la pathologie observée ?

Les examens sérologiques sont souvent difficiles à interpréter en raison de l'intervalle qui sépare l'infection de la réaction immunitaire significative sur un certain nombre d'animaux. La mise en évidence d'une séroconversion peut cependant être intéressante, signant la réelle infection.

Des méthodes plus « sophistiquées », comme les lavages trachéo-bronchiques, les écouvillons nasaux, pharyngés et trachéaux, peuvent être très intéressantes dans le cas des affections respiratoires^[85], mais n'empêchent en rien de garder un regard critique sur les informations qu'elles fournissent.

Devant la complexité de la pathologie respiratoire porcine, des enquêtes de terrain réalisées ces dernières années ont permis d'isoler de plus en plus fréquemment un mycoplasme particulier, Mycoplasma hyorhinis. Déjà connu comme agent de polysérose, son isolement sur divers prélèvements lors de troubles respiratoires en élevage porcin, ont conduit les vétérinaires à se poser des questions sur son implication dans cette pathologie.

1.3. *Mycoplasma hyorhinis* : agent de polysérosite et de pneumonie ?

L'infection à *M.hyorhinis* est responsable d'une polysérosite subaiguë à chronique. Rarement diagnostiquée avant les années 2000, bien que très étudiée dans les années 1960-70, cette maladie semble, bel et bien, être d'actualité, surtout après l'apparition de la MAP. [85]

De plus en plus isolé en France aujourd'hui dans des élevages présentant des troubles respiratoires complexes (signe d'une réelle émergence ou de l'intensification des recherches ciblées sur cet agent ?), la question de son intervention directe dans la pathologie respiratoire est légitime.

Considéré depuis longtemps comme un agent pathogène mineur[95], peut-on aujourd'hui le considérer comme un agent pathogène majeur de la pathologie respiratoire porcine ?

1.3.1. Etiologie

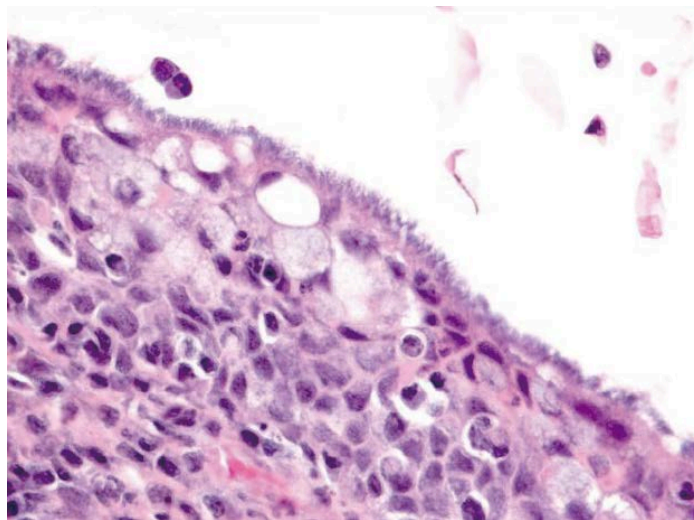


Figure 4 : Colonisation de l'appareil mucociliaire du nasopharynx par *M.hyorhinis* [122]

Les mycoplasmes sont des bactéries appartenant à la classe des Mollicutes. Il s'agit des plus petits micro-organismes vivants à l'état libre capables d'auto-réplication. 17 espèces de Mollicutes ont été isolées à ce jour chez le porc, *M.hyorhinis* a été le premier mycoplasme isolé chez le porc, dans les années 1950 par Switzer *et al.*

Ils ne présentent pas de paroi cellulaire ce qui leur confère un très grand pléomorphisme (ils peuvent se présenter sous les formes les plus diverses, rondes, ovoïdes, filamenteuses) et ne possèdent donc pas de peptidoglycane. Leur triple membrane cellulaire est riche en cholestérol et en lipoprotéines.

Cette absence de paroi fait que les mycoplasmes sont très peu résistants dans le milieu extérieur (2 jours à température ambiante) et sensibles à la dessiccation, à la lumière et aux désinfectants classiques.

Bien qu'ils se répliquent de manière autonome, les mycoplasmes sont des parasites trophiques de cellules eucaryotes : ils doivent être en contact avec celles-ci pour capter divers nutriments et éléments nécessaires à leurs diverses fonction métaboliques.

Leur petit génome (entre 580 et 1000 kb) leur permet d'être adapté à un hôte particulier ; ils ont un tropisme d'hôte strict pour le porc (ils présentent en plus un tropisme d'organes).

M.hyorhinis mesure 0,2-0,3 µm et présente une grande hétérogénéité antigénique déterminée en partie par la variabilité des lipoprotéines présentes à leur surface, et montrée par la diversité des réactions sérologiques face à des anticorps spécifiques.^[111] Ceci pourrait constituer un mécanisme d'évitement de la réaction immunitaire de l'hôte.

Cette bactérie est ubiquiste et a été impliquée dans diverses maladies dans la plupart des pays d'Europe, d'Amérique du Nord et d'Asie.

1.3.2. Epidémiologie

1.3.2.1. Localisation

M.hyorhinis est un hôte normal de l'appareil respiratoire haut, notamment des cavités nasales des porcs (d'où le nom de « rhinis »).

Friis *et al.* ^[44], ont mis en évidence diverses localisations de *M.hyorhinis* :

- sur des cas cliniques de polysérosites chez des porcelets de 3 à 7 semaines :
 - o dans les poumons pour 82% des animaux cliniques,
 - o dans les surfaces séreuses (35%),
 - o dans le cerveau (27%),
 - o dans les tonsils (25%),
 - o dans les articulations (20%).
- sur des animaux sains :
 - o dans les poumons pour 87% des animaux sains,
 - o dans les tonsils (37%),
 - o dans le cerveau (25%).

M.hyorhinis a été également isolé dans les cavités tympaniques (sur 80% des animaux atteints d'otites moyennes, sur 52% des animaux sains) et dans les cavités nasales d'animaux atteints de rhinites (49%), et d'animaux sains (27%).^[114]

Bien que son implication dans des troubles de fertilité coïncidant avec des boiteries sur les cochettes, ainsi que des problèmes de qualité de la semence des verrats aient été supposés, *M.hyorhinis* n'a pu être isolé dans l'appareil reproducteur des porcs.^[135]

1.3.2.2. Elevages cibles

Dans les années 1970, l'infection à *M.hyorhinis* était associée à des mauvaises conditions d'environnement et évoluait lentement. La maladie survenait surtout chez les porcelets qui avaient été achetés sur les marchés d'où son nom de « maladie des marchés ». Aujourd'hui, cette bactérie est ubiquiste et se retrouve dans de nombreux élevages porcins de statut sanitaire et d'organisation variés.

1.3.2.3. Animaux cibles

Les signes cliniques apparaissent en général sur des animaux entre 3 et 10 semaines d'âge (c'est-à-dire en post-sevrage et engraissement). En général, ces animaux ont été soumis à des

conditions débilantes (conditions environnementales inadéquates, transport, infections primaires...) qui interfèrent et fragilisent leur système immunitaire.

1.3.2.4. Transmission

L'essentiel de la transmission se fait par contact direct (nez à nez) mais une transmission par aérosol a été démontrée.^[117]

1.3.2.5. Prévalence

La prévalence de *M.hyorhinis* est, en général, forte sur les animaux de tous les âges dans les élevages ayant un historique de mortalité en fin d'engraissement. Lors d'échantillonnage en milieu de post-sevrage jusqu'en milieu d'engraissement (de 6-7 semaines à 15-16 semaines), 100% des PCR sur salive (prélèvements réalisés grâce à des cordes en coton) et plus de 99% des écouvillons pharyngiens sont positifs pour *M.hyorhinis*.^[27]

En 1991, en Norvège, sur 9 élevages : 37% des poumons à pneumonie et seulement 6% des poumons sains étaient PCR-positifs pour *M.hyorhinis*.^[92]

A l'université du Minnesota, en 2010, 55% des cas de polysérosite et 12% des cas de boiterie sont revenus positifs en PCR pour *M.hyorhinis*.^[26]

1.3.2.6. Dynamique de colonisation

En maternité, *M.hyorhinis* est isolé sur environ 10% des truies à la mise-bas qui, en général, sont asymptomatiques. L'infection est ensuite transmise à quelques porcelets qui contaminent les autres porcelets en 1 à 2 semaines après le sevrage.^[92] Ceci est confirmé par une étude transversale,^[26] sur la colonisation nasale de *M.hyorhinis* dans 2 élevages infectés et présentant une clinique respiratoire. Les prévalences étaient de :

- 7% pour les truies
- de 1,7 à 8% pour les porcelets en maternité,
- 98% pour les porcelets en post-sevrage.
- 100% des porcs à l'engrais.

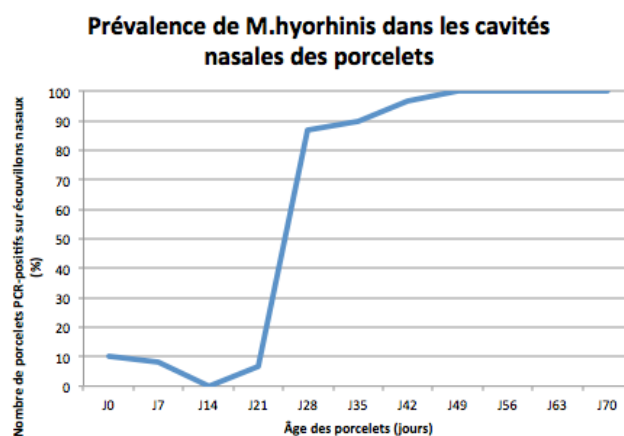


Figure 5 : Dynamique de colonisation nasale de *M.hyorhinis* en élevage porcin.^[26]

En général, dans un élevage sans maladie associable à *M.hyorhinis*, les truies ne sont pas contaminées et les taux de contamination restent très bas jusqu'à la dernière semaine en post-sevrage.

1.3.2.7. Facteurs de risque de transmission

L'impact de la parité des mères serait un facteur de risque de transmission. Bien que difficile à démontrer, il semblerait que les mères qui transmettent *M.hyorhinis* aux porcelets soient les plus jeunes (parité 1 et 2).^[26]

1.3.3. Pathogénie

Le pouvoir pathogène de *M.hyorhinis* est relativement faible, et le développement de la maladie est long, d'où le caractère subaigu à chronique de la maladie.

1.3.3.1. Dissémination systémique

Chez un animal fragilisé, *M.hyorhinis* peut quitter les cavités nasales pour atteindre la circulation sanguine et se localiser dans différents organes. Cependant, le mécanisme de colonisation de l'appareil respiratoire et de dissémination systémique reste inconnu. Il semblerait que celui-ci soit le résultat de plusieurs facteurs associés, à la fois intrinsèques à la bactérie, liés à l'hôte et liés à l'environnement.

1.3.3.2. Interactions avec l'hôte

M.hyorhinis a été détecté au niveau de la zone ciliée de l'épithélium des cavités nasales, du conduit auditif, de la trachée, et des bronches sur des porcs asymptomatiques.^[58, 88]

En cas de pneumonie, *M.hyorhinis* a été observé, recouvrant l'épithélium bronchiolaire et dans les exsudats bronchiolaires et alvéolaires.^[87]

1.3.3.3. Pouvoir pathogène

Aucun facteur de virulence n'est connu à ce jour, mais des différences de virulence ont été observées selon les souches de *M.hyorhinis*, notamment en 1978 par M.Kobisch lors d'une étude à la Station de Pathologie Porcine de Ploufragan, réalisée chez des porcelets SPF inoculés avec diverses souches. Certaines souches ne présentaient aucun pouvoir pathogène (ni clinique, ni lésion), alors que d'autres déterminaient peu de lésions pulmonaires mais des polysérosites (péricardite, périsplénite, périhépatite, pleurésie).

1.3.3.4. Implication de *M.hyorhinis* dans la pathologie respiratoire

Bien qu'aucune étude n'ait prouvé par des épreuves d'inoculation, le rôle direct de *M.hyorhinis* dans le développement de la pneumonie, de nombreuses études tendent à montrer que cet agent pourrait avoir un rôle :

M.hyorhinis est, en effet, isolé plus fréquemment dans les poumons en cas de bronchopneumonie crânio-dorsale.^[52]

De plus, à Taïwan, Lin et al.^[74] ont montré que certaines souches sauvages pouvaient être suffisamment pathogènes pour causer une pneumonie primaire (il a été isolé seul dans 6 cas de

pneumonie). En effet, sur 163 cas de pneumonie enzootique porcine en 2002, 5 étaient dus à *M.hyorhinis*.

M.hyorhinis semble donc être un suiveur dans la plupart des cas de pneumonie, mais pourrait occasionnellement en être la cause primaire.^[110]

1.3.3.5. Facteurs favorisants

Dans tous les facteurs favorisants de la maladie, il semblerait que la composante immunologique soit le point clé de l'infection.

- *Facteurs non infectieux*

Les facteurs environnementaux décrits précédemment ou encore des évènements stressants pour l'organisme contribuent fortement à l'expression de la maladie.^[59]

Souvent l'infection a été objectivée lors d'introduction de jeunes sujets de haut niveau sanitaire dans des élevages plus conventionnels.^[85]

- *Facteurs infectieux*

Plusieurs études^[54, 59, 112] ont montré que *M.hyorhinis* est plus souvent isolé lorsque les porcs sont infectés avec le SDRPv, le PCV2, *Bordetella bronchispetica* ou le virus de l'Influenza porcine. Ces agents entraînent un affaiblissement du système immunitaire qui serait alors favorable à la dissémination de *M.hyorhinis*.

- *Facteurs liés au niveau immunitaire des porcs*

Les porcs sélectionnés pour leur haut niveau de réponse immunitaire seraient plus résistants au développement de pleurésies et de péricardites dues à *M.hyorhinis*, alors que ceux ayant un faible niveau de réponse immunitaire, seraient plus résistants aux arthrites dues à *M.hyorhinis*.^[81]

De plus, les porcs semblent également être plus résistants avec l'âge^[46]. Cette observation peut être reliée à la meilleure qualité de la réponse immunitaire des animaux plus âgés.

1.3.4. Signes cliniques

La plupart des infections à *M.hyorhinis* sont limitées à l'arbre respiratoire haut et peuvent occasionnellement atteindre les poumons.

Le plus souvent, ces infections sont subcliniques.^(45, 73)

La dissémination de *M.hyorhinis* dans l'organisme peut cependant provoquer de graves symptômes associés à la localisation des séreuses atteintes : pleurésie subaiguë à chronique (toux faible, respiration superficielle), péricardite chronique (essoufflement), péritonite chronique (diarrhée), polyarthrite chronique (boiterie chronique et tuméfaction des articulations).^[85]

Il est important de noter que l'infection à *M.hyorhinis* peut facilement être sous diagnostiquée, car son tableau clinique peut facilement être confondu avec celui provoquée par *Haemophilus parasuis* (pleurésie, péricardite, péritonite, boiterie).^[92]

1.3.4.1. Symptômes

- *En élevage*

Les symptômes fréquemment observés sont : fièvre (41°C), dyspnée, articulations enflées, boiterie, difficultés à se déplacer, anorexie modérée et retard de croissance.

M.hyorhinis a également été associé à de nombreuses autres présentations cliniques, notamment des rhinites, pneumonies^[74], otites^[89], conjonctivites, avortements ^[135].

Les symptômes dominants varient en fonction de l'âge des animaux^[92] :

	Post-sevrage	Engraissement
Symptômes	Fièvre (41°C) Boiterie Difficultés à se déplacer, se lever, Dos voussé, Œdème ventral	Principal signe clinique : Boiterie (difficulté au lever, position du chien assis) pouvant s'améliorer seule en 2 à 6 mois, Toux profonde et difficultés respiratoires sur une faible proportion d'animaux (semblable à une toux à <i>M.hyopneumoniae</i>)
Evolution et pronostic	Développement de symptômes liés à une infection chronique Bon taux de survie (avec traitement ou non)	Pronostic sombre

Tableau 7 : Tableaux cliniques de *M.hyorhinis* selon l'âge des animaux atteints



Figure 6 : Œdème ventral chez un porcelet en PS^[85]



Figure 7 : Porc en « chien assis »^[85]



Figure 8 : Conjonctivite chez le porc^[85]

- *Expérimentalement*

Des inoculations intrapéritonéales de *M.hyorhinis* ont permis de reproduire expérimentalement des polysérosites et des arthrites.^[43, 58, 67, 80, 107] Celles-ci ont pu être obtenues après inoculation intranasale sur des porcs SPF^[45, 63]. Lors de cette étude, les retards de croissance ont été objectivés : 22 jours supplémentaires ont été nécessaires pour obtenir un poids de 100 kg chez les porcs contaminés^[65].

Cependant, expérimentalement, très peu d'études^[48] ont montré un lien de causalité direct entre *M.hyorhinis* et la pneumonie.

1.3.4.2. Lésions

- *Lésions macroscopiques*

Les lésions de polysérosite sont caractérisées par une pleurésie, une péricardite ou une péritonite fibrineuse ou fibrinopurulente. Contrairement à la maladie de Glässer (polysérosite aiguë), il n'y a pas d'atteinte méningée.

L'évolution montre des lésions de sérosites chroniques avec de fortes adhérences.

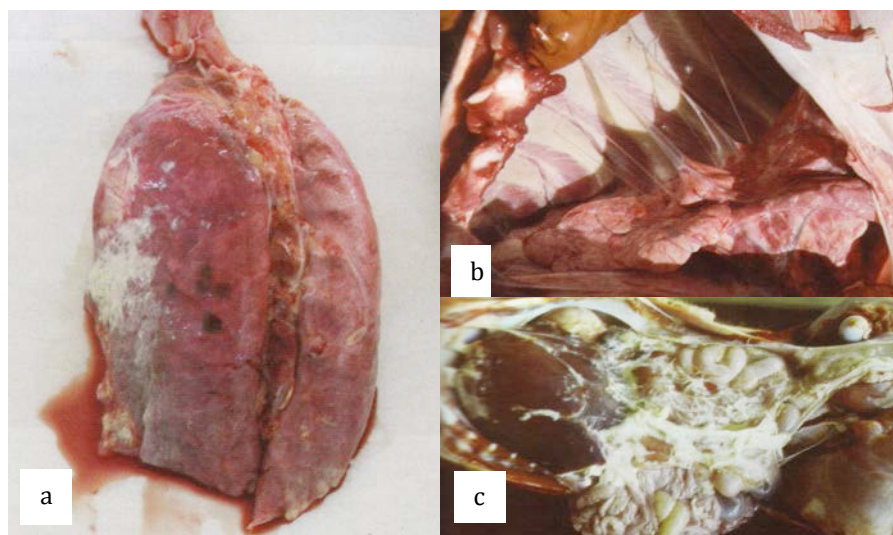


Figure 9 : *Lésions de polysérosites à M.hyorhinis : pleurésie chronique (a. et b.) / péritonite (c.)*^[85]

Les lésions d'arthrite sont caractérisées par une hypertrophie et hyperhémie de la membrane synoviale, le liquide synovial est sérosanguinolent et de volume augmenté. En phase chronique, une érosion articulaire peut être observée.^[65]

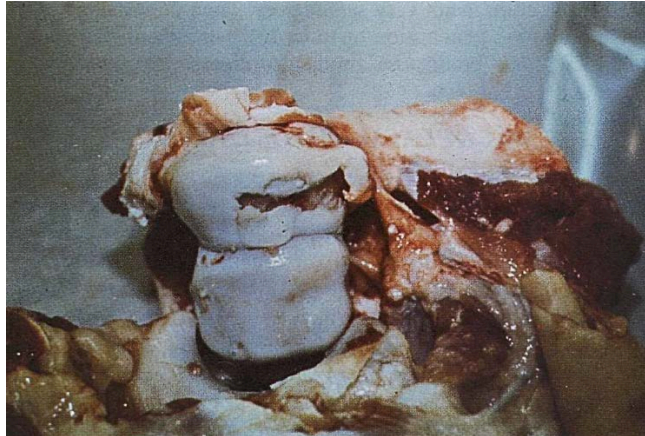


Figure 10 : Erosion articulaire observée dans les stades chroniques d'infection par *M.hyorhinis*.^[65]

Selon l'âge des animaux, des différences peuvent être observées à l'autopsie^[92] :

- en post-sevrage : péricardite, péritonite, pleurésie, forte quantité de liquide visqueux dans les articulations.
- en engraissement : consolidation crânio-ventrale des lobes pulmonaires +/- pleurésie / péricardite.

En cas de pneumonie, *M.hyorhinis* a été isolé le plus fréquemment dans le poumon droit. Dans ce cas, les lésions associées touchent principalement le lobe apical (23%), le lobe médiastinal (20%) et le lobe diaphragmatique (17%).^[76]

- *Lésions histologiques pulmonaires*

La pneumonie à *M.hyorhinis* correspond à une pneumonie interstitielle caractérisée par une infiltration lymphocytaire périvasculaire et péribronchique^[74]. Les bronchioles sont légèrement remplies par des lymphocytes, un œdème liquide et des macrophages sont observés dans les alvéoles.^[110]

L'examen histologique montre des lésions allant d'une pneumonie catarrhale à une bronchopneumonie purulente.

Expérimentalement, chez les animaux abattus 20 à 48 jours post-infection, la pneumonie, si elle est encore présente, se trouve dans le stade de la restitution, sans foyers inflammatoires récents.^[48]

Les lésions observées sont en général similaires à celles de la pneumonie enzootique.^[48]

1.3.5. Diagnostic

1.3.5.1. Diagnostic direct

- *Isolement et mise en culture*

Du fait de leur petit génome, les mycoplasmes nécessitent des milieux de culture in vitro particuliers : milieu liquide riche. Seules les colonies de *M.hyorhinis* peuvent être isolées sur milieu solide (croissance en 2 à 5 jours et les colonies mesurent 0,5 à 1 mm).

Les colonies de *M.hyorhinis* ont un aspect « d'œuf au plat » qui mesurent de 0,5 à 1 mm de diamètre et se développent lentement (jusqu'à 14 jours).^[23]



Figure 11 : Colonies de *M.hyorhinis* (en « œuf au plat »).

M.hyorhinis est également connu pour être un très grand contaminant des cultures de *M.hyopneumoniae*, ce qui peut, parfois, mener à des interprétations erronées des analyses.^[76]

La mise en culture reste une technique incompatible avec un diagnostic en routine et n'intéresse que le domaine de la recherche.

- *Immunohistochimie*

Réalisée sur des coupes de poumons, les mycoplasmes peuvent être visualisés très rapidement (quelques heures). Cependant, les réactions croisées avec *M.hyopneumoniae* et *M.flocculare* donnent de nombreux faux positifs. Cette méthode est donc moins sensible que l'isolement^[23], et si elle est utilisée, doit être couplée à d'autres outils diagnostiques.

- *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Cette technique consiste à amplifier et détecter des fragments d'ADN spécifiques de *M.hyorhinis*. Selon les études, les techniques varient mais le plus souvent, la détection est basée sur l'amplification d'une séquence d'ARNr16S.

Les supports sur lesquels sont réalisées les PCR sont variés ; de nombreuses études cherchent à comparer les techniques :

La PCR quantitative, réalisée sur écouvillons nasaux, est la méthode la plus sensible de détection de *M.hyorhinis* et est très spécifique. Elle peut être utilisée pour détecter *M.hyorhinis* sur des échantillons d'animaux malades afin de caractériser la prévalence de la colonisation à différents âges et évaluer l'efficacité du contrôle et du traitement.^[23]

La PCR sur salive est une analyse plus sensible que sur écouvillons pharyngiens pour détecter *M.hyorhinis* et *M.hyosynoviae*.^[117]
Les résultats sont souvent en accord avec la détection sur écouvillons nasaux. L'analyse de salive peut être utilisée pour la surveillance de l'infection mais la technique nécessite encore d'être validée par d'autres études.^[26]

La PCR sur tissu pulmonaire serait le meilleur prélèvement pour détecter *M.hyorhinis*, mais nécessite une mise en culture préalable pour obtenir les meilleurs résultats.^[82]

Dans les élevages atteints, *M.hyorhinis* est détecté par PCR dans le péricarde et les articulations de la plupart des animaux malades (entre 50 et 75%). Chez les animaux sains, *M.hyorhinis* n'est jamais isolé dans le péricarde et les articulations. Cependant, tous les animaux autopsiés en post-sevrage sont PCR-positifs pour *M.hyorhinis* dans les cavités nasales.^[26]

La PCR peut être précédée ou non d'une mise en culture. Le choix entre « PCR directe » ou « PCR après culture » donne des résultats différents selon le type de prélèvement ^[82] :

- sur liquide synovial, la PCR directe donne de meilleurs résultats
- sur tonsils et poumons : la PCR après culture donne significativement de meilleurs résultats avec une spécificité de 100% (pas de faux positifs) et une sensibilité de 98% (tonsils) et 89% (poumons). La sensibilité et la valeur prédictive négative sont plus hautes pour la détection de *M.hyorhinis* par PCR après culture.

L'interprétation d'une PCR nécessite toujours une réflexion. Plusieurs points sont à prendre en compte :

- Une PCR positive sur un écouvillon nasal n'est pas signe d'une maladie à *M.hyorhinis*.
 - De même, une PCR positive sur poumon n'est pas non plus le signe d'une maladie à *M.hyorhinis* (il est retrouvé dans des poumons sains). L'histopathologie peut permettre de comprendre le rôle potentiel de *M.hyorhinis* dans la pneumonie.
 - Cependant, il a été montré une association significative entre les lésions pulmonaires observées et un résultat positif en PCR après culture sur le tissu pulmonaire d'animaux malades. ^[82]
 - En général, les PCR positives sur péricarde, plèvre, péritoine ou articulations sont les signes d'une maladie systémique à *M.hyorhinis*.^[110]
- *Hybridation in situ*

Kim et al. ^[57], partant du principe que la détection seule de *M.hyorhinis* ne permet pas de confirmer le diagnostic, ont associé au diagnostic l'histologie et ont développé une technique d'hybridation *in situ* pour détecter l'ADN de *M.hyorhinis* (signal pour le gène p37 dans les cellules inflammatoires). Avec cette technique, ils ont isolé 16 fois *M.hyorhinis* sur 20 cas de polysérosites.

1.3.5.2. Diagnostic indirect

- *Sérologies ELISA*

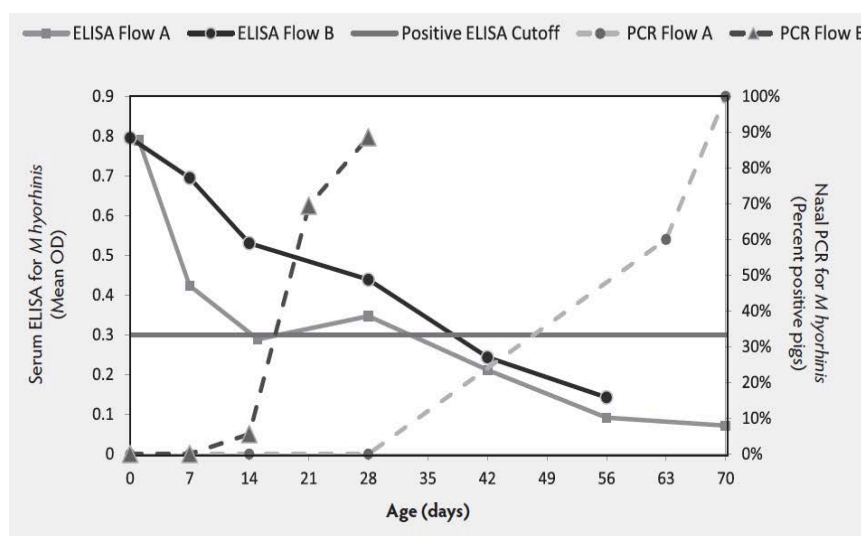


Figure 12 : Suivi sérologique de l'infection à *M.hyorhinis*^[117]

Les anticorps d'origine maternelle passent sous le seuil de positivité ELISA en moyenne à partir du 35^{ème} jour de vie ^[117], puis les titres en anticorps augmentent entre le 64^{ème} et le 94^{ème} jour, témoins d'une réponse immunitaire active.^[20]

Les anticorps sériques sont détectables par différentes techniques (fixation du complément, hémagglutination indirecte ...).

Il a été montré, qu'après une infection expérimentale, les anticorps peuvent être détectés 6 semaines post-infection.^[63]

Cependant, il n'existe pas de test sérologique disponible actuellement en routine pour *M.hyorhinis*.^[23]

Cette technique, utilisée en routine, permettrait d'avoir une approche globale de la population par la réalisation de sérologies transversales.

1.3.5.3. Quand prélever ?

Kobisch et Friis ont montré que les prélèvements étaient meilleurs sur des animaux en phase aiguë ou subaiguë.

1.3.6. Les co-infections impliquant *M.hyorhinis*

Le plus souvent, *M.hyorhinis* n'est pas isolé seul. Selon les études, il a souvent été mis en évidence en association avec d'autres agents infectieux tels que le SDRPv, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, et le virus de l'Influenza porcine.

1.3.6.1. Co-infection avec le SDRPv

Il a été montré qu'une infection double SDRPv/*M.hyorhinis* entraîne des lésions pulmonaires sévères.^[52]

1.3.6.2. Co-infection avec *S.suis*

Dans un élevage avec clinique respiratoire où il a été isolé *M.hyorhinis* et *S.suis*, un protocole de traitement à la tulathromycine (Draxxin®), non actif sur *S.suis*, a montré que *M.hyorhinis* pourrait être un facteur prédisposant au développement de *S.suis*. Ceci laisserait donc penser que *M.hyorhinis* pourrait être une cause primaire des signes respiratoires observés.^[123]

1.3.6.3. Co-infection avec *H.parasuis*

L'infection à *M.hyorhinis* peut facilement être sous diagnostiquée, car la clinique peut être confondue avec celle provoquée par *Haemophilus parasuis*. Souvent les deux agents sont isolés ensemble.^[92]

En effet, une étude^[110] a montré que dans 40% des cas de polysérosite, *M.hyorhinis* a été isolé avec *H.parasuis* et dans 28% des cas, les PCR étaient négatives pour les deux agents. De même, *Struzberg-Minder et al.*^[121] ont montré que *H.parasuis* et *M.hyorhinis* ont été isolés ensemble sur 7% des porcs présentant une clinique de polysérosite, mais jamais ensemble sur des animaux sains.

Cela pourrait indiquer une synergie entre les deux agents, ou plus probablement, que ces deux agents sont secondaires à un facteur favorisant comme une maladie respiratoire.^[109]

1.3.6.4. Co-infection avec *P.multocida*

Dans le cas de broncho-pneumonies chroniques, une association significative a été démontrée entre *M.hyorhinis* et *Pasteurella multocida*.^[52]

1.3.7. Traitement et vaccination

1.3.7.1. Sensibilité et résistance de *M.hyorhinis* aux traitements antibiotiques

L'absence de paroi cellulaire des mycoplasmes fait que ceux-ci sont naturellement résistants à certaines familles d'antibiotiques comme les pénicillines et les céphalosporines.

Les seules études concernant la sensibilité aux antibiotiques de *M.hyorhinis* ont été réalisées *in vitro* ^[62, 136] :

Sensibilité de <i>M.hyorhinis</i>	Résistance de <i>M.hyorhinis</i>
Oxytétracycline Lincomycine Tylosine Clindamycine Tous les sulfonamides	Erythromycine

Tableau 8 : Sensibilité et résistance démontrées face aux antibiotiques de *M.hyorhinis*.

Au Japon, il été démontré^[61] que les souches de *M.hyorhinis* résistantes aux macrolides ont quadruplé ces dernières années.

1.3.7.2. Mise en place du traitement

Le traitement est à mettre en place très précocement (avant le développement des lésions chroniques, irréversibles).

1.3.7.3. Vaccination

Aujourd'hui, il n'existe pas de vaccin contre *M.hyorhinis* et aucune protection croisée avec le vaccin *M.hyopneumoniae* n'a été démontrée.^[73]

1.3.8. Contrôle de l'infection à *M.hyorhinis*

Le caractère ubiquiste de *M.hyorhinis* ainsi que le manque d'information concernant la dynamique d'infection et de la pathogénie de cet agent ne permettent pas de proposer à l'éleveur des mesures de contrôle spécifiques.^[113]

Le contrôle de l'infection à *M.hyorhinis* en élevage nécessite alors un contrôle préalable des infections initiatrices. Puis des mesures d'hygiènes et de gestion générales du troupeau comme :

- l'acclimatation à l'introduction des cochettes et verrats avec les porcs en finition,
- le contrôle du stress des animaux (densité, variations de température, ventilation, alimentation et abreuvement),
- l'amélioration des conditions d'environnement.

Partie 1 : CONCLUSION

La pathologie respiratoire chez le porc est une entité très complexe à explorer et à gérer. L'implication d'agents primaires et secondaires compliquent la tâche d'autant que, bien souvent, il est difficile de classer les différents agents isolés.

*C'est le cas pour *M.hyorhinis*, qui depuis quelques années, est de plus en plus isolé en cas de problèmes respiratoires en élevage. La question de son implication directe dans la pathologie respiratoire est donc légitime. Doit-il être toujours considéré comme un agent mineur de la pathologie respiratoire, comme l'avait décrit T.Opriessnig, ou peut-il, aujourd'hui être considéré comme un agent majeur ?*

Comme cela a été vu, la classification en tant qu'agent majeur ou mineur repose à la fois sur la notion de fréquence d'isolement de cet agent et sur son pouvoir pathogène.

L'absence de sérologies de routine visant cet agent, limite fortement les études concernant la dynamique d'infection et le développement du processus pathologique associé ainsi que le suivi régulier de l'infection en élevage. De plus, son pouvoir pathogène propre, vis-à-vis de la pathologie respiratoire n'ayant été que peu étudié, la première étape pour répondre à la question posée sera donc d'étudier sa fréquence d'isolement en élevage porcin et son implication dans les co-infections bactériennes.

**2. Etude comparée de la fréquence d'isolement de *Mycoplasma hyorhinis* en
élevage porcin dans l'ouest de la France**

2.1. Contexte de l'étude expérimentale

2.1.1. Point de départ de l'étude

Cas 1

En novembre 2011, dans un élevage naisseur-engraisseur des Côtes d'Armor (22) multisite (1 site de 400 truies et 21 bandes, et un autre de 200 truies et 10 bandes), présentant un mauvais état sanitaire en engraissement depuis plusieurs années, avec des taux de pertes élevés (8%) et des symptômes principalement respiratoires, *M.hyorhina* a été mis en évidence.

En effet, des lavages trachéo-bronchiques ont été réalisés sur 15 animaux présentant des symptômes respiratoires à 10 et 20 semaines d'âge ; 5 d'entre eux ont été autopsiés pour réaliser des analyses histologiques.

Les analyses PCR (LDA 22), réalisées par pools de 2 à 3 animaux ont permis d'identifier *M.hyorhina* seul ou en association avec d'autres agents pathogènes dans la plupart des lavages trachéo-bronchiques (surtout à 20 semaines d'âge).

Lors des 5 autopsies, *M.hyorhina* a été identifié à la fois à l'histologie et dans le prélèvement du lavage trachéo-bronchique, avec des conclusions nécropsiques décrivant un tableau clinique compatible avec une polysérosite à *M.hyorhina*.

Malgré les résultats positifs des PCR, la mise en culture n'a pas permis d'isoler *M.hyorhina*.

Enquête préliminaire

Suite à ce cas, le Réseau Cristal, en partenariat avec Zoétis a mis en place une « enquête BAL », en réalisant des dépistages dans 11 élevages, sur des animaux en engraissement présentant des signes cliniques respiratoires : sur 11 élevages prélevés, 9 ont présenté des résultats positifs pour les recherches PCR de *M.hyorhina* à partir de lavages trachéo-bronchiques.

Dans ces 9 élevages, sur 30 analyses (individuelles ou en pools), 19 résultats ont été positifs (9/18 analyses individuelles ; 10/12 analyses en pools).

Cette étude préliminaire de terrain a donc permis d'estimer (sans validation statistique) que :

- *M.hyorhina* a été identifié dans 80% des élevages présentant des troubles respiratoires,
- la prévalence de *M.hyorhina* dans les élevages où il a été identifié varie entre 39 et 77%.

2.1.2. Position actuelle des vétérinaires face à *M.hyorhina*

Les informations obtenues par cette « enquête BAL », bien que très peu précises, ont conduit les vétérinaires du Réseau Cristal à se poser la question de l'implication de *M.hyorhina* dans la pathologie respiratoire porcine et son rôle dans les co-infections bactériennes.

A cela, s'ajoute l'aspect diagnostic/dépistage de l'outil de prélèvement utilisé. En effet, le lavage trachéo-bronchique, technique que le réseau Cristal tend à développer, s'avère être un outil intéressant dans la détection des agents pathogènes respiratoires et valorisante en terme d'acte vétérinaire réalisé en élevage. Mais l'interprétation de ces lavages trachéo-bronchiques, notamment dans le cas de la mise en évidence de *M.hyorhina*, reste ambiguë. Dans quelle

mesure, cet outil permettrait-il un dépistage ou un diagnostic de l'infection à *M.hyorhinis* et des autres agents pathogènes respiratoires ?

2.1.3. Objectifs et principes de l'étude

L'objectif de l'étude est de comparer la fréquence d'isolement de *M.hyorhinis* dans des élevages présentant une clinique respiratoire et dans des élevages ne présentant pas de clinique respiratoire, à partir de lavages et d'écouvillons trachéo-bronchiques sur des porcs en engraissement. A cela s'ajoute une étude des co-infections bactériennes, dans lesquelles *M.hyorhinis* pourrait être impliqué.

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1. Matériel

2.2.1.1. Répartition géographique des élevages inclus dans l'étude

L'étude se déroule dans 14 élevages de 5 départements du Grand Ouest français : 5 élevages dans les Côtes d'Armor (22), 2 dans la Manche (50), 2 en Ille-et-Vilaine (35), 3 dans le Morbihan (56) et 2 dans l'Indre (36).

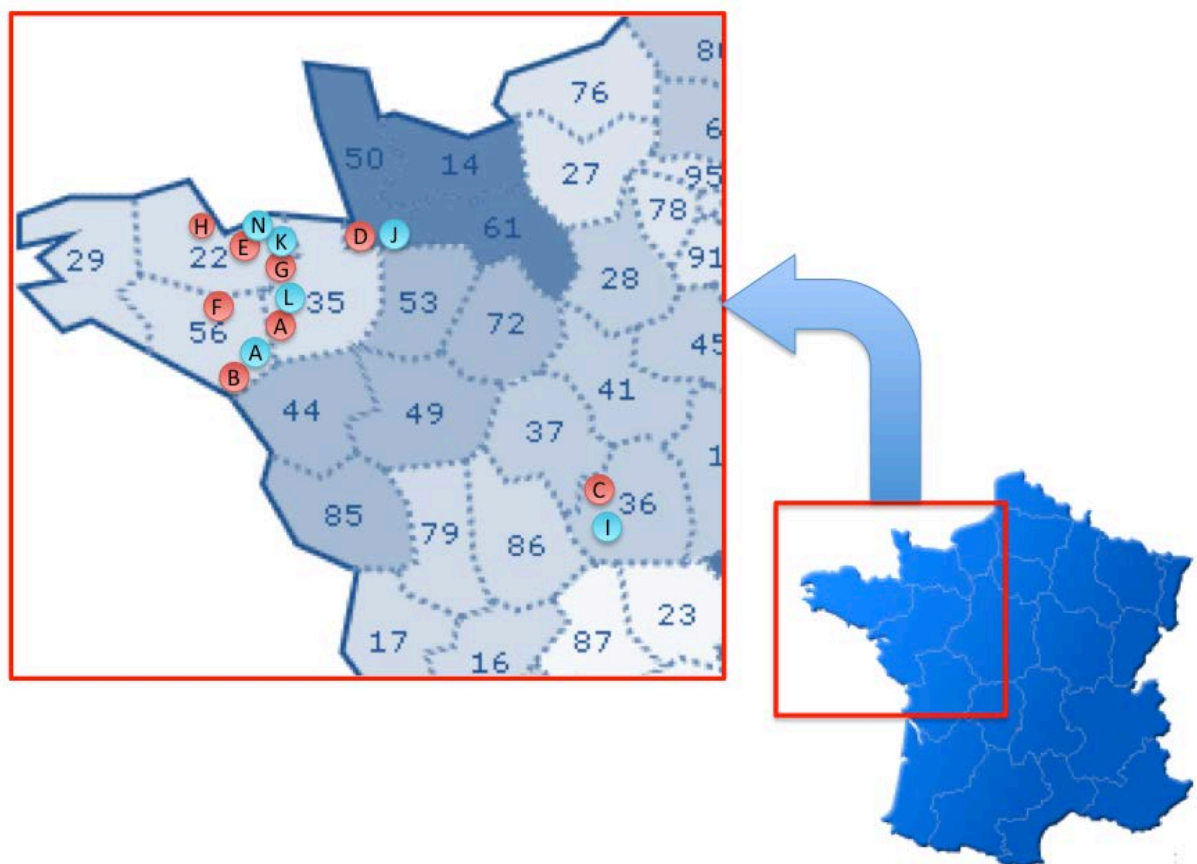


Figure 13 : Répartition géographique des élevages inclus dans l'étude (Rouge : élevages « cas » / Bleu : élevages « témoins »)

Elevages « cas »	A	GAEC La Glinais, 35290 - Quédillac
	B	SARL Mahé, 56250 - Monterblanc
	C	SCEA du Pont des Champs, 36400 Montlevicq
	D	Gautier René-Marc, 50170 - Servon
	E	GAEC des Granges, 22400 - Saint Denoual
	F	SCEA Annic, 56490 - Guilliers
	G	SCEA Le Dily, 22350 - Plumaudan
	H	EARL Vivier, 22120 - Quessoy
Elevages « témoins »	I	EARL Van de Broeck, 36160 - Feusines
	J	SARL Gougeon, 50600 - Moulines
	K	EARL de la Pontais, 22100 - Taden
	L	SCEA de la Métairie Neuve, 35360 - La Chapelle du Lou
	M	EARL Porcine de Trédion, 56250, Trédion
	N	Toublanc André, 22550 L'Hopital, Matignon

Tableau 9 : Liste des élevages inclus dans l'étude.

Huit d'entre eux ont été identifiés par les vétérinaires du Réseau Cristal comme ayant des problèmes respiratoires majeurs et difficilement gérables (élevages « cas »); dans les six autres, la pathologie respiratoire n'a pas été identifiée comme étant une pathologie dominante (élevages « témoins »).

2.2.1.2. Description des élevages « cas » et des troubles sanitaires

GAEC La Glinais, 35290 – Quédillac

Les prélèvements ont été réalisés le 19/09/2013 avec l'aide du Docteur C.Pacot.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	80
Nb de bandes	7
Âge au sevrage	28 jours
Renouvellement	Achat de cochettes
Taux de renouvellement	40 %
Allotement au sevrage	1 unique parc, sur paille
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	5
Nb d'animaux par salle	110
Nb de cases par salle	3 salles de 4 cases + 1 salle de 5 cases + 1 salle de 6 cases
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Sec
Statut sanitaire connu de l'élevage	
SDRP	Négatif
<i>M.hypopneumoniae</i>	Positif (vacciné)
<i>H. parasuis</i>	Négatif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Négatif
PCV2	Non évalué
Traitements systématiques réalisés	
1 ^{er} âge	Colistine + Triméthoprime-Sulfamides
2 ^{ème} âge	Tylosine
Programme de vaccination	
PS	Circovac®, Merial (PCV2) Ingelvac® M.hyo, Boehringer Ingelheim (<i>M.hypopneumoniae</i>)
Truies	Parvoruvax®, Merial (rouget, parvovirus)
Résultats GTE de l'élevage	
Nb de porcs produits / truie présente / an	22,5
Indice de consommation 30-115 kg	2,62
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/j)	783
Description des troubles sanitaires	
Date d'apparition	Plusieurs années, aggravation depuis mi-août 2013 (5 semaines)
PS	Dyspnée, toux chronique, touchant 70-80% des animaux
Engraissement	Dyspnée, toux chronique, touchant 70-80% des animaux
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	60-70 kg
Comptage de toux	19 %
Traitements réalisés	Doxycycline, paracétamol, vitamine C, 15 jours auparavant
Infos complémentaires	Toux depuis le post-sevrage

Tableau 10 : Fiche descriptive du GAEC La Glinais

Les prélèvements ont été réalisés le 08/08/2013 avec l'aide du Docteur L.Lecarpentier.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	460
Nb de bandes	20
Âge au sevrage	21 jours
Renouvellement	Achat de cochettes + auto-renouvellement
Allotement au sevrage	Par portée
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	15 dans le bâtiment principal (+ 4 autres entre 2 autres bâtiments)
Nb d'animaux par salle	240
Nb de cases par salle	8
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu	
SDRP	Négatif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Positif (vacciné)
<i>H.parasuis</i>	Positif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Négatif
PCV2	Positif
Traitements systématiques	
1 ^{er} âge	Amoxicilline
Programme de vaccination	
PS	Circovac®, Merial (PCV2) Ingelvac® M.hyo (<i>M.hyopneumoniae</i>)
Truies	Circovac®, Merial (PCV2) Porcilis ART® DF, MSD (<i>Pasteurella multocida</i> toxinogène)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	26
Indice de consommation 30-115 kg	2,7
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/j)	840
Description des troubles sanitaires	
Date d'apparition	2011
PS	Hyperthermie, décubitus, dyspnée, toux chronique touchant 30 à 40 % des animaux. Cyclicité, 2 à 3 fois par an → grippe
Engraissement	Toux chronique, amaigrissement, en début / milieu d'engraissement, touchant 20 à 30 % des animaux. Taux de perte : 2,5-3 % en engraissement.
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	80 - 90 kg – 140 jours
Comptage de toux	4-5 %
Traitements réalisés	Aucun

Tableau 11 : Fiche descriptive de la SARL Mahé

Les prélèvements ont été réalisés le 13/09/2013 avec l'aide du Docteur J.Houlbert.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	650
Nb de bandes	10
Âge au sevrage	21 jours
Renouvellement	Auto-renouvellement
Allotement au sevrage	Par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb d'animaux par salle	150
Nb de cases par salle	12
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu de l'élevage	
SDRP	Négatif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Positif (vacciné)
<i>H.parasuis</i>	Positif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Positif
PCV2	Positif
Traitements systématiques réalisés	
Aucun	
Programme de vaccination	
Porcelets	Suvaxyn® Mhyo Parasuis, Zoetis (<i>H.parasuis</i> et <i>M.hyopneumoniae</i>)
PS	Ingelvac®Circoflex, Boehringer Ingelheim (PCV2)
Truies	Porcilis® E+P, MSD (rouget, parvovirus) Porcilis ART® DF, MSD (<i>Pasteurella multocida</i> toxigène) Porcilis Porcoli® DF, MSD (<i>E.coli</i>) Autovaccin <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> et <i>Streptococcus suis</i> type 2
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	25,5
Indice de consommation 30-115 kg	2,8
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/j)	815
Description des troubles sanitaires	
Date d'apparition	2011
Engraissement	Dyspnée, toux chronique, retards de croissance, touchant 10 à 20 % des animaux ; avec des taux de pertes élevés (5 à 6 %). Des autopsies réalisées en mai 2011 ont montré des lésions de pleurésie aiguë.
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	23 semaines
Comptage de toux	8,5 %
Traitements réalisés	Pas de traitements réalisé avant les prélèvements

Tableau 12 : Fiche descriptive de la SCEA Du Pont des Champs

M.Gautier René-Marc, 50170 - Servon

Les prélèvements ont été réalisés le 17/09/2013 avec l'aide du Docteur M.Retureau.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	150
Nb de bandes	5
Âge au sevrage	21 jours
Renouvellement	Achat de cochettes
Allotement au sevrage	Par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	8
Nb d'animaux par salle	90-180
Nb de cases par salle	4-6
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Sec
Statut sanitaire connu	
SDRP	Négatif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Positif
<i>H.parasuis</i>	Positif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Négatif
PCV2	Négatif
Traitements systématiques	
Engraissement	Tylosine
Programme de vaccination	
Porcelets	Porcilis® Glässer, MSD (<i>H.parasuis</i>)
Truies	Parvoruvax®, Merial (rouget, parvovirus) Gripovac®3, Merial (virus Influenza H1N1, H3N2, H1N2) Circovac®, Merial (PCV2)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	24
Indice de consommation 30-115 kg	2,3
Gain moyen quotidien 30-115 kg	780 g/jour
Description des troubles sanitaires	
Date d'apparition	2008
PS	Toux légère
Engraissement	Dyspnée, toux chronique, +/- boiterie, touchant 20-30 % des animaux, avec des taux de pertes légèrement élevés (3,1%)
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	80-90 kg
Comptage de toux	13,6 % (toux sèches, quinteuses)
Traitements réalisés	Tylosine, 10 jours auparavant

Tableau 13 : Fiche descriptive de l'élevage de M.Gautier René-Marc

GAEC des Granges, 22400 – Saint Denoual

Les prélèvements ont été réalisés le 18/09/2013 avec l'aide du Docteur D.Descamps.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	250
Nb de bandes	7
Âge au sevrage	21 jours
Renouvellement	Achat de cochettes
Allotement au sevrage	Par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	5
Nb d'animaux par salle	276
Nb de cases par salle	12
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Sec
Statut sanitaire connu	
SDRP	Positif
<i>M.hypopneumoniae</i>	Non évalué
<i>H.parasuis</i>	Négatif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Négatif
PCV2	Non évalué
Traitements systématiques	
1 ^{er} âge	Tiamuline, chlortétracycline
Programme de vaccination	
Cochettes	Circovac®, Merial (PCV2) / Parvoruvax®, Merial (rouget, parvovirus) Porcilis ART® DF, MSD (<i>Pasteurella multocida</i> toxigène) Porcilis® PRRS IM, MSD (SDRP)
Truies	- Gestantes : Porcilis ART® DF, MSD (<i>Pasteurella multocida</i> toxigène) Gripovac®3, Merial (virus Influenza H1N1, H3N2, H1N2) - En maternité : Porcilis® PRRS IM, MSD (SDRP)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	22,4
Indice de consommation 30-115 kg	2,67
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/j)	798
Description des troubles sanitaires	
Date d'apparition	Mai 2013
PS	Dyspnée, toux chronique, retards de croissance et hétérogénéité, touchant 10 à 20 % des animaux
Engraissement	Dyspnée, toux chronique et hétérogénéité touchant 10 à 20 % des animaux avec des taux de pertes légèrement élevés (3,3 %)
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	110 kg
Comptage de toux	< 3 %
Traitements réalisés	Sans objet
Infos complémentaires	Taux de perte en PS de cette bande élevé (4,46 %) ; Au jour de la visite, 5 morts sur 266 animaux. Poids à l'entrée en engraissement : 23 kg au lieu de 31 kg en

Tableau 14 : Fiche descriptive du GAEC des Granges

Les prélèvements ont été réalisés le 20/09/2013 avec l'aide du Docteur L.Lecarpentier.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Post-sevreur / engraisseur
Nb d'animaux par lot	340
Rythme de remplissage	Tous les 15 jours
Origine des animaux	Maternité collective
Âge d'entrée des porcelets	19-21 jours
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb d'animaux par salle	148
Nb de cases par salle	12
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu	
SDRP	Positif (négatif en fin de PS mais recirculation en engraissement)
M.hypopneumoniae	Non évalué - Vacciné
H.parasuis	Non évalué
A.pleuropneumoniae	Non évalué
PCV2	Non évalué
Traitements systématiques	
Sans objet	
Programme de vaccination	
PS	Circovac®, Merial (PCV2) Suvaxyn® M.hyo Mono, Zoetis (<i>M.hypopneumoniae</i>)
Truies	Parvoruvax®, Merial (rouget, parvovirus)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	22,5
Indice de consommation 30-115 kg	2,62
Gain moyen quotidien 30-115 kg	783 g/jour
Description des troubles sanitaires	
Date d'apparition	Problèmes respiratoires depuis très longtemps, aggravation depuis 6 mois.
Engraissement	Dyspnée, toux à partir de 70 kg, perte d'état, touchant 20 à 30 % des animaux.
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	90-100 kg
Comptage de toux	5 %
Traitements réalisés	Aspirine
Infos complémentaires	Mortalité élevée en fin d'engraissement sur ce lot

Tableau 15 : Fiche descriptive de la SCEA Annic

SCEA Le Dily, 22350 - Plumaudan

Les prélèvements ont été réalisés le 20/09/2013 avec l'aide du Docteur L.Lecarpentier.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	400
Nb de bandes	7
Âge au sevrage	28 j
Renouvellement	Achat de cochettes
Taux de renouvellement	
Allotement au sevrage	Par rang de portée et par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	9
Nb d'animaux par salle	1x120, 3x104, 1x52, 5x150
Nb de cases par salle	4
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu	
SDRP	Positif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Positif
<i>H.parasuis</i>	Positif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Non évalué
PCV2	Positif
Traitements systématiques	
Porcelets	Shotapen® à la castration
PS	Chlortétracycline 800ppm dans l'aliment
Programme de vaccination	
Porcelets (sevrage)	Circovac®, Merial (PCV2) Suvaxyn® M.hyo Mono, Zoetis (<i>M.hyopneumoniae</i>)
Truies	Porcilis PRRS Parvoruvax®, Merial (rouget, parvovirus) Porcilis ART® DF, MSD (<i>Pasteurella multocida</i> toxinogène) Porcilis Porcoli® DF, MSD (<i>E.coli</i>) Suvaxyn® Mhvo Parasuis, Zoetis (<i>H.parasuis</i> et <i>M.hyopneumoniae</i>)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	27,6
Indice de consommation 30-115 kg	2,4 à 2,7 (variable selon bâtiments)
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/j)	780 à 950 (variable selon bâtiments)
Description des troubles sanitaires	
Date d'apparition	Plusieurs années
Engraissement	Toux chronique
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	90 kg
Comptage de toux	< 3 %
Traitements réalisés	Aucun

Tableau 16 : Fiche descriptive de la SCEA Le Dily

Les prélèvements ont été réalisés le 04/09/2013 avec l'aide du Docteur D.Descamps.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	450
Nb de bandes	21
Âge au sevrage	21 jours
Renouvellement	Achat de cochettes
Allotement au sevrage	Par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	11
Nb d'animaux par salle	160
Nb de cases par salle	10
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Nourrisseur
Statut sanitaire connu	
SDRP	Positif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Positif (vacciné)
<i>H.parasuis</i>	Positif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Négatif
PCV2	Positif
Traitements systématiques	
1 ^{er} âge	Oxytétracycline
Engraissement	Oxytétracycline + Amoxicilline + TMP-Sulfa
Programme de vaccination	
Porcelets	Suvaxyn® M.hyo Mono, Zoetis (<i>M.hyopneumoniae</i>)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	30
Indice de consommation 30-115 kg	Absence de données
Gain moyen quotidien 30-115 kg	Absence de données
Description des troubles sanitaires	
Date	Plus de 7 ans
Nurserie et PS	Dyspnée, toux chronique et retard de croissance touchant moins de 10 % des animaux.
Engraissement	Dyspnée, toux chronique, retard de croissance et difficultés locomotrices touchant moins de 10 % des animaux. Des autopsies réalisées il y a 1 an ont mis en évidence des lésions de pleurésie, de pneumonie et d'arthrite de type aigu à chronique. Evolution vers amélioration.
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	70 kg – 20 semaines
Comptage de toux	<3 %
Traitements réalisés	Pas de traitement sur le lot prélevé.

Tableau 17 : Fiche descriptive de l'EARL Vivier

2.2.1.3. Description des élevages « témoins » et des troubles sanitaires

EARL Van de Broeck, 36160 Feusines

Les prélèvements ont été réalisés le 13/09/2013 avec l'aide du Docteur J.Houlbert.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	200
Nb de bandes	4
Âge au sevrage	28 jours
Renouvellement	Auto-renouvellement
Allotement au sevrage	Par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	2
Nb d'animaux par salle	120 - 160
Nb de cases par salle	6 - 8
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu	
SDRP	Négatif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Positif (vacciné)
<i>H.parasuis</i>	Positif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Positif
PCV2	Positif
Traitements systématiques	
Sans objet	
Programme de vaccination	
Porcelets	Suvaxyn® M.hyo parasuis, Zoetis (<i>H.parasuis</i> et <i>M.hyopneumoniae</i>)
Cochettes	Circovac®, Merial (PCV2) Porcilis ART® DF, MSD (<i>Pasteurella multocida</i> toxinogène) Porcilis® E+P, MSD (rouget, parvovirus)
Truies	Circovac®, Merial (PCV2) Porcilis® E+P, MSD (rouget, parvovirus) Porcilis ART® DF, MSD (<i>Pasteurella multocida</i> toxinogène)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	27
Indice de consommation 30-115 kg	2,6
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/j)	888
Description des troubles sanitaires	
Pas de pathologie respiratoire majeure. Toux en PS et engraissement touchant 10 à 20 % des animaux, gérée au cas par cas avec de l'oxytétracycline et du TMP-sulfa si chronique, et de la tulatromycine et d'amoxicilline en cas de toux aiguë.	
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	90 kg
Comptage de toux	0 %
Traitements réalisés	Sans objet

Tableau 18 : Fiche descriptive de l'EARL Van de Broeck

SARL Gougeon, 50600 – Moulines

Les prélèvements ont été réalisés le 17/09/2013 avec l'aide du Docteur M.Retureau.
Il s'agit d'un élevage ayant été **dépeuplé-repeuplé** en novembre 2012.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	200
Nb de bandes	5
Âge au sevrage	21 jours
Renouvellement	Achat de cochettes (Nucleus, assainies)
Allotement au sevrage	Par portée et par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	7
Nb d'animaux par salle	180
Nb de cases par salle	12-14
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Sec
Statut sanitaire connu	
SDRP	Négatif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Négatif
<i>H.parasuis</i>	Non évalué
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Négatif
PCV2	Non évalué
Traitements systématiques	
Sans objet	
Programme de vaccination	
Truies	Parvoruvax®, Merial (rouget, parvovirus) Circovac®, Merial (PCV2) Porcilis Porcoli® DF, MSD (<i>E.coli</i>)
Résultats GTE	
Absence de données depuis le dépeuplement - repeuplement	
Description des troubles sanitaires	
Sans objet	
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	60-70 kg
Comptage de toux	0 %

Tableau 19 : Fiche descriptive de la SARL Gougeon

EARL de la Pontais, 22100 – Taden

Les prélèvements ont été réalisés le 17/09/2013 avec l'aide du Docteur M.Retureau.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	220
Nb de bandes	4
Âge au sevrage	21 jours
Renouvellement	Achat de cochettes
Allotement au sevrage	Par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	10
Nb d'animaux par salle	132
Nb de cases par salle	12
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu	
SDRP	Négatif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Négatif
<i>H.parasuis</i>	Négatif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Négatif
PCV2	Positif
Traitements systématiques	
Sans objet	
Programme de vaccination	
Porcelets	Circovac®, Merial (PCV2)
Truies	Parvovax®, Merial (parvovirus) Ruvax®, Merial (rouget)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	23,5
Indice de consommation 30-115 kg	2,6
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/jour)	700
Description des troubles sanitaires	
Pas de pathologie respiratoire majeure	
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	60-70 kg
Comptage de toux	1 %

Tableau 20 : Fiche descriptive de l'EARL de la Pontais

SCEA de la Métairie Neuve, 35360 - La Chapelle du Lou

Les prélèvements ont été réalisés le 19/09/2013 avec l'aide du Docteur C.Pacot.
Cet élevage a été **dépeuplé –repeuplé**, il y a quelques années.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	280
Nb de bandes	7
Âge au sevrage	28 jours
Renouvellement	Achat de cochettes
Allotement au sevrage	Par portée + cases de petits
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	8 salles de 122 animaux + 2 salles de 72 animaux
Nb de cases par salle	12
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu	
SDRP	Positif
<i>M.hyopneumoniae</i>	Positif (vacciné)
<i>H.parasuis</i>	Négatif
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Négatif
PCV2	Positif
Traitements systématiques	
Sans objet	
Programme de vaccination	
Porcelets	Circovac®, Merial (PCV2) Ingelvac® M.hyo, Boehringer Ingelheim (<i>M.hyopneumoniae</i>) Autovaccin colibacillaire
Truies	Porcilis® E + P, MSD (rouget, parvovirus)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	22,4
Indice de consommation 30-115 kg	2,85
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/jour)	750
Description des troubles sanitaires	
Pas de pathologie respiratoire majeure	
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	95 kg - 160 jours
Comptage de toux	0 %

Tableau 21 : Fiche descriptive de la SCEA de la Métaire Neuve

EARL Porcine de Trédion, 56250 – Trédion

Les prélèvements ont été réalisés le 18/09/2013 avec l'aide du Docteur D.Descamps.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	395
Nb de bandes	10
Âge au sevrage	21 jours
Renouvellement	Achat de cochettes (50)
Allotement au sevrage	Par portée (1 case = 3 portées), par rang de portée, par poids + cases de petits
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	24
Nb d'animaux par salle	90 en moyenne
Nb de cases par salle	6 ou 12
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu	
SDRP	Négatif
<i>M.hypopneumoniae</i>	Positif (vacciné)
<i>H.parasuis</i>	Non évalué
<i>A.pleuropneumoniae</i>	Positif
PCV2	Positif
Traitements systématiques	
2 ^{ème} âge	Oxytétracycline – Tylosine pendant 15 jours
Programme de vaccination	
Porcelets	Circovac®, Merial (PCV2) Stellamune Mono Injection®, Zoetis (<i>M.hypopneumoniae</i>) Autovaccin <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	27
Indice de consommation 30-115 kg	2,82
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/jour)	817
Description des troubles sanitaires	
PS	Toux chronique touchant moins de 10 % des porcelets en post-sevrage, depuis au moins 3 ans.
Engraissement	Pas de pathologie respiratoire en engraissement.
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	60-70 kg
Comptage de toux	< 3 %
Traitements réalisés	Aucun

Tableau 22 : Fiche descriptive de l'EARL Porcine de Trédion

Toublanc André, 22550 - L'hôpital, Matignon

Les prélèvements ont été réalisés le 04/09/2013 avec l'aide du Docteur D.Descamps.

Typologie de l'élevage	
Type d'élevage	Naisseur-engraisseur
Nb de truies	200
Nb de bandes	7
Âge au sevrage	28 jours
Renouvellement	Achat de cochettes
Allotement au sevrage	Par poids
Description de l'atelier d'engraissement	
Nb de salles	16
Nb d'animaux par salle	140
Nb de cases par salle	2
Type de sol	Caillebotis
Type de ventilation	Dynamique
Alimentation	Soupe
Statut sanitaire connu	
SDRP	Négatif
M.hypopneumoniae	Positif (vacciné)
Haemophilus parasuis	Négatif
A.pleuropneumiae	Positif
PCV2	Positif
Traitements systématiques	
2 ^{ème} âge	Triméthoprim-sulfamide
Programme de vaccination	
Porcelets	Suvaxyn® M.hyo Mono, Zoetis (<i>M.hypopneumoniae</i>)
Résultats GTE	
Nb de porcs produits / truie présente / an	27
Indice de consommation 30-115 kg	Absence de données
Gain moyen quotidien 30-115 kg (g/jour)	Absence de données
Description des troubles sanitaires	
Engraissement	Episode de grippe (pneumonie virale) touchant moins de 10 % des animaux.
Informations sur le lot prélevé	
Âge / poids des porcs	90 - 100 kg
Comptage de toux	< 3 %
Traitements réalisés	Aucun

Tableau 23 : Fiche descriptive de l'élevage de M. Toublanc André

2.2.1.4. Les animaux

Les animaux concernés par cette étude sont des porcs en engraissement dont le poids varie de 60-70 kg à 100-110 kg selon les élevages. Dans chaque élevage, les animaux prélevés font partie de la même catégorie d'âge / poids.

2.2.2. Méthodes

2.2.2.1. Protocole expérimental

Principe de l'étude

En comparant les fréquences d'isolement de *M.hyorhina* dans 2 groupes d'animaux (un constitué d'animaux « sains » et l'autre constitué d'animaux « malades »), l'objectif de l'étude a été d'évaluer l'exposition **au facteur « *Mycoplasma hyorhina* » et d'évaluer s'il augmente ou non le risque potentiel pour un animal d'être malade ou non.**

L'étude mise en place, a consisté en une « enquête cas-témoins », avec les caractéristiques suivantes :

- le « facteur d'exposition » est *M.hyorhina* (est-il présent ou absent ?),
- les « cas » présentent des symptômes respiratoires,
- les « témoins » ne présentent pas de symptômes respiratoires.

L'implication de *M.hyorhina* dans les co-infections d'origine bactérienne a été également explorée, par l'étude des fréquences des différentes associations mises en évidence avec *M.hyopneumoniae*, *H.parasuis* et *S.suis*.

En l'absence de technique de prélèvement de référence pour la détection de *M.hyorhina*, tous les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnages et lavages trachéo-bronchiques. La comparaison (et validation statistique) des deux méthodes de prélèvement fera l'objet d'une étude ultérieure.

Calendrier

Les prélèvements ont été réalisés d'août à novembre 2013.

Critères d'inclusion des élevages

Les élevages, sélectionnés par les vétérinaires du Réseau Cristal dans leur clientèle devaient répondre aux critères suivants :

Elevage « CAS »	Elevage « TEMOINS »
Elevage présentant de la toux en engraissement : <ul style="list-style-type: none">- sur plus de 5% des porcs (déterminé par comptage de toux à l'entrée dans l'élevage)- avec des épisodes durant plus de 1 semaine (toux chronique)- depuis au moins 2 mois (toux récidivante)	Elevage ne présentant pas de toux en engraissement de plus d'1 semaine ou touchant moins de 5% des porcs depuis au moins deux mois

Tableau 24 : Critères d'inclusion dans l'étude des élevages "cas" et "témoins"

En pratique, la sélection et la discrimination entre élevages « cas » et « témoins » par les vétérinaires du Réseau Cristal, ont reposé sur leur connaissance des différents élevages. De ce fait, les **élevages « cas »** retenus sont des élevages pour lesquels, **une toux chronique touchant**

une proportion importante d'animaux a été identifiée et est difficilement gérable. Les élevages « témoins » sont des élevages dont l'historique ne met pas en évidence de pathologie respiratoire dominante.

Critères d'inclusion des porcs

Tous les porcs inclus dans l'étude ont été sélectionnés en engraissement.

- Sélection des porcs dans les élevages « témoins »

Dans les élevages témoins, la sélection des porcs prélevés a été effectuée de manière aléatoire et systématisée chez les porcs en engraissement :

- Tous appartenaient à la même salle (tirage au sort de la salle)
- Si le nombre de cases le permettait, tous ont été sélectionnés dans des cases différentes

- Sélection des porcs dans les élevages « cas »

Dans les élevages « cas », la sélection des porcs devait répondre aux critères suivants :

Porcs « CAS »	Porcs « TEMOINS »
Porcs en engraissement, présentant de la toux depuis au moins une semaine, le jour de la visite.	Porcs en engraissement, ne présentant pas de symptôme respiratoire le jour de la visite.

Tableau 25 : Critères d'inclusions des porcs dans les élevages "cas"

Tous les porcs (cas et témoins) ont été prélevés dans la même salle (déterminée par tirage au sort) ; les porcs ont été prélevés dans des cases différentes (dans la mesure du possible) ; pour chaque porc « cas » prélevé dans une case, un porc « témoin » a été prélevé dans la même case.

En pratique, lors du comptage de toux, les porcs présentant de la toux ont été repérés, puis ont été prélevés. Les porcs « témoins » sont des porcs qui n'ont pas présenté de toux lors de la visite.

Nombre de prélèvements

Les tailles d'échantillons ont été calculées, à partir du logiciel Openepi® et choisies en fonction des contraintes (surtout économiques et matérielles), sur la base d'une prévalence de *M.hyorhinis* supposée de 60% en élevage avec clinique (évaluation approximative issue de « l'enquête BAL » réalisée par Zoetis).

Ainsi, 14 élevages ont été sélectionnés : 8 élevages « cas » et 6 élevages « témoins ». Dans chaque élevage « cas », ont été prélevés :

- 10 porcs « cas »
- 10 porcs « témoins »

Dans chaque élevage « témoins », 10 porcs ont été prélevés.

Au total : 77 porcs « cas » et 140 porcs « témoins » ont été prélevés.

Traçabilité

Un recueil de commémoratifs a été rempli :

- pour chaque élevage,
- pour chaque porc prélevé.

Prélèvements

Pour chaque porc, un écouvillon trachéo-bronchique a été réalisé suivi d'un lavage trachéo-bronchique.

Conservation et gestion des prélèvements

Les prélèvements ont été conservés à +4°C et acheminés dans les 24h au laboratoire d'analyses de l'ANSES – site de Ploufragan.

2.2.2.2. Techniques de prélèvement

Plusieurs techniques de prélèvement existent, mais aucune technique de référence n'a été établie pour la détection de *M.hyorhinis*. Dans ce cas, la comparaison de deux techniques de prélèvement a semblé être adaptée.

La plupart des études sur le lavage broncho-alvéolaire se sont intéressées à la détection de *M.hyopneumoniae* et ont montré^[37] que pour sa détection sur des animaux vivants, les méthodes les plus sensibles sont le lavage et l'écouvillonnage trachéo-bronchique (beaucoup plus sensibles que l'écouvillonnage nasal et oro-pharyngé). Aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant les sensibilités de ces deux techniques, qui ont été évaluées pour *M.hyopneumoniae* respectivement à 74 et 68 %.

L'écouvillonnage trachéo-bronchique

- Données générales :

L'écouvillonnage trachéo-bronchique a été récemment étudié et utilisé afin de détecter différents agents pathogènes. Frederic Vangroenweghe l'a en effet utilisé afin d'étudier la prévalence de *M.hyopneumoniae*, du SDRPv, du PRCV, du PCMV, du SIV, de App et de Hps dans les ateliers d'élevage belges et néerlandais. Une étude réalisée en 2011 par Christelle Fablet et al. a montré que l'écouvillonnage trachéo-bronchique était la méthode la plus sensible (Se = 72%) pour la détection de *M.hyopneumoniae*, devant le lavage trachéo-bronchique (Se = 66%), l'écouvillonnage oro-pharyngé (Se = 53 %) et l'écouvillonnage nasal (Se = 23 %). Cette étude a donc montré une augmentation graduelle de la capacité à isoler *M.hyopneumoniae* le long des voies respiratoires.

Plus simple à mettre en œuvre que le lavage trachéo-bronchique, cette technique serait également moins invasive.

- Technique
Matériel :
 - 1 cathéter (53cm, 12G) : Medical aspiration tube (Medinorm GmbH®),
 - 1 pas-d'âne,
 - 1 lasso,
 - 1 tube sec contenant de l'eau peptonée tamponnée.

Prélèvement :



Figure 14 : Technique de l'écouvillonnage trachéo-bronchique (1. Contention et mise en place du pas d'âne/ 2. Introduction du cathéter dans la trachée / 3. Récupération de l'extrémité distale du cathéter)

Le lavage trachéo-bronchique

- Données générales

La technique du lavage trachéo-bronchique peut être indifféremment utilisée chez les porcelets en post-sevrage ou chez des porcs charcutiers tout au long de la période d'engraissement (la facilité du prélèvement augmentant avec la taille de l'animal).^[105]

L'anesthésie n'est pas recommandée, car en général, les produits utilisés augmentent la production de mucus bronchique, et diminuent l'activité ciliaire, pouvant fausser les analyses.^[74]

De nombreux inhibiteurs d'amplification (gênants pour la PCR) doivent être éliminés, sachant que sur le terrain, de nombreux autres agents étrangers et l'inflammation provoquent possiblement une inhibition d'amplification sur des animaux infectés.

Les données bibliographiques concernant l'identification de *Mycoplasma hyorhinis* dans un lavage broncho-alvéolaire sont très peu nombreuses, mais la technique a été cependant étudiée pour la détection de *M.hyopneumoniae* par PCR. Elle a été identifiée comme étant la technique de choix pour détecter les stades précoces d'infection à *M.hyopneumoniae*.

- Technique

Matériel :

- 1 cathéter (53 cm, 12G) : Medical aspiration tube (Medinorm GmbH®),
- 1 cathéter (90 cm x 1,9 mm) : Combicath vétérinaire (Prodimed®),
- 1 seringue stérile de 20 mL,
- Solution saline à 0,9 %,
- 1 pas-d'âne,
- 1 lasso.

Prélèvement :

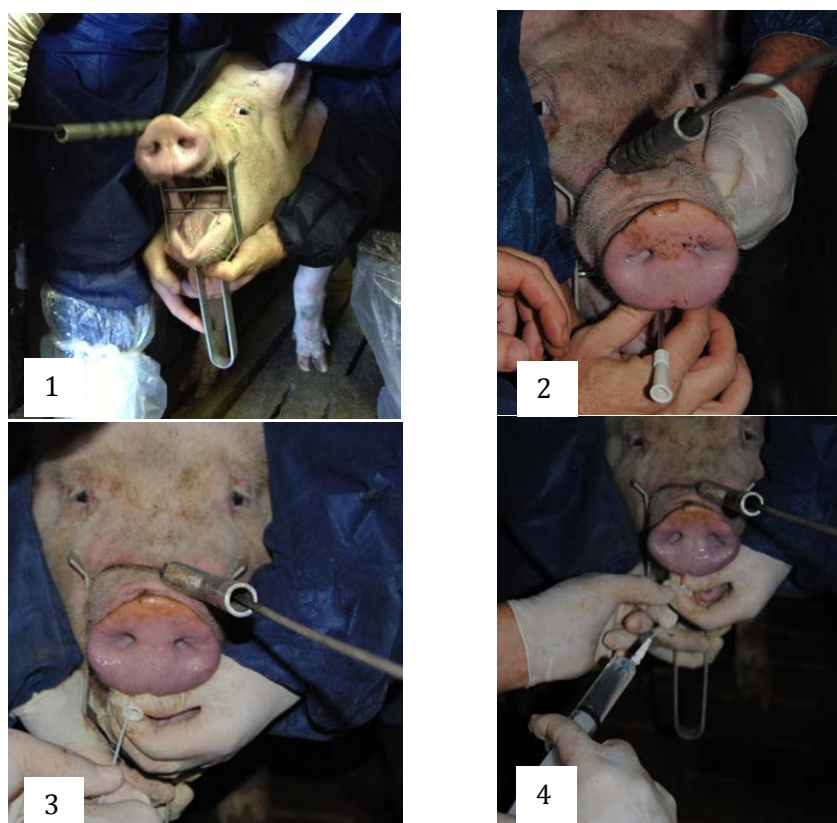


Figure 15 : Technique du lavage trachéo-bronchique (1. Contention et mise en place du pas d'âne/ 2. Introduction du cathéter dans la trachée / 3. Introduction du cathéter (Combicath) dans le cathéter de plus gros diamètre / 4. Injection de 20 mL de solution saline à 0,9% puis réaspiration immédiate)

2.2.2.3. Traitement statistique des données

Les fréquences d'isolement des quatre agents étudiés ont été comparées entre les 3 sous-groupes :

- animaux avec signes cliniques dans les élevages « cas »,
- animaux sans signe clinique dans les élevages « cas »,
- animaux sans signe clinique dans les élevages « témoins ».

La liaison entre le facteur d'exposition (*M.hyorhinis*) et la présence d'une maladie respiratoire a été testée après établissement de tableaux de contingence sur lesquels ont été effectués des tests du χ^2 d'indépendance.

Dans notre étude, l'hypothèse nulle (H_0) correspondait à l'indépendance entre le fait d'isoler *M.hyorhinis* et la présence de symptômes respiratoires.

Le risque d'erreur α a été fixé à 5%.

Les tableaux de contingence ont permis de calculer des rapports de côtes ou « odds ratios » afin d'évaluer la force de l'association entre les deux variables.

2.2.2.4. Détection des agents pathogènes

Pour chacun des échantillons, 4 agents bactériens ont été recherchés par PCR : *M.hyorhinis*, *M.hyopneumoniae*, *S.suis*, *H.parasuis*. La méthode d'analyse a été développée par l'équipe de Corinne Marois (ANSES-laboratoire de Ploufragan-Plouzané)

Préparation des échantillons

La préparation des ADN a été réalisée à partir de 1mL de chacun des prélèvements (mucus trachéal et lavage trachéo-bronchique). Après une centrifugation de 15 min à 12000 g, le culot a été repris dans 400 µL de solution de lyse A (Tris HCL 10mM pH 8,3, KCl 100mM, MgCl₂ 2,5 mM) et 400 µL de solution de lyse B (Tris HCL 10mM pH 8,3, MgCl₂ 2,5 mM, tween 20 1%, Triton 1X, Nonidet 40 0,01%, Protéinase K 120 µg/mL).

Après homogénéisation, les solutions obtenues ont été incubées 1 heure à 60°C (température d'activation de la Protéinase K) puis 15 min à 95°C (température d'inactivation de la protéinase K). Les matrices d'ADN ainsi obtenues ont été conservées à 4°C jusqu'à l'analyse par PCR puis à -20°C.

Dans les cas où le contrôle interne d'amplification s'est révélé négatif, les ADN ont été purifiés sur membrane de silice (Qiagen®, Courtaboeuf, France).

Détection de *M. hyorhinis* par PCR quantitative

La sérologie n'ayant été développée pour *M.hyorhinis*, le diagnostic a du forcément être direct.

Actuellement, trois méthodes permettent de détecter la présence de *M.hyorhinis* par PCR :

- *Stemke et al.* (1994), ont effectué une étude de différenciation de *M. hyorhinis*, *M.hyopneumoniae* et *M.flocculare* par PCR ayant comme cible l'ADNr 16S ;
- *Caron et al.* (2000) ont utilisé la souche de *M.hyorhinis* ATCC 17981 (disponible sur GenBank avec l'accession D16682) pour définir un couple d'amorce ayant pour cible le gène codant la protéine P37, spécifique de l'espèce *M.hyorhinis* ;
- *Stakenborg et al.* (2006) ont développé une PCR multiplex, détectant *M.hyorhinis*, *M.hyopneumoniae* et *M.flocculare* et ayant pour cibles des séquences d'ADNr16S.

Un test PCR en temps réel « TaqMan » a été récemment développée à l'ANSES (test non publié) et utilisé pour cette étude. Les sondes marquées et les amorces ont été définies sur le gène *p37*, à l'aide du logiciel « Beacon Designer Real-time PCR Primer/ Probe Design Software » (BioRad, Marnes la Coquette, France).

La spécificité analytique a été validée *via* l'analyse de différentes espèces bactériennes : des mycoplasmes porcins (*M.hyorhinis*, *M.hyopneumoniae*, *M.flocculare*, *M.hyopharyngis*...), des mycoplasmes provenant d'autres espèces animales (*M. gallisepticum*, *M.synoviae*, *M.bovis*), ainsi que des bactéries provenant de la même niche écologique que *M.hyorhinis* (voies respiratoires et séreuses des porcs : *H.parasuis*, *S.suis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*...).

Le seuil de détection du test a été évalué à partir d'une suspension de *M.hyorhinis* (souche de référence), de concentration connue, diluée de raison 10. Il s'est révélé être environ 10 fois inférieur à celui des tests PCR « conventionnelles » soit environ 200 équivalents génomes/µL (1x10³ équivalents génomes/tube).

Un échantillon a été considéré positif lorsque la quantité d'ADN détecté a été supérieure ou égale au dernier point de la gamme (soit environ 200 fg/µL).`

Le mélange réactionnel de la PCR Temps Réel contenait du tampon iQ Supermix (KCl 50 mM ; Tris-HCl 20 mM, MgCl₂ 3 mM [pH 8,4], 800 µM de chacun des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), 0,625 unités de *Taq* polymérase, stabilisateurs) (Biorad), 500 nM de

chaque amorce, 300 nM de sonde TaqMan et 5 µL de matrice. La réaction d'amplification comportait une dénaturation initiale de 3min à 95°C et 35 cycles comprenant chacun une dénaturation de 15 s à 95°C et une hybridation/élongation de 1 min à 65°C. L'appareil Chromo4 (BioRad) a été programmé en mesure de fluorescence « Fam ».

Détection de *S. suis* par PCR quantitative

Le test QPCR utilisé a été développé dans le cadre d'une étude descriptive intitulée « Infection à *Streptococcus suis*: un danger pour les personnels de la filière porcine ? ». Un contrôle interne d'amplification est inclus dans ce test PCR afin d'éviter les résultats faussement négatifs induits par des inhibiteurs de PCR éventuellement présents dans les échantillons (polysaccharide, protéine...). Le seuil de détection pour l'amplification de l'espèce *S.suis* est de 50 équivalents génomes /µL.

Le mélange réactionnel de la PCR en temps réel simplex contenait du tampon iQ Supermix (KCl 50 mM ; Tris-HCl 20 mM, MgCl₂ 3 mM [pH 8,4], 800 µM de chacun des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), 0,625 unités de *Taq* polymérase, stabilisateurs) (BioRad, Marne la Coquette, France), 400 nM de chaque amorce (Ssuis-16S-RT-F5 / Ssuis-16S-RT-R5), 300 nM de sonde (Sonde-Ssuis-16S-5), 0,25X de contrôle interne « TaqMan® Exogenous Internal Positive Control Reagents » (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France) et 5 µL de matrice d'ADN (Volume final : 25 µL).

La réaction d'amplification a été effectuée à l'aide de l'appareil Chromo4 (Biorad) et comportait une dénaturation initiale de 3 min à 95°C et 35 cycles comprenant chacun une dénaturation de 15 s à 95°C et une hybridation/élongation de 1 min à 65°C. L'appareil Chromo4 a été programmé en mesure de fluorescence « FAM » (Biorad). Le seuil de fluorescence a été fixé à 0,15.

Détection de *M. hyopneumoniae* par PCR quantitative

Le mélange réactionnel de la PCR en temps réel « *M.hyopneumoniae* » contenait du tampon iQ Supermix (KCl 50 mM ; Tris-HCl 20 mM, MgCl₂ 3 mM [pH 8,4], 800 µM de chacun des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), 0,625 unités de *Taq* polymérase, stabilisateurs) (BioRad, Marne la Coquette, France), 500 nM de chaque amorce (Mhp-P102-as/ Mhp-P102-s), 300 nM de sonde (Sonde-Mhp-P102) et 5 µL de matrice d'ADN (Volume final : 25 µL).

La réaction d'amplification a été effectuée dans l'appareil Chromo4 (Biorad) et comportait une dénaturation initiale de 3 min à 95°C et 40 cycles comprenant chacun une dénaturation de 15 s à 95°C et une hybridation/élongation de 1 min à 65°C. L'appareil Chromo4 a été programmé en mesure de fluorescence « Cy5 » (Biorad). Le seuil de fluorescence a été fixé à 0,090. Le seuil de détection pour l'amplification de l'espèce *M.hyopneumoniae* est de 1,3 équivalents génomes/µL.

Détection de *H.parasuis* par PCR conventionnelle

H.parasuis a été détecté par PCR conventionnelle. Le mélange réactionnel de la PCR contenait du tampon (Tris-HCl 10 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 1,5 mM [pH 8,3]), 240 µM de chacun des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), 300 nM de chaque amorce HPS-f-USA et HPS-r-USA, 0,5 unités de *Taq* polymérase (Roche), et 5 µL de matrice d'ADN. La réaction d'amplification a été réalisée dans l'appareil G-STORM et comportait 30 cycles comprenant chacun une dénaturation de 30 s à 94°C, une hybridation de 30 s à 59°C et une élongation de 2 min à 72°C.

Les produits amplifiés ont été révélés par électrophorèse en gel d'agarose. 25 µL de produit ont été déposés sur un gel d'agarose à 2% et la migration a été réalisée dans du tampon TBE (Tris 90 mM, Acide borique 90 mM, EDTA 2,5 mM pH8) pendant 1h à 125 V. Le marqueur de taille moléculaire utilisé était le GeneRuler 1kb Plus DNA Ladder Thermo scientific (Fermentas).

Les bandes d'ADN ont été révélées dans une solution de GelRed (3X, NaCl 0,07M) (Interchim) et visualisées sur un transilluminateur à Ultra Violet (Vilbert Lourmat).

La taille des fragments amplifiés a été évaluée à l'aide du logiciel Quantum afin de s'assurer que ce produit était bien celui attendu. Le seuil de détection pour l'amplification de l'espèce *H. parasuis* est d'environ 2 000 équivalents génomes/ μ L.

2.3. Résultats

Les deux aspects envisagés dans l'analyse des résultats sont :

- l'étude de la fréquence d'isolement de *M.hyorhinis* en élevages porcins et l'évaluation du niveau d'association entre celle-ci et la présence de signes cliniques,
- L'étude des principales co-infections, dans lesquelles *M.hyorhinis* est impliqué.

2.3.1. Etude de la fréquence d'isolement de *M.hyorhinis* en élevages porcins

2.3.1.1. Fréquence d'isolement de *M.hyorhinis* dans les élevages étudiés

Les analyses PCR effectuées dans les 14 élevages ont permis d'isoler *M.hyorhinis* (sur au moins 1 animal) :

- dans 11 élevages (6 cas et 5 témoins) à partir des écouvillons trachéo-bronchiques,
- dans 7 élevages (6 cas et 1 témoins) à partir des lavages trachéo-bronchiques.

Les fréquences d'isolement par élevages sont présentées dans les tableaux suivants.

- *Fréquences d'isolement par PCR de M.hyorhinis dans les élevages cas*

	Fréquence d'isolement de Mhr par PCR à partir des lavages trachéo-bronchiques dans les élevages cas	Fréquences d'isolement de Mhr par PCR à partir des écouvillons trachéo-bronchiques dans les élevages cas
A	25 % (5/20)	50 % (10/20)
B	0% (0/20)	0 % (0/20)
C	5 % (1/20)	25 % (5/20)
D	10 % (2/20)	25 % (5/20)
E	15 % (3/20)	15 % (3/20)
F	15 % (3/20)	30 % (6/20)
G	0 % (0/18)	0 % (0/18)
H	5,3 % (1/19)	15,8 % (3/19)
\bar{X}	9,6 % (15/157)	20,4 % (32/157)

Tableau 26 : Fréquences d'isolement par PCR de *M.hyorhinis* dans les élevages cas à partir des lavages et des écouvillons trachéo-bronchiques.

- Fréquences d'isolement par PCR de *M.hyorhinis* dans les élevages témoins

	Fréquences d'isolement de Mhr par PCR à partir des lavages trachéo-bronchiques dans les élevages témoins	Fréquences d'isolement de Mhr par PCR à partir des écouvillons trachéo-bronchiques dans les élevages témoins
I	0 % (0/10)	20 % (2/10)
J	0 % (0/10)	10 % (1/10)
K	0 % (0/10)	20 % (2/10)
L	0 % (0/10)	0 % (0/10)
M	0 % (0/10)	10 % (1/10)
N	30 % (3/10)	20 % (2/10)
\bar{X}	5 % (3/60)	13,3 % (8/60)

Tableau 27 : *Fréquences d'isolement par PCR de *M.hyorhinis* dans les élevages témoins à partir des lavages et des écouvillons trachéo-bronchiques.*

→ La fréquence d'isolement par PCR de *M.hyorhinis* est, en moyenne :

- 1,5 fois plus élevée dans les élevages « cas » que dans les élevages « témoins » à partir des écouvillons trachéo-bronchiques,
- 1,9 fois plus élevée dans les élevages « cas » que dans les élevages « témoins » à partir des lavages trachéo-bronchiques.

2.3.1.2. Comparaison des fréquences d'isolement globales entre animaux cliniques et animaux non cliniques

Au total, dans cette étude, 217 porcs (N=217) ont été prélevés :

- 77 porcs présentaient des signes cliniques respiratoires,
- les 140 autres n'en présentaient pas.

Les fréquences d'isolement par PCR de *M.hyorhinis* sont présentées ci-dessous :

	Fréquences d'isolement de Mhr par PCR à partir des lavages trachéo-bronchiques	Fréquences d'isolement de Mhr par PCR à partir des écouvillons trachéo-bronchiques
Anx avec signes cliniques	14,3 % (11/77)	24,7 % (19/77)
Anx sans signe clinique	5,0 % (7/140)	15,0 % (21/140)

Tableau 28 : *Comparaison des fréquences d'isolement par PCR de *M.hyorhinis* chez les animaux présentant des signes cliniques (N=77) et ceux n'en présentant pas (N=140).*

→ La fréquence d'isolement par PCR de *M.hyorhinis* est en moyenne :

- 2,9 fois plus élevée chez les animaux présentant une clinique respiratoire que chez les animaux sans clinique à partir des lavages trachéo-bronchiques,
- 1,6 fois plus élevée chez les animaux présentant une clinique respiratoire que chez les animaux sans clinique à partir des écouvillons trachéo-bronchiques.

Afin d'évaluer l'association entre la présence de signes cliniques et l'isolement de *M.hyorhinis*, les résultats sont présentés dans les tableaux de contingence suivants, selon la technique de prélèvements. Chaque animal est situé dans les cases selon qu'il présentait ou non des signes cliniques respiratoires (colonnes) et selon si *M.hyorhinis* a été isolé ou non (Mhr + : PCR positif pour *M.hyorhinis* / Mhr - : PCR négatif pour *M.hyorhinis*).

- Résultats à partir des lavages trachéo-bronchiques

	Porcs avec clinique	Porcs sans clinique	Total
Mhr +	11	7	18
Mhr -	66	133	199
Total	77	140	217

Tableau 29 : Tableau de contingence pour l'évaluation de l'indépendance de la détection de *M.hyorhinis* à partir de lavages trachéo-bronchiques et la présence de signes cliniques.

L'analyse statistique donne :

- Valeur du khi2 : **5,63**
- Valeur du khi2 (5%) : 3,84
- OR = 3,17
- Intervalle de confiance pour OR : [1,17 – 8,55]

→ La valeur du khi2 calculé ici est supérieure à la valeur du khi2(5%). L'hypothèse (H_0) d'indépendance entre les deux variables peut donc être rejetée. Une association statistique est donc mise en évidence entre l'isolement de *M.hyorhinis* et la présence de signes cliniques respiratoires. L'odd-ratio est ici de 3,17, l'intervalle de confiance pour cet odd-ratio n'inclut pas 1. On peut en conclure que ***M.hyorhinis* est isolé 3,17 fois plus souvent sur des porcs présentant une clinique respiratoire à partir de lavages trachéo-bronchiques.**

- Résultats à partir des écouvillons trachéo-bronchiques

	Porcs avec clinique	Porcs sans clinique	Total
Mhr +	19	21	40
Mhr -	58	119	177
Total	77	140	217

Tableau 30 : Tableau de contingence pour l'évaluation de l'indépendance de la détection de *M.hyorhinis* à partir de lavages trachéo-bronchiques et la présence de signes cliniques.

L'analyse statistique donne :

- Valeur du khi2 : **3,09**
- Valeur du khi2 (5%) : 3,84
- OR = 1,86
- Intervalle de confiance pour OR : [0,93 - 3,73]

→ Ici, la valeur du khi2 est inférieure à la valeur du khi2(5%). Il n'est donc pas possible, statistiquement de rejeter l'hypothèse (H0). **Aucune association statistique ne peut être établie entre la présence de signes cliniques et l'isolement de *M.hyorhinis*.**

2.3.1.3. Comparaison des fréquences d'isolement entre animaux cliniques et animaux non cliniques dans les élevages cas

Au sein d'un élevage, il est intéressant de comprendre la circulation de l'agent pathogène. Pour cela, les animaux présentant des signes cliniques et les animaux n'en présentant pas ont été comparés au sein d'un même élevage.

Les tableaux de contingence ci-dessous ont été établis sur la base des résultats des 77 porcs présentant des signes cliniques et des 80 porcs n'en présentant pas, dans les élevages cas.

- Résultats des lavages trachéo-bronchiques :

	Porcs avec clinique	Porcs sans clinique	Total
Mhr +	11	4	15
Mhr -	66	76	142
Total	77	80	157

Tableau 31 : Tableau de contingence pour l'évaluation de l'indépendance de la détection de *M.hyorhinis* à partir de lavages trachéo-bronchiques et la présence de signes cliniques.

L'analyse statistique donne :

- Valeur du khi2 : **3,91**
- Valeur du khi2 (5%) : 3,84
- OR = 3,17
- Intervalle de confiance pour OR (méthode Woolf) : [0,96 - 10,43]

→ Le calcul de la valeur du khi2 montre une association statistique entre l'isolement de *M.hyorhinis* à partir d'un lavage trachéo-bronchique et la présence de signes cliniques respiratoires dans les élevages « cas ». **Cependant le calcul de l'odd-ratio et de son intervalle de confiance (comprenant la valeur 1) ne permettent pas de confirmer cette association statistique.**

- Résultats à partir des écouvillons trachéo-bronchiques :

	Porcs avec clinique	Porcs sans clinique	Total
Mhr +	19	13	32
Mhr -	58	67	125
Total	77	80	157

Tableau 32 : *Tableau de contingence pour l'évaluation de l'indépendance de la détection de *M.hyorhinitis* à partir des écouvillons trachéo-bronchiques et la présence de signes cliniques.*

L'analyse statistique donne :

- Valeur du khi2 : 1,72
- Valeur du khi2 (5%) : 3,84
- OR = 1,69
- Intervalle de confiance pour OR (méthode Woolf) : [0,77 - 3,72]

→ La valeur calculée du khi2 ne permet pas de rejeter l'hypothèse (H_0). Il n'y a donc **aucune association statistique entre l'isolement de *M.hyorhinitis* à partir d'un écouvillon trachéo-bronchique et la présence de signes cliniques respiratoires.**

Conclusion sur l'étude de la fréquence d'isolement de *M.hyorhinitis* en élevage porcin :

*Dans cette étude, *M.hyorhinitis* a été isolé plus fréquemment dans les élevages « cas » que dans les élevages « témoins », et plus fréquemment sur les animaux présentant des signes cliniques respiratoires que sur les animaux n'en présentant pas, quelle que soit la méthode de prélèvement.*

*Une association statistique a pu être mise en évidence entre la présence de signes cliniques et l'isolement par PCR de *M.hyorhinitis* par lavage trachéo-bronchique, en considérant tous les élevages.*

Dans les élevages « cas », la fréquence d'isolement, bien que plus élevée chez les animaux avec clinique, n'a pu être statistiquement associée à la présence des signes cliniques.

2.3.2. Etude des co-infections impliquant *M.hyorhinis*

Dans cette étude, *M.hyorhinis* a toujours été isolé en association avec un ou plusieurs autres agents pathogènes bactériens. Son rôle primaire dans le développement d'une maladie respiratoire n'a donc pu être étudié ici.

L'objectif de cette partie est de mettre en évidence les associations les plus fréquentes et de comparer leur fréquence entre élevages / animaux avec et sans clinique respiratoire.

Pour cela, seuls les résultats des analyses obtenus à partir des écouvillons trachéo-bronchiques ont été utilisés. Cette méthode de prélèvement a permis la détection du plus grand nombre d'animaux positifs, tout agent pathogène confondu. En effet, en considérant les analyses PCR des 217 prélèvements, il est apparu qu'en moyenne, le nombre d'animaux PCR-positifs (tout agent confondu) était 1,93 fois plus élevé à partir des écouvillons trachéo-bronchiques qu'à partir des lavages trachéo-bronchiques.

2.3.2.1. Etude globale des co-infections impliquant *M.hyorhinis*

Sur les 217 animaux prélevés au total, *M.hyorhinis* a été isolé sur 40 animaux. Les associations dans lesquelles il a été isolé sont présentées ci-dessous.

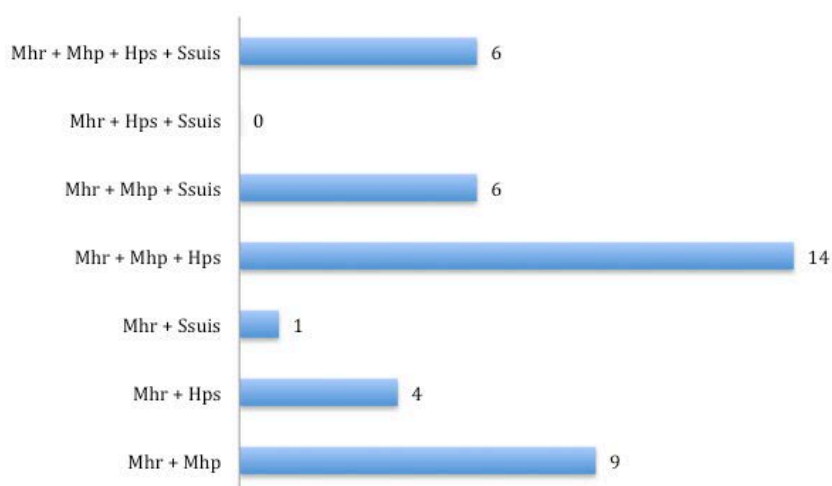


Figure 16 : Fréquence des co-infections impliquant *M.hyorhinis* dans tous les élevages (40 Mhr + / 217 prélèvements)

L'association la plus fréquente de *M.hyorhinis* est avec *M.hyopneumoniae* et *H.parasuis* (14 / 40).

On observe de plus, que :

- dans 88% des cas (35/40), *M.hyorhinis* a été isolé avec *M.hyopneumoniae*,
- dans 60% des cas (24/40) avec *H.parasuis*,
- dans 33 % des cas (13/40) avec *S.suis*.

2.3.2.2. Etude comparée des co-infections impliquant *M.hyorhinis* entre élevages « cas » et élevages « témoins »

Dans les élevages « cas », *M.hyorhinis* a été isolé sur 32 porcs, et dans les élevages témoins sur 8 porcs.

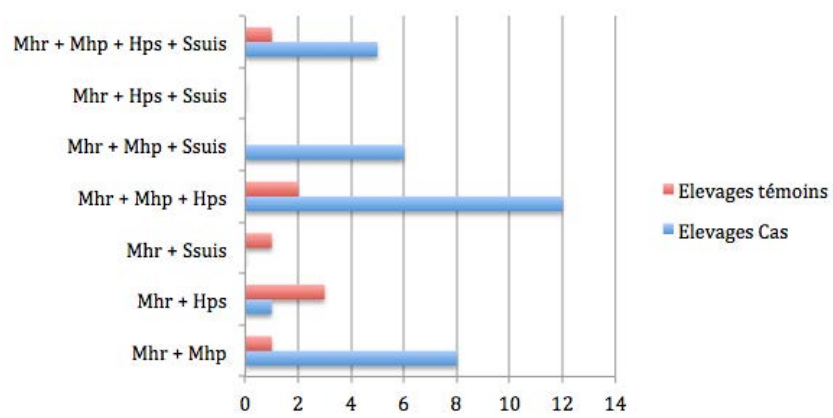


Figure 17 : Fréquence des co-infections impliquant *M.hyorhinis* dans les élevages témoins (N=8) et dans les élevages cas (N=32).

Les effectifs étant réduits et très différents, il est difficile de comparer les fréquences observées. Il est tout de même possible de commenter des « tendances » observées :

- Dans les élevages « cas », la co-infection la plus fréquemment rencontrée implique *M.hyorhinis*, *M.hyopneumoniae* et *H.parasuis*.
- Dans les élevages « témoins », la co-infection la plus fréquemment rencontrée implique *M.hyorhinis* et *H.parasuis* uniquement.

2.3.2.3. Les co-infections impliquant *M.hyorhinis* chez les animaux présentant des signes cliniques

M.hyorhinis a été isolé sur 19 des 77 porcs présentant des signes cliniques respiratoires. Les associations d'agents bactériens observées sont présentées dans la figure.

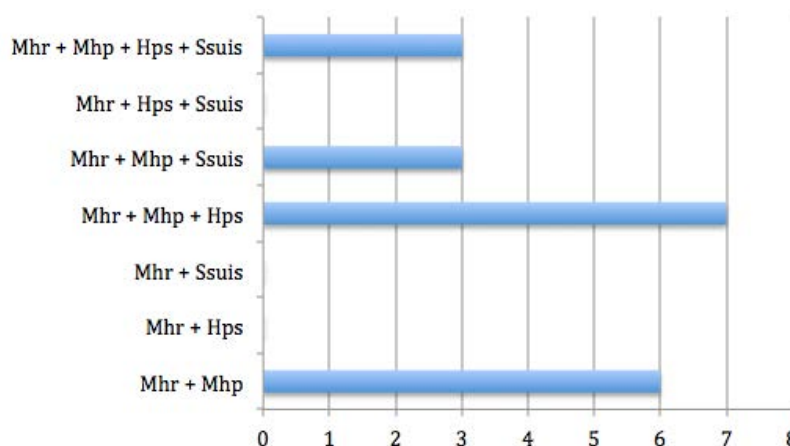


Figure 18 : Fréquence des co-infections mises en évidence sur les animaux cas Mhr+ (N=19)

Chez les animaux avec des signes cliniques, *M.hyorhinis* a **toujours été isolé avec *M.hyopneumoniae***, alors que sur les 21 animaux sans signe clinique positifs pour *M.hyorhinis* à partir d'écouvillons trachéo-bronchiques, 17 sont également positifs pour *M.hyopneumoniae*.

H.parasuis est le second agent le plus isolé avec *M.hyorhinis*, avec 10 animaux PCR-positifs sur les 19 animaux sur lesquels *M.hyorhinis* a été isolé.

L'association la plus fréquemment mise en évidence sur les animaux présentant des signes cliniques respiratoires implique *M.hyorhinis*, *M.hyopneumoniae* et *H.parasuis*.

2.4. Discussion

Les résultats présentés ci-dessus, montrent que *M.hyorhinis* a été isolé plus fréquemment dans les élevages atteints de pathologie respiratoire, cependant, l'association entre la présence de signes cliniques et l'isolement de cet agent n'a pu être clairement mise en évidence. Plusieurs aspects du protocole doivent être pris en considération pour discuter de ces résultats.

2.4.1. Choix des élevages et des animaux

2.4.1.1. Choix des élevages

Une première source de variabilité correspond à la sélection des élevages inclus dans notre étude.

- Typologie des élevages

Sur 14 élevages, 13 sont naisseur-engraisseur et 1 est post-sevreur-engraisseur.

- Statuts sanitaires connus

Dans les 8 élevages « cas » :

- 2 sont positifs en SDRP,
- 5 sont positifs en *M.hyopneumoniae*,
- 4 sont positifs en *H.parasuis*,
- 1 est positif en *A.pleuropneumoniae*,
- 1 est positif en PCV2.

Dans les 6 élevages « témoins » :

- 1 est positif en SDRP,
- 4 sont positifs en *M.hyopneumoniae*,
- 1 est positif en *H.parasuis*,
- 3 est positif en *A.pleuropneumoniae*
- 5 sont positifs en PCV2.

Deux élevages, pris en compte comme « témoins », ont été dépeuplés-repeuplés.

- Vaccination contre *M.hyopneumoniae*

5 élevages « cas » et 4 élevages « témoins » vaccinent leurs animaux contre *M.hyopneumoniae*. Dans notre étude, *M.hyorhinis* a visiblement été isolé dans tous les types d'élevage, quels que soient leur statut sanitaire et leur prévention vaccinale.

- Définition des élevages cas et des élevages témoins

La sélection des élevages a été effectuée directement par les vétérinaires ayant connaissance de leur statut sanitaire et des informations apportées par les éleveurs. Un biais de sélection a donc pu intervenir dans notre étude.

Il faut bien comprendre que les élevages sélectionnés étaient « connus » pour être atteints de pathologie respiratoire « chronique », « récidivante » ou « difficile à gérer ». Le moment des prélèvements, différé par rapport aux visites préalables du vétérinaire, a pu amener à prélever des bandes où la pathologie respiratoire ne semblait pas être une dominante (comptage de toux apparemment dans les normes, le jour des prélèvements).

La sensibilité des éleveurs par rapport à la détection et à la gradation de la pathologie respiratoire a pu aussi être un facteur de confusion. En effet, dans certains élevages, l'impression des éleveurs concernant l'importance de la pathologie respiratoire, n'a pu être confirmée par nos observations à l'instant T.

2.4.1.2. Sélection des animaux

Lors des prélèvements, les animaux présentant des symptômes respiratoires ont été repérés lors de la réalisation du comptage de toux, puis au fur et à mesure de la réalisation des prélèvements. Il est important de noter que dans les élevages « cas », les animaux sans signe respiratoire sont ceux qui n'ont pas été repérés au préalable par l'éleveur ou lors de la réalisation des prélèvements. La notion d'animal « sain » doit donc être relativisée dans cette étude.

Afin de limiter ce biais de sélection, il aurait pu être intéressant de réaliser un score clinique, afin de prendre en compte l'importance des signes cliniques.

2.4.2. Limites dans l'interprétation des résultats

2.4.2.1. Techniques de prélèvements et interprétation des résultats

La comparaison des techniques n'était pas le but initial de cette étude, elle sera proposée dans une étude ultérieure. Cependant, il est évident que les deux techniques ont apporté des résultats *a priori* différents. En comparant les fréquences d'isolement des 4 agents bactériens, il est ressorti que le lavage trachéo-bronchique permettait de détecter presque 2 fois moins d'animaux porteurs. Cette différence semble encore plus forte lorsqu'il s'agit d'animaux sans signe clinique quant à la détection de *M.hyorhinis*, comme le montre les rapports présentés dans la [Figure 19](#).

$$\frac{(\text{Anx avec clinique, PCR – positifs pour Mhr sur écouvillons trachéo – bronchiques})}{(\text{Anx avec clinique, PCR – positifs pour Mhr sur lavages trachéo – bronchiques})} = 1,73$$

$$\frac{(\text{Anx sans clinique, PCR – positifs pour Mhr sur écouvillons trachéo – bronchiques})}{(\text{Anx sans clinique, PCR – positifs pour Mhr sur lavages trachéo – bronchiques})} = 3,25$$

Figure 19 : Comparaison des fréquences d'isolement de *M.hyorhinis* selon la technique de prélèvements.

Cette observation pourrait expliquer pourquoi une association statistique a pu être mise en évidence entre l'isolement de *M.hyorhinis* et la présence de signes cliniques à partir des lavages trachéo-bronchiques. Ce résultat doit donc être modéré.

2.4.2.2. Confirmation des résultats

Les résultats obtenus sur les fréquences d'isolement de *M.hyorhinis* semblent être en accord avec les observations faites par le Réseau Cristal lors de l'étude préliminaire, mais aussi par rapport aux différentes études menées sur le sujet. Par exemple, en 1991, en Norvège, sur 9 élevages : 37% des poumons à pneumonie et seulement 6% des poumons sains étaient PCR-positifs pour *M.hyorhinis*.^[92] Dans notre étude, *M.hyorhinis* a été isolé 2,9 fois plus souvent par lavages trachéo-bronchiques (1,6 fois plus souvent par écouvillonnages trachéo-bronchiques) sur les animaux cliniques que sur les animaux sains.

Cependant, on ne peut conclure sur le fait que *M.hyorhinis* soit un agent de portage ou bien soit responsable des signes cliniques observés. Il aurait été intéressant d'associer à ces recherches PCR, des notes de poumons en abattoir, voire des autopsies d'animaux présentant des signes cliniques, sur lesquels *M.hyorhinis* a été isolé, afin de confirmer la présence de cet agent au niveau des lésions pulmonaires (bactériologies sur tissus) et d'écartier l'hypothèse d'un portage.

En effet, grâce à la détection d'agents pathogènes par PCR sur animal vivant et aux notes pulmonaires établies en abattoir, C.Fablet en 2011^[38] a montré que *M.hyopneumoniae*, le SDRPv, et le SIV (H1N1) sont des agents pathogènes majeurs responsables de lésions de pneumonies, et que le PCV2 pourrait également jouer un rôle. De plus, *A.pleuropneumoniae* associé au SDRPv, a été associé de manière significative à des lésions de pleurésie extensive.

Des sérologies auraient pu également être intéressantes pour confirmer le diagnostic clinique.

2.4.3. Comparaison des fréquences d'isolement des quatre agents étudiés

2.4.3.1. Fréquences d'isolement globales

Dans notre étude, *M.hyorhinis* est l'agent qui a été le moins fréquemment isolé des quatre agents recherchés, que ce soit sur les animaux avec signes cliniques ou sans, comme le montre la Figure 20.

	Mhr		Mhp		Ssuis		Hps	
	MT	LTB	MT	LTB	MT	LTB	MT	LTB
Anx avec clinique (N=77)	24,7 % (19/77)	14,3 % (11/77)	83,1 % (64/77)	67,5 % (52/77)	40,3 % (31/77)	22,1 % (17/77)	51,9 % (40/77)	19,5 % (15/77)
Anx sans clinique (N=140)	15,0 % (21/140)	5,0 % (7/140)	57,1 % (80/140)	46,4 % (65/140)	25,7 % (36/140)	21,4 % (30/140)	50,7 % (71/140)	17,1 % (24/140)

Tableau 33 : Fréquences d'isolement des quatre agents étudiés sur les animaux avec cliniques et sans cliniques à partir d'écouvillons trachéo-bronchiques (MT) et de lavages trachéo-bronchiques (LTB).

Bien qu'une différence entre les fréquences d'isolement de *M.hyorhinis* entre animaux avec clinique et animaux sans clinique a pu être observée, l'importance relative de cet agent est faible par rapports aux autres.

2.4.3.2. Interprétation des isolements bactériens sur la santé respiratoire

Comme le précise en 2006, Hennig-Pauka, la santé respiratoire du porc, élargie à celle de l'élevage, ne peut être uniquement définie sur la base d'isolements bactériologiques. Dans notre étude, on ne peut que le confirmer, en observant que des bactéries ont été isolées dans tous les élevages, qu'ils soient « cas » ou « témoins ».

De plus, pour des raisons économiques et techniques, la liste des agents recherchés est limitée à *M.hyorhinis* et 3 autres agents bactériens connus pour leur implication dans la pathologie respiratoire. Aucune interprétation ne peut être apportée sur la pathogénie de ces agents, d'autant qu'aucun agent viral n'a été recherché.

2.4.4. Implication de *M.hyorhinis* dans les co-infections et dans le PRDC

M.hyorhinis n'a, dans cette étude, jamais été isolé seul. Cette observation avait déjà été faite dans de nombreuses études.

Il a été le plus souvent isolé avec *M.hyopneumoniae*, notamment sur les animaux avec clinique sur lesquels les deux agents ont toujours été isolés ensemble. On peut donc fortement suspecter l'implication de *M.hyorhinis* dans le PRDC, comme agent suiveur de *M.hyopneumoniae*, mais son rôle dans la pathogénèse de la maladie respiratoire (Figure 3) reste inexploré et incertain.

NB : La comparaison des différentes associations d'agents pathogènes impliquant *M.hyorhinis* n'a pu être effectuée, du fait des effectifs trop faibles (dans les élevages « témoins » seuls 8 porcs sont positifs pour *M.hyorhinis*).

2.4.5. Contribution sur la dynamique d'infection de *M.hyorhinis*

M.hyorhinis a déjà été identifié comme hôte normal des cavités nasales des porcs^[44, 92], pouvant être isolé sur 100 % des porcs à l'engrais dans les élevages où il est présent. Les animaux se contamineraient rapidement (en 1 à 2 semaines) lors du mélange en post-sevrage.^[92] D'après nos résultats, cette observation n'est pas transposable sur la contamination de l'appareil respiratoire profond des porcs puisque *M.hyorhinis* n'a pas été isolé sur tous les porcs.

Dans cette étude, *M.hyorhinis* a été isolé dans 11 élevages sur 14, qu'ils soient atteints de pathologie respiratoire ou non. Dans les élevages positifs, aucun phénomène de contamination en engraissement n'a pu être mis en évidence. En effet, il a pu être isolé dans différentes cases au sein d'une même salle et dans une même case. Des animaux pouvaient être positifs ou négatifs, qu'ils présentent de la clinique respiratoire ou non. Cette observation irait dans le sens d'une contamination plus précoce, probablement en post-sevrage.

Afin d'étudier cette dynamique d'infection, il serait intéressant de réaliser ces mêmes prélèvements en suivant les animaux du sevrage à la fin de l'engraissement. L'utilisation de sérologies pourraient également permettre de suivre l'évolution de la maladie et de réaliser une approche globale de la population grâce à des sérologies transversales.

2.4.6. Méthodes d'évaluation de la santé respiratoire du porc

Dans le but de confirmer le caractère « sain » ou « malade » d'un individu sans devoir l'autopsier, il est possible d'évaluer l'état de santé de l'appareil respiratoire. Cette évaluation repose sur deux approches :

- l'évaluation bactériologique (et virologique) du poumon,
- l'évaluation des marqueurs de l'inflammation dans le poumon.

Il est évident que l'évaluation bactériologique seule du lavage trachéo-bronchique, ne peut être associée de manière certaine à la maladie. *Hennig-Pauka et al.*, en 2006, ont montré que l'étude des marqueurs de l'inflammation pouvait être un outil intéressant, comme marqueur de maladie respiratoire chez le porc.

Ces marqueurs de l'inflammation dans les liquides de lavages sont :

- le comptage cellulaire total,
- la concentration en polynucléaires neutrophiles (PMN),
- la concentration en peptide anti-bactérien porcin PR-39.

Le nombre relatif de PMN dans les liquides de lavages semble être un marqueur sensible pour différencier animaux sains et malades d'après Ganter et Hensel en 1997. Des seuils ont ainsi été établis par Mombarg et al., 2002 :

- Si [PMN] > 8 % : maladie respiratoire
- Si [PMN] < 8 % : pas de maladie respiratoire

Cependant, Le nombre de PNM peut uniquement être déterminé à partir de lavages bronchoscopiques ou transtrachéaux (avec un seuil de 40 %), d'après *Hennig-Pauka et al.*, 2006.

La concentration en peptide anti-bactérien PR-39 a été identifiée comme un marqueur de l'inflammation intéressant lors d'infection expérimentale à *A.pleuropneumoniae*. Ce paramètre non-cellulaire a ensuite été identifié comme étant un bon marqueur de maladie respiratoire en général, semi-quantifiable dans les liquides de lavages par ELISA. Une corrélation positive entre la concentration en PR-39 et le nombre de PMN montre que les PNM est une source majeure de PR-39, qui n'est donc pas spécifique à *A.pleuropneumoniae*.

Cependant, ces différentes études montrent que ces paramètres sont interprétables à partir de lavages bronchoscopiques et non à partir de lavages trachéo-bronchiques.

Ces paramètres auraient pu être étudiés dans notre étude, afin de confirmer le statut « malade ou non » des animaux prélevés.

2.4.7. Choix de la technique de prélèvement

Les techniques utilisées dans notre étude ont donné des résultats concordants mais tout de même très différents. La comparaison de celles-ci n'était pas le but premier de cette étude mais un bref aperçu de leurs avantages, inconvénients et limites directement issu des observations faites sur le terrain peut être proposé.

2.4.7.1. Réalisation pratique de l'acte

Sur le plan de la réalisation des actes techniques, il est évident que l'écouvillonnage trachéo-bronchique apparaît comme une méthode de choix. Il nécessite moins de matériel (utilisation d'une seule sonde), une contention plus légère et est donc plus rapidement réalisé.

2.4.7.2. Réalisation du prélèvement et matériel prélevé

L'inconvénient majeur du lavage trachéo-bronchique réside dans l'étape de réaspiration directe du liquide injecté. En effet, en injectant 20 mL de solution saline, la quantité de produit réaspiré n'excédait que rarement 2 mL. Se pose alors la question de la représentativité de l'échantillon prélevé et de la quantité de matière prélevée autre que le liquide injecté. Cela pourrait expliquer le fait que les fréquences d'isolement des différents agents recherchés soient plus faibles qu'à partir des écouvillons trachéo-bronchiques. A cela, s'ajoute certainement un effet dilution de la matière prélevée, limitant également le nombre de bactéries prélevées. De plus, il est important de comprendre que les deux techniques ne permettent pas de prélever exactement la même matière :

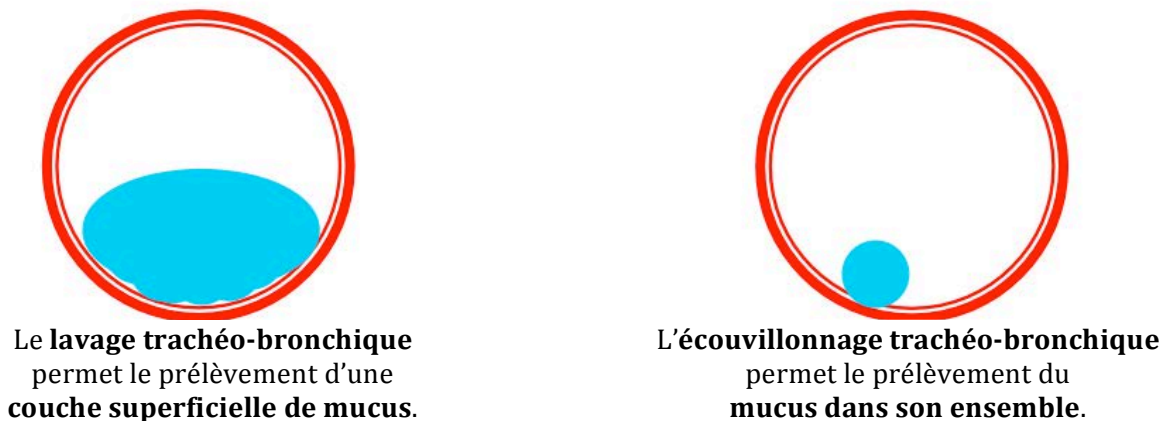


Figure 20 : Représentation schématique du prélèvement de mucus à partir de lavages trachéo-bronchiques (gauche) et d'écouvillonnage trachéo-bronchiques (droite).

2.4.7.3. Sites de prélèvements

Les deux techniques se réalisent sans contrôle visuel (comme la bronchoscopie par exemple). On ne connaît donc pas le site exact de prélèvement. Cela a son importance, sachant que chaque segment pulmonaire représente une unité structurelle et fonctionnelle. Ainsi, un prélèvement dans l'un des segments pulmonaires ne peut être représentatif du poumon d'après *Reinhold et al.* en 2007.

En 2007, *Beilage et al.*, ont montré que le site de prélèvements des lavages différait du site des lésions, mais que l'examen bactériologique du liquide de lavage trachéo-bronchique était aussi informatif que l'examen bactériologique de poumon pour *M.hypopneumoniae*. Dans cette étude, ils ont montré que sur des porcs jusqu'à 42 kg, le lavage s'effectuait dans la partie caudale d'un des lobes caudaux du poumon. Dans notre étude, l'écouvillonnage a été réalisé avec cathéter de 53 cm de long, sur des porcs beaucoup plus gros. Le site de prélèvement devait donc se situer proche de la bifurcation trachéo-bronchique. Le lavage réalisé via un cathéter de 90 cm, permettait certainement de prélever 20 à 30 cm plus en profondeur que l'écouvillonnage.

Rennard *et al.*, en 1990, ont montré que le lavage bronchoscopique représente bien le contenu alvéolaire, alors que pour le lavage trachéo-bronchique, il est beaucoup plus difficile d'estimer la quantité de liquide ayant atteint les alvéoles. Dans ce cas, le liquide réaspiré correspond plus à un prélèvement de mucus bronchique, avec des quantités plus importantes de cellules épithéliales et de polynucléaires neutrophiles et moins de macrophages et lymphocytes.

2.4.7.4. Contamination des prélèvements

Les deux techniques nécessitent le passage des cathéters par la cavité buccale et l'appareil respiratoire supérieur.

L'utilisation d'un unique cathéter lors de la réalisation d'écouvillonnage trachéo-bronchique entraîne incontestablement la contamination de l'échantillon par les bactéries présentes au niveau de l'appareil respiratoire supérieur des porcs.

Au contraire, lors de la réalisation du lavage trachéo-bronchique, le cathéter par lequel est réalisé le prélèvement est « protégé » de ces contaminations par le cathéter de diamètre plus important, préalablement inséré dans la trachée.

Cela pourrait, en partie, expliquer les différences observées entre les deux techniques lors de notre étude.

2.4.7.5. Sensibilité et spécificité des deux techniques de prélèvements

La PCR est une technique d'analyse très performante (en terme de sensibilité et de spécificité). Les différences observées par rapport aux fréquences d'isolement des agents bactériens seraient essentiellement associées aux performances intrinsèques des techniques de prélèvement.

Pour cela, A.Waret-Szkuta (ENVT) a estimé la sensibilité et la spécificité de ces deux techniques pour la détection de *M.hyo pneumoniae* et *M.hyo rhinis* par une approche Bayésienne (détails en Annexe 8) à partir des résultats de notre étude. Les résultats sont présentés dans le Tableau 34 :

	<u>Lavage trachéo-bronchique</u>		<u>Ecouvillon trachéo-bronchique</u>	
	Sensibilité	Spécificité	Sensibilité	Spécificité
<i>M.hyo rhinis</i>	Se = 60,9 % CrI = [29,4 - 96,7]	Sp = 94 % CrI = [89,3 - 98,2]	Se = 69,6 % CrI = [35,5 - 95,2]	Sp = 84,8 % CrI = [78,3 - 92,8]
<i>M.hyo pneumoniae</i>	Se = 69,8 % CrI = [54,3 - 85]	Sp = 88,3 % CrI = [74 - 97,4]	Se = 84,9 % CrI = [68 - 97,7]	Sp = 84 % CrI = [65,1 - 96,7]

Tableau 34 : Evaluation des performances des deux méthodes de prélèvements pour la détection par qPCR de *M.hyo rhinis* et *M.hyo pneumoniae* par une approche Bayésienne. (Se = sensibilité / Sp = spécificité / CrI : Intervalle de confiance de distribution postérieure, à 95%).

Pour la recherche PCR de *M.hyo rhinis* et *M.hyo pneumoniae*, l'écouvillonnage trachéo-bronchique apparaît comme étant plus sensible et moins spécifique que le lavage trachéo-bronchique.

CONCLUSION

L'étude proposée doit être considérée comme un premier aperçu, un « sondage » des élevages porcins du Grand Ouest, mise en place afin de chiffrer et d'objectiver une constatation de terrain, par laquelle *M.hyorhinis* aurait une importance non négligeable dans la pathologie respiratoire.

Les résultats de notre enquête cas-témoin montrent que *M.hyorhinis* a été effectivement isolé plus fréquemment dans les élevages atteints de pathologie respiratoire. Une association significative a pu être mise en évidence entre la fréquence d'isolement de *M.hyorhinis* et la présence des signes cliniques, en comparant les lavages trachéo-bronchiques des porcs avec et sans cliniques.

Néanmoins, de nombreux biais relatifs à la sélection des élevages, à la sélection des animaux et aux techniques de prélèvements nous obligent à modérer ces résultats.

Bien que cette étude n'ait apporté aucune information quant à la pathogénie de *M.hyorhinis*, les résultats des fréquences d'isolement nous montrent qu'il est présent dans la quasi totalité des élevages étudiés, qu'ils soient « cas » ou « témoins », mais reste beaucoup moins fréquent que les 3 autres agents étudiés. Il est donc difficile, à partir de ces résultats de penser qu'il s'agirait d'un agent pathogène majeur (fréquent et dont la pathogénie est avérée), au sens de T.Opriessnig.

L'examen bactériologique seul ne permet pas de juger de l'état de santé des poumons, d'autant qu'ils sont le siège de nombreuses co-infections. Dans notre étude, *M.hyorhinis* a toujours été isolé avec *M.hyopneumoniae* sur des animaux présentant des signes cliniques respiratoires. Cette constatation irait dans le sens de son implication dans le PRDC, en tant qu'agent suiveur de *M.hyopneumoniae*.

Sur le terrain, l'exploration pulmonaire passe par diverses techniques de prélèvements. Aucune méthode standard n'a encore été validée. Dans notre étude, les analyses préliminaires visant à comparer les techniques de lavage et d'écouvillonnage trachéo-bronchiques tendent à montrer que l'écouvillon trachéo-bronchique est plus sensible mais moins spécifique que le lavage pour la détection de *M.hyorhinis* et *M.hyopneumoniae*. Ces résultats sont en cours de traitement et feront l'objet de nouvelles analyses statistiques. Néanmoins, l'écouvillonnage trachéo-bronchique associé à la PCR apparaît déjà comme un outil diagnostique pratique et précis pour étudier les dynamiques d'infections de *M.hyopneumoniae* et *M.hyorhinis* en élevage porcin.

ANNEXES

ANNEXE 1

RAPPELS ANATOMIQUES ET FONCTIONNELS DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE DES PORCS

1. Les cavités respiratoires supérieures

1.1. Le nez externe

Le groin des porcs a une forme circulaire irrégulière ; il est humide, légèrement velu et marqué d'un philtrum peu profond. Il s'agit d'un organe de tact et de fouissage. Les narines sont étroites, arrondies et très peu mobiles.

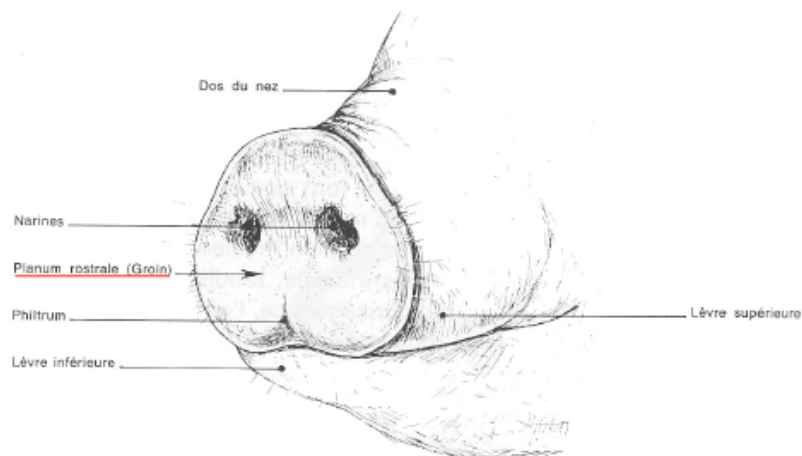


Figure 21 : *Narines et groin de porc [100]*

Il s'agit de la principale porte d'entrée d'agents pathogènes en élevage.

1.2. La cavité nasale

La cavité nasale, ou « fosse nasale » est délimitée par le seuil nasal, par l'éthmoïde qui l'isole du crâne et par la choane, qui la met en communication avec le naso-pharynx. Le palais osseux sépare la cavité nasale et la bouche, et le septum nasal la divise longitudinalement. Les cornets nasaux séparent chacune des deux moitiés de la cavité en trois méats (dorsal, moyen et ventral).

Elle est recouverte dans sa partie antérieure par un épithélium pavimenteux stratifié qui se modifie, en partie postérieure, en un épithélium pseudo-stratifié cilié présentant des cellules caliciformes. Celles-ci sécrètent un mucigène, qui en s'hydratant, forme un mucus. Celui-ci, associé aux cils vibratiles, forme le tapis muco-ciliaire empêchant la progression des poussières vers l'appareil respiratoire profond.

Trois rôles sont associés à la cavité nasale :

- respiratoire, en modifiant la qualité de l'air inspiré (purification par l'épithélium pseudo-stratifié présentant des cellules à mucus et des cellules ciliées ; réchauffement par l'intermédiaire des plexus vasculaires sous-muqueux ; humidification grâce à l'évaporation du mucus et du produit de sécrétion des glandes nasales.
- olfactif (terminaisons nerveuses et glandes olfactives dans la muqueuse olfactive qui tapisse le labyrinthe éthmoïdal)
- phonateur (joue le rôle de caisse de résonance surmontant le rétrécissement glottique).

2. L'arbre aérophore

2.1. La trachée

La trachée constitue la portion moyenne de l'arbre aérophore. Elle s'étend du larynx (cartilage cricoïde) aux bronches (bifurcation trachéo-bronchique). Ce tube flexible (flexibilité permise par les ligaments annulaires, fibro-élastiques, reliant les anneaux entre eux) présente un squelette cartilagineux qui le maintient béant et non affaissable sur lui-même. Sa portion cervicale est cliniquement accessible, contrairement à sa portion thoracique qui présente une bronche trachéale (comme chez les ruminants) menant au lobe apical du poumon droit.

La trachée mesure de 25 à 30 cm de long et sa section, circulaire, mesure 2 à 3 cm de diamètre.

Les cartilages trachéaux, au nombre de 30 à 36, présentent un chevauchement dorsal.

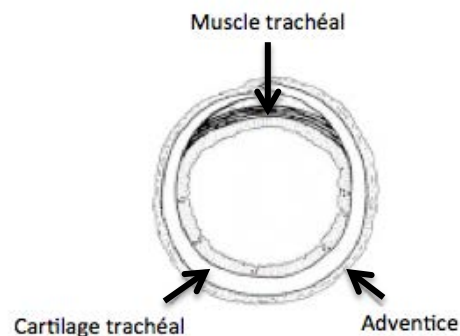


Figure 22 : Représentation schématique en coupe de la trachée du porc ^[100]

2.2. Les bronches

Les bronches succèdent à la trachée et se ramifient dans les poumons pour constituer l'arbre bronchique, supportant le parenchyme pulmonaire.

La bronche principale droite se ramifie en deux bronches secondaires menant au lobe cardiaque droit et au lobe intermédiaire et se termine dans le lobe diaphragmatique droit où elle se ramifie.

La bronche principale gauche se ramifie en deux bronches secondaires menant au lobe apical gauche et au lobe cardiaque gauche et se termine dans le lobe diaphragmatique gauche.

La ramification bronchique est différente pour le poumon droit et gauche : le poumon droit présente 14 segments broncho-pulmonaires, et le gauche n'en présente que 10.

Les bronches sont, comme le larynx et la trachée, recouvertes d'un épithélium cylindrique pseudostratifié cilié avec des cellules muqueuses caliciformes. A l'approche des alvéoles, l'épithélium des bronchioles devient squameux.

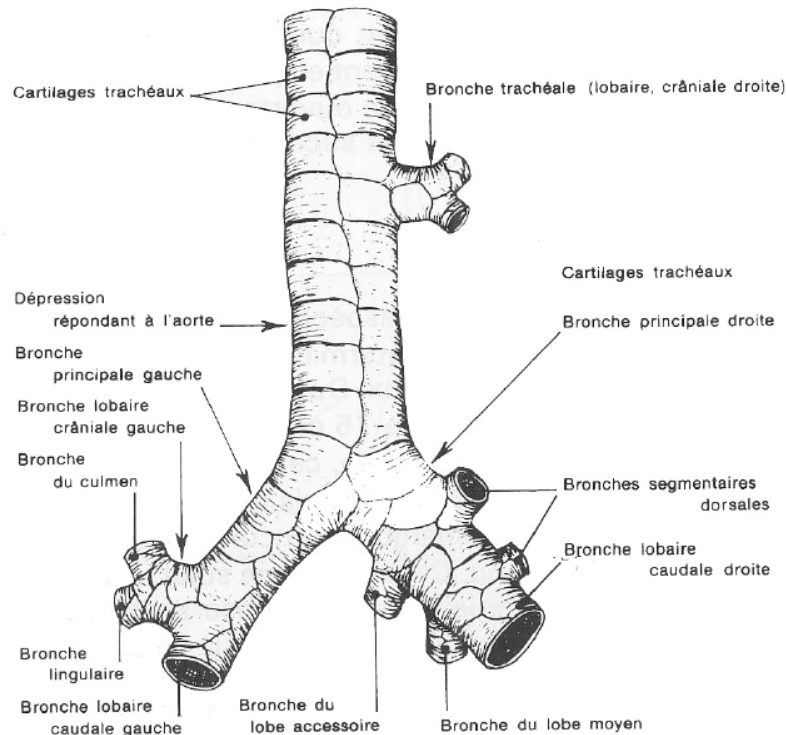


Figure 23 : Représentation schématique de la trachée et des bronches de porc [100]

3. Les poumons

Les poumons des porcs, de coloration rose pâle, sont divisés en 7 lobes, individualisés par des fissures relativement profondes. Le poumon droit représente plus de la moitié du poids total des poumons.

Le poumon droit, plus fortement lobé, est composé des lobes apical, cardiaque, diaphragmatique et accessoire (ou azygos).

Le poumon gauche est divisé en un lobe apical, un lobe cardiaque et un lobe caudal. Le lobe apical et le lobe cardiaque ne sont pas séparés par une fissure mais par l'incisure cardiaque du poumon gauche.

Chaque lobe est divisé en lobules par les septa interlobulaires. Cette conformation en lobules explique que les processus pathologiques peuvent rester très localisés dans le poumon.

L'absence d'anastomoses, entre les bronchioles respiratoires et les canaux alvéolaires, interdit les échanges gazeux collatéraux entre lobules voisins. Ceci explique que les lobules obstrués s'atélectasient.

Le lobe apical droit, alimenté par la bronche trachéale est hypoventilé et moins vascularisé que les autres lobes pulmonaires. De plus, sa situation crânio-ventrale facilite l'acheminement d'agents pathogènes vers celui-ci. Cela prédisposerait le poumon droit à présenter plus de lésions que les autres lobes.

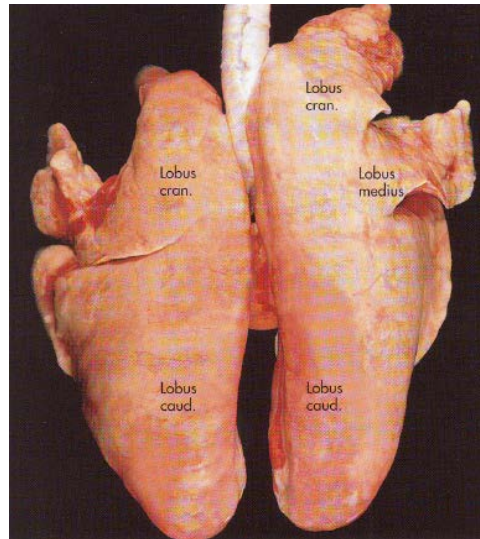


Figure 24 : Poumon de porc (vue dorsale)

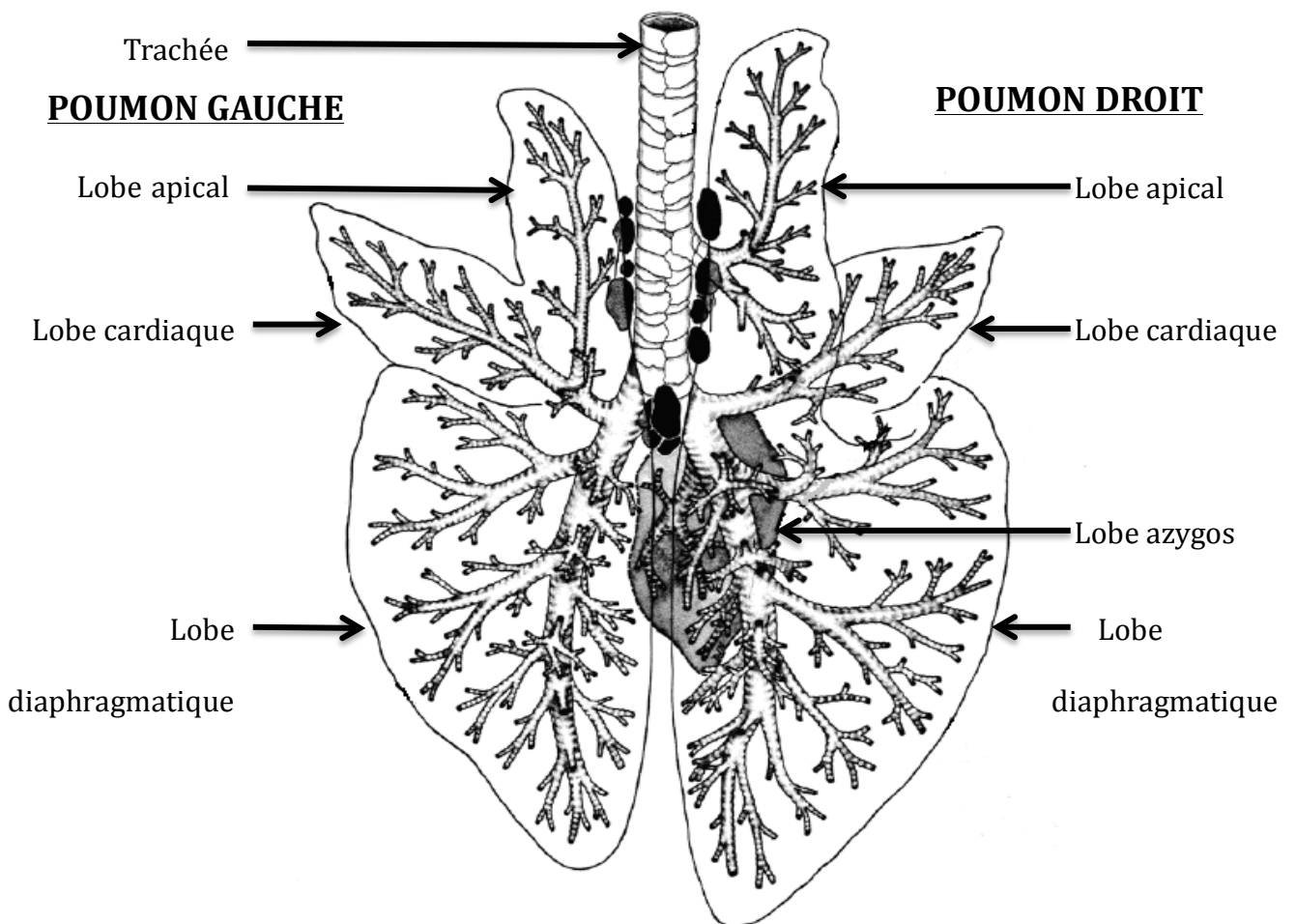


Figure 25 : Représentation schématique de poumons de porc – vue dorsale ^[115]

Les poumons sont le siège des échanges gazeux permis par la respiration. Physiologiquement, la fréquence respiratoire est de [90] :

- 25 à 40 mpm pour les porcelets,
- 25 à 35 mpm pour les porcs en engraissement,
- 15 à 20 mpm pour les truies en gestation.

4. Mécanismes de défense de l'appareil respiratoire porcin

La surface muqueuse du tractus respiratoire est une interface entre le porc et son environnement ; son rôle premier étant de diffuser à travers sa membrane. Les échanges gazeux nécessitant une très grande surface de diffusion, le tractus respiratoire est doté de mécanismes de défenses spécialisés et efficaces empêchant la circulation et le passage d'agents pathogènes.

4.1. Conformation des cavités nasales

Les cavités nasales sont telles que les grosses particules sont piégées par les poils dans les narines, déposées par gravité dans le mucus et éliminées.

4.2. L'escalator muco-ciliaire

L'épithélium de la trachée et des bronches est composé de deux tuniques : une musculuse et une muqueuse.

La muqueuse est constituée d'un épithélium pseudostratifié cilié participant à la défense passive des portions moyennes et profondes de l'appareil respiratoire. Cet épithélium est composé de cellules ciliées dont le pôle luminal comporte de nombreux cils et microvillosités, battant dans un substrat glycoprotéique sécrété par des cellules mucipares.

Le mucus est divisé en 2 phases :

- la plus externe, visqueuse, piège les particules,
- la plus interne, fluide, dans laquelle battent les cils.

Les particules piégées par le mucus sont donc prises en charge par l'appareil muco-ciliaire : seules les particules d'une diamètre inférieur à 5 μm peuvent atteindre les alvéoles pulmonaires ; les particules d'un diamètre supérieur à 10 μm sont arrêtées avant d'atteindre les bronches [7].

Le tapis ciliaire, dans les bronches et bronchioles, fait remonter un flux continu de mucus vers le pharynx. Le flux de mucus provoqué par les battements rythmique des cils est de 4-15 mm/minute [35]. Le mucus atteignant ensuite la cavité pharyngée, est avalé.

4.3. Phagocytes

Les macrophages alvéolaires neutralisent le matériel étranger qui a réussi à échapper à l'appareil muco-ciliaire. Les particules non pathogènes ainsi que les agents pathogènes sont pris en charge par les phagocytes et éliminés dans le mucus ou par le système lymphatique.

Les micro-organismes pathogènes sont neutralisés grâce aux lysosymes, interférons, opsonines, lactoferrines, les facteurs du complément et des immuno-globulines spécifiques présents dans le mucus. L'inflammation apparaît lorsque les micro-organismes n'ont pas été

neutralisés par les macrophages alvéolaires. Dans ce cas, les neutrophiles envahissent les alvéoles et « aident » les macrophages dans leur activité phagocytaire.

Chez le porc sain, on retrouve dans le mucus broncho-alvéolaire [93]:

- 70-80 % de macrophages alvéolaires
- 11-18 % de lymphocytes
- 8-12 % de neutrophiles
- 5 % d'éosinophiles

Le système des cellules phagocytaires comprend également les macrophages intravasculaires, particulièrement nombreux au niveau des poumons des porcs^[94], et des histiocytes avec des propriétés phagocytaires dans le tissu conjonctif.

L'activité des phagocytes est intensifiée si les agents pathogènes ne sont pas éliminés rapidement ou si ces agents pathogènes sont reconnus par le système immunitaire. Une réponse immunitaire complexe est ensuite mise en place avec la production d'immunoglobulines spécifiques.

4.4. Immunoglobulines

Elles neutralisent les antigènes en générant des complexes immuns.

Les immunoglobulines prédominantes dans le mucus respiratoire sont de type IgA, alors que dans l'appareil respiratoire profond, au niveau des alvéoles, les IgG constituent la plus grande part des immunoglobulines. La réponse immunitaire protectrice humorale impose donc différents modes d'induction selon la localisation de l'agent pathogène.

Les IgM sont de puissantes protéines produites lors de la réponse immunitaire précoce, particulièrement chez les porcelets nouveau-nés.

Les immunoglobulines dans le tapis muqueux agissent de manière primaire, en empêchant l'attachement initial des agents pathogènes et la pénétration de ceux-ci.

Les IgE sont produites en réponse à une infection parasitaire (*Metastrongylus* spp. et les larves migrantes d'*ascaris*).

4.5. Réponse immunitaire à médiation cellulaire

Les macrophages constituent la première ligne de défense de l'immunité innée. Au niveau respiratoire, il existe des macrophages bronchiques, alvéolaires, interstitiels et intravasculaires.

Le macrophage alvéolaire, lorsqu'il est activé, libère de nombreux médiateurs permettant le recrutement de lymphocytes et de polynucléaires neutrophiles, qui seront le signe d'une inflammation.

Les lymphocytes recrutés, parviennent aux poumons par voie sanguine et vont se distribuer en 4 pools [112]:

- un pool marginal intravasculaire (adhésion aux capillaires)
- un pool interstitiel (migration dans les espaces interstitiels)
- un pool alvéolaire (migration vers les alvéoles)
- un pool lymphoïde (migration vers le BALT, tissu lymphoïde du poumon)

ANNEXE 2

Enjeux de la pathologie respiratoire en élevage porcin

Les résultats techniques (et donc, par conséquent économiques) des élevages porcins sont influencés par de nombreux facteurs comme la conduite d'élevage, la conduite alimentaire et la santé du troupeau. Cette dernière reste le paramètre le plus difficile à quantifier.

Les maladies respiratoires présentent un intérêt majeur pour la production porcine mondiale, notamment du fait du lourd impact économique qu'elles peuvent entraîner.

1. Importance clinique

La pathologie respiratoire, chez le porc, fait intervenir les deux étages de l'appareil respiratoire :

- les atteintes de l'appareil respiratoire haut sont principalement caractérisées par un tableau clinique de rhinite,
- les lésions des voies respiratoires basses sont caractérisées par des atteintes pulmonaires (pneumonie, bronchopneumonie, pleurésie).

De nombreuses études ont présenté des résultats quant à la prévalence de maladies respiratoires bien définies. Certains ^[49] ont montré que la prévalence des lésions de pneumonie à l'abattoir varie de 6 à 81%, les lésions de pleurésie de 2 à 28 % et les lésions de pleuropneumonie de 1 à 11%.

En 2003, en Bretagne, une étude ^[72] portant sur 1196 élevages (110 865 porcs) a établi que la prévalence moyenne de pneumonie s'élevait à 73,4%, la prévalence de pleurésie s'élevait à 14,4% et la prévalence d'abcès pulmonaires s'élevait à 2,3%.

Les signes cliniques respiratoires se retrouvent dans la quasi totalité des troupeaux avec des fréquences plus ou moins élevées, caractérisés en général par :

- éternuements et toux chez les porcelets avant et après le sevrage
- toux, dyspnée, éternuements et déviation du groin chez les porcs charcutiers (parfois chez les reproducteurs).

L'évaluation des poumons en abattoir permet d'obtenir les meilleures indications sur l'incidence réelle des maladies respiratoires, et il est clair que la prévalence de celle-ci est très élevée en France. L'impact des maladies respiratoires restent donc d'actualité, d'autant que l'impact économique peut s'avérer être considérable.

2. Importance technico-économique

Les maladies respiratoires ont un réel impact économique pour l'éleveur, avec des pertes de revenus importantes. Ces pertes peuvent être directes (mortalité, non-valeur économique de porcs en fin d'engraissement) ou indirectes (réduction de la vitesse de croissance, du GMQ, augmentation de l'indice de consommation). L'estimation de ces pertes reste donc difficile à objectiver.

2.1. Impact technique

A l'échelle d'un élevage, lorsqu'il s'agit de maladie bien définie et intervenant sur une période bien délimitée, les calculs sont facilités (essentiellement des maladies aiguës associées à de la mortalité). Dans le cas de troubles chroniques, les calculs sont plus difficiles.^[78]

Au niveau individuel, il existe une corrélation négative significative entre note de pneumonie (à l'abattoir) et croissance, avec environ 0,7% de gain de poids en moins lorsque le score de pneumonie augmente d'1 point.^[98]

Ces différences ont également été rapportées en terme de GMQ, indice de consommation et taux de mortalité.^[9]

Au niveau de l'élevage, une corrélation négative significative entre note de pneumonie et croissance du porc a été établie : la croissance des porcs avec pneumonie et pleurésie est en moyenne 15% inférieure à celle des porcs sans pleurésie.^[98]

En 2006, l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) –site de Ploufragan- a mené un projet de recherche sur les pathologies respiratoires des porcs à l'engrais, en analysant les données de GTE de 100 élevages situés dans l'ouest de la France (indice de consommation, taux de pertes, dépenses de santé). Les résultats sont les suivants :

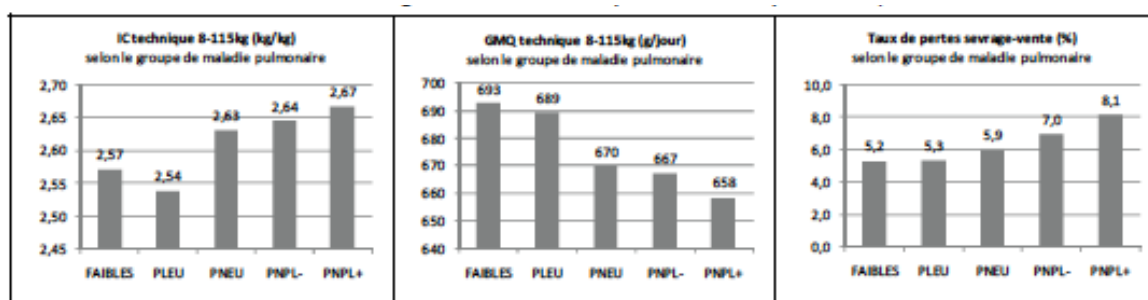


Figure 26 : Représentation des principaux critères GTE en 2006, selon les cinq groupes de maladies pulmonaires définis (100 élevages, FAIBLES : élevages faiblement affectés par les maladies pulmonaires, PLEU : élevages atteints de pleurésie, PNEU : élevages atteints de pneumonie, PNPL- : élevages moyennement atteints par de la pneumonie et de la pleurésie, PNPL+ : élevages sévèrement atteints par les 2 maladies pulmonaires).^[2]

Ces dégradations des performances entraînent, bien évidemment, des pertes financières importantes pour l'éleveur (coût des traitements, coût alimentaire, pertes...).

2.2. Impact économique

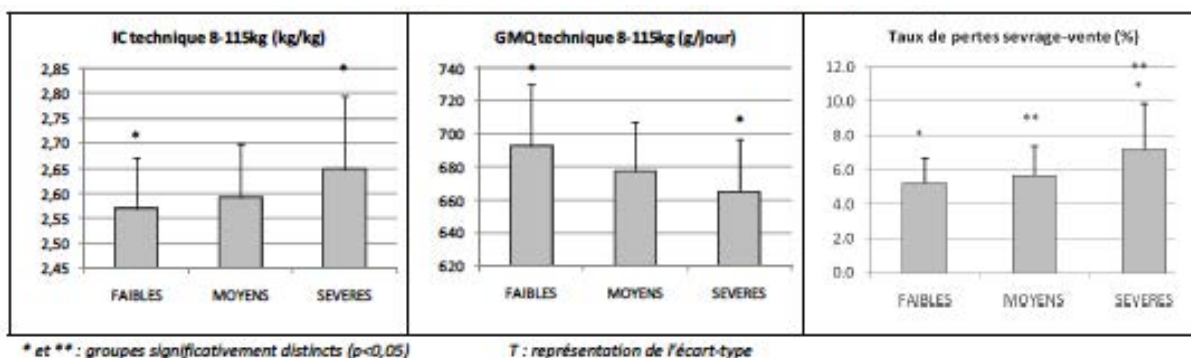


Figure 27 : Représentation des principaux critères GTE en 2006, selon les trois groupes de maladies pulmonaires définis (100 élevages, FAIBLES : élevages faiblement affectés par les maladies pulmonaires, MOYENS : élevages moyennement atteints, SEVERES : élevages sévèrement affectés par de la pneumonie et la pleurésie).^[2]

Une perte d'environ 3€/porc produit entre les élevages les plus sévèrement atteints par des lésions de pleurésie et de pneumonie et ceux les moins atteints a été calculée^[2] :

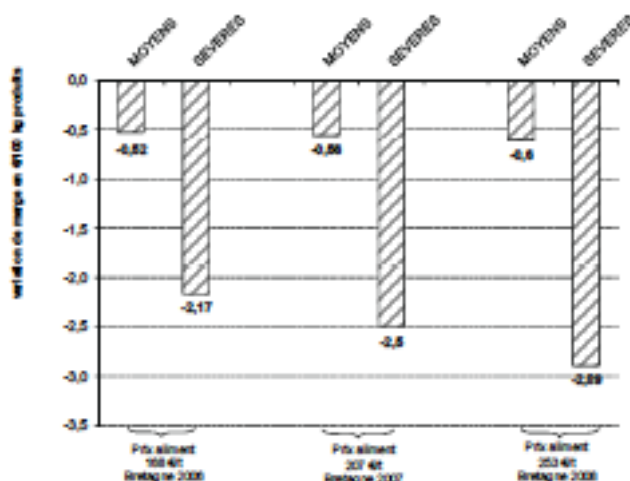


Figure 28 : Ecart de marge des élevages moyennement (MOYENS) et sévèrement (SEVERES) affectés par les maladies pulmonaires par rapport aux élevages du groupe « FAIBLES » (en €/100kg produits) pour différents prix d'aliment.

En 2006, Bouwkamp^[9] a montré que la prévention des problèmes respiratoires chroniques, passant par la vaccination et l'antibioprophylaxie notamment, peut permettre de faire gagner jusqu'à 19,29€ par porc. (3,95€/porc produit en moyenne).

3. Application pratique – gestion des troubles respiratoires en élevage

Les maladies respiratoires, du fait de leur complexité et de leur étiologie multifactorielle, imposent au praticien d'adopter une démarche systématisée.

Il devra en premier lieu, par une approche inductive, partir de ses observations (symptômes, évaluation indirecte grâce aux documents des GTE, évaluation directe dans l'élevage) qui le mèneront à formuler une ou plusieurs hypothèses.

Les hypothèses devront ensuite validées ou non par des examens complémentaires afin d'identifier les agents pathogènes et de proposer un plan de prophylaxie adapté voire un traitement.

Dans le cas des maladies respiratoires, l'approche clinique fait intervenir divers outils, notamment le comptage de toux : après 5 minutes de présence dans la salle, le pourcentage correspondant au nombre de toux et d'éternuements relevés en 2 minutes pour 100 animaux. En fin d'engraissement, sont considérés comme anormaux⁽¹⁾ :

- un comptage de toux >5%.
- un comptage d'éternuement >20%.

L'examen nécropsique est un examen de choix en production porcine car il peut souvent orienter le diagnostic (lésions caractéristiques parfois) et dater le processus pathologique (chronique ou aigu). Les contrôles abattoirs sont, pour cela, un outil très important car ils permettent^[1] :

- d'obtenir des échantillons à des fins diagnostiques (sang, poumons)
- de monitorer les maladies (évaluation de la gravité, vérification de l'efficacité d'un traitement mis en place).

Cependant, l'absence de lésions suggestives d'une infection à l'abattoir, ne signifie pas que l'élevage est indemne (les animaux échantillonnés peuvent être porteurs asymptomatiques par exemple).

La datation de la maladie est un point crucial. Pour cela, le vétérinaire peut réaliser des sérologies transversales (prélèvements sur un échantillon d'animaux d'âge différents), pour déterminer le moment de séroconversion des porcs (en général, elle apparaît 3 à 4 semaines post-infection). En associant ces sérologies aux observations nécropsiques, l'incidence de l'agent pathogène peut être évaluée.

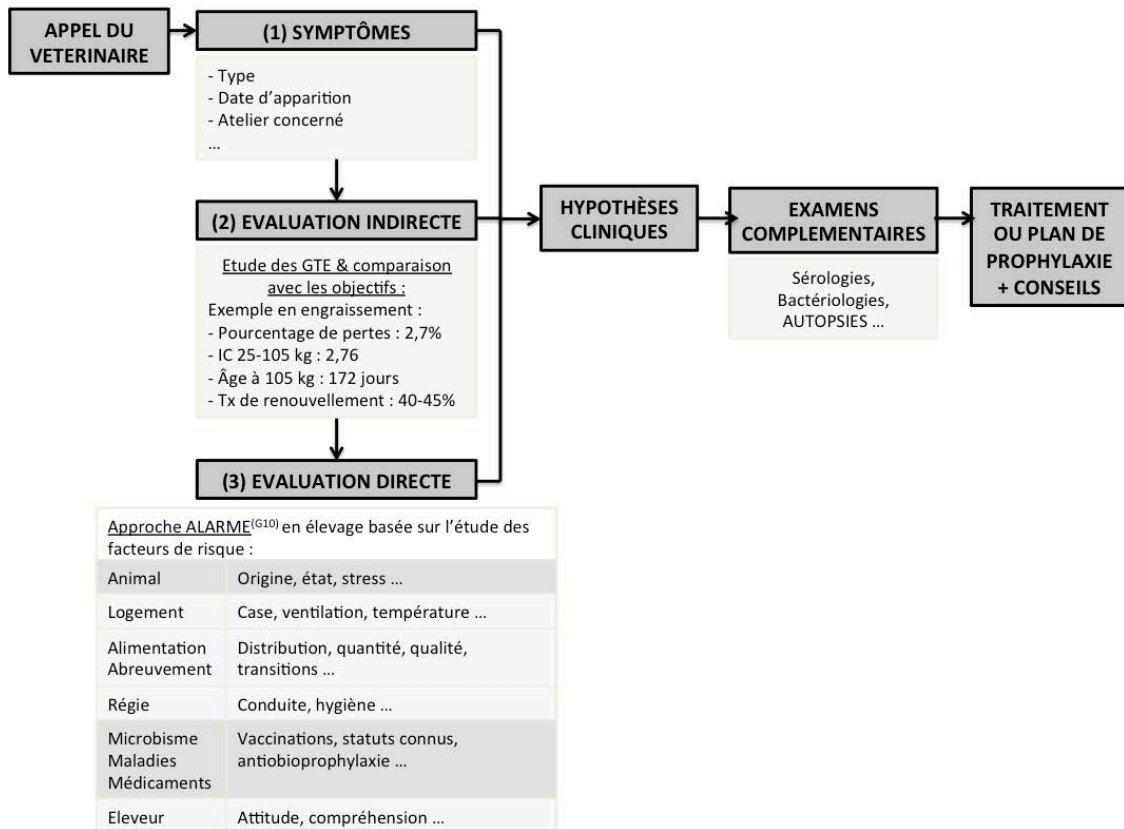


Figure 29 : Démarche du praticien face à une maladie respiratoire en élevage porcin

ANNEXE 3

PRINCIPALES ENTITES CLINIQUES RESPIRATOIRES DU PORC

Atelier	Epidémiologie (E) & Symptômes (S)	Entité clinique (agent pathogène)	Diagnostic
Maternité	E, : jeune porcelet, mortalité élevée S : pneumonie, cyanose des oreilles	Bordetellose pulmonaire (<i>Bordetella bronchiseptica</i> lors d'une forte pression infectieuse)	<u>Anatomopathologique</u> : Lésions pulmonaires sévères, fibrinohémorragiques, hépatisation des lobes apicaux et cardiaques <u>Bactériologie</u>
	E : élevage en extérieur S : toux, dyspnée, dégradation de l'état général	Métastrongylose (<i>Metastrongylus apri</i>)	<u>Coprologique</u> <u>Anatomopathologique</u> : Identification des vers
Maternité & Post-sevrage	E : en <u>maternité</u> (forme classique) : moins de 1 semaine d'âge S : rhinite aiguë, dyspnée, croûtes autour des narines	Rhinite à corps d'inclusion = Rhinite de Done (Cytomégalo virus porcin)	<u>Histopathologique</u> : Inclusions intranucléaires au niveau de la muqueuse nasale <u>Isolement</u> du virus difficile
	E : <u>post-sevrage</u> (élevages multisites) S : rhinite épidémique : éternuements, jetage séreux puis purulent		
Maternité & Post-sevrage	E : signes cliniques présents en fin de maternité et PS (5-6 semaines), régression lente possible en engraissement S : Atrophie des cornets nasaux (idem RAP), rhinite aiguë, brachygnatisme, pas de déformation des groins ni de plissement, performances stables	Rhinite atrophique régressive (<i>Bordetella bronchiseptica</i>)	<u>Anatomopathologique</u> <u>Histologique</u> (muqueuse nasale : inflammation et nécrose partielle + amas bactériens) Absence de mise en évidence de Pasteurelle dermonécrotique.
Post-sevrage & engraissement	E : engraissement et chez les jeunes reproducteurs ; morbidité élevée ; clinique < 10% des animaux S : visibles souvent en engraissement, évolution surtout chronique : toux sèche, quinteuse, épistaxis (unilatéral souvent), épiphora, déviation du groin, plissement de la peau, brachygnatisme, parfois sans répercussion sur l'état général	Rhinite atrophique progressive (<i>Pasteurella multocida</i> produisant une rhinotoxine PmTox+)	<u>Anatomopathologique</u> : coupes de groins à l'abattoir <u>Bactériologie</u> : écouvillons nasaux
Atelier	Epidémiologie (E) & Symptômes (S)	Entités cliniques (agents pathogènes)	Diagnostic
Post-sevrage & engraissement	E : Forme classique (naisseurs-engraisseurs) ou « Pneumonie différée en engraissement » (multisites) : apparaît plus de 2 mois après l'entrée en engraissement ; pas ou peu de mortalité S : <u>Forme subaiguë</u> : toux sèche et quinteuse, sans répercussion clinique. Performances diminuées. <u>Forme aiguë</u> : Syndrome fébrile marqué	Bronchopneumonie enzootique (<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>)	<u>Anatomopathologique</u> : Subaiguë : pneumonie crânio-ventrale délimitée / Aiguë : pneu. catarrhale / Chronique : pneu. broncho-interstitielle <u>Histopathologique</u> : hyperplasie nodulaire des formations lymphoïdes locales (BALT) <u>Sérologique</u>
	E : porcs à l'engrais, faible niveau sanitaire des porcelets entrant ou mauvais contrôle de l'environnement Forme primaire rare / + secondaire à la BPE et au SDRP S : toux, coups de flanc, amaigrissement	Pasteurelloses (<i>Pasteurella multocida</i>)	<u>Anatomopathologique</u> : pneumonie suppurée subaiguë à chronique, non différenciable d'une BPE compliquée <u>Bactériologie</u>
	E : en engraissement avec sources multiples ; prévalence élevée en hiver ; auto-limitation si pas d'introduction ; morbidité forte ; mortalité faible S : <u>Forme épizootique (engrais)</u> : toux, polypnée, forte fièvre, abattement intense, jetage nasal, conjonctivite, épiphora, inanition totale <u>Forme enzootique (PS)</u> : idem mais peu d'animaux touchés	Influenza (H1N1, H1N2 et H3N2 pas en France)	<u>Anatomopathologique</u> : pneumonie interstitielle (idem PCV2 ou SDRP), bronchiolite nécrotique <u>Isolement viral</u> : (écouvillon nasaux) en début de phase clinique. <u>Sérologies</u> pairées (2 à 3 semaines d'intervalle)
	E : porcs à l'engrais, évolution très rapide en forme aiguë S : <u>Forme aiguë</u> : mortalité forte, morbidité forte, toux polypnée, dyspnée, décubitus <u>Forme chronique</u> : frustes, retards de croissance.	Pleuropneumonie porcine (<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , sérotype 2, 9/11 en France)	<u>Anatomopathologique</u> : spumosités hémorragiques aux narines, congestion généralisée (lobes caudaux atteints) Chronique : abcès, pleurésie focale. <u>Sérologique</u> avec sérotypage
	E : pseudo-épidémie de pneumonies abcédatives (après morsures de queues par exemple) S : paralysie, arthrite, mammite, endocardite, pneumonie abcédative, abcès hépatiques (emboles septiques depuis lésions primaires)	Pneumonies abcédatives et abcès multiples (<i>Actinomyces pyogenes</i> + Strepto- & Staphylo-coques)	<u>Anatomopathologique</u> : Identification de la lésion primaire (pas toujours possible)
	E : mauvais environnement ? ; PS / début d'engraissement S : toux faible, essoufflement, diarrhée, polyarthrite, retard de croissance, absence d'atteinte méningée	Polysérosite (<i>Mycoplasma hyorhinis</i>)	<u>Anatomopathologique</u> <u>Bactériologique</u> : Culture ou PCR (sérologie non disponible)

Tableau 34 : Présentation des principales entités cliniques respiratoires provoquées par des agents pathogènes à tropisme respiratoire

ANNEXE 4

PRINCIPE DE LA PCR

L'isolement d'une souche de *M.hyorhinis* requiert de 9 à 15 jours de manipulations au laboratoire. Afin de réduire ce délai, des tests PCR ont été développés. Ils permettent de détecter le mycoplasme directement à partir du prélèvement.

La PCR est une technique d'amplification de l'ADN qui a été mise au point par Kary Mullis en Californie aux USA en 1983. Aujourd'hui, la PCR est une technique incontournable et couramment utilisée en routine dans les laboratoires.

La PCR est une réaction enzymatique qui permet de détecter, de sélectionner puis d'amplifier en une très grande quantité, un fragment d'ADN cible présent en très faible quantité au départ, parmi des millions d'autres fragments. Il s'agit d'une suite de cycles, qui se répètent en boucle, comportant chacun trois paliers de températures, pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes :

- une dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent,
- une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée,
- puis une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase.

Le principe de la PCR quantitative en temps réel (Q-PCR) repose sur le suivi cycle par cycle de la réaction d'amplification grâce à l'utilisation d'une molécule fluorescente qui, dans des conditions bien définies, émettra un rayonnement dont l'intensité sera proportionnelle à la quantité d'ADN amplifiée. L'intensité de la fluorescence augmente à chaque cycle de PCR.

Ainsi, le suivi de cette fluorescence permet de tracer une courbe, de caractériser les différentes phases de la cinétique PCR et de mesurer la quantité de produits d'amplifications générés au cours de la phase exponentielle. C'est uniquement au cours de cette phase qu'il sera possible d'extrapoler la quantité de matrice cible initialement présente avant amplification. Le point de départ de la phase exponentielle est appelé Ct (Threshold cycle) (Figure 30). Le Ct est le nombre de cycles PCR nécessaires pour que la fluorescence d'une sonde dépasse celle du bruit de fond pour un fluorophore et un échantillon donné (Norme AFNOR XPU 47-600-1).

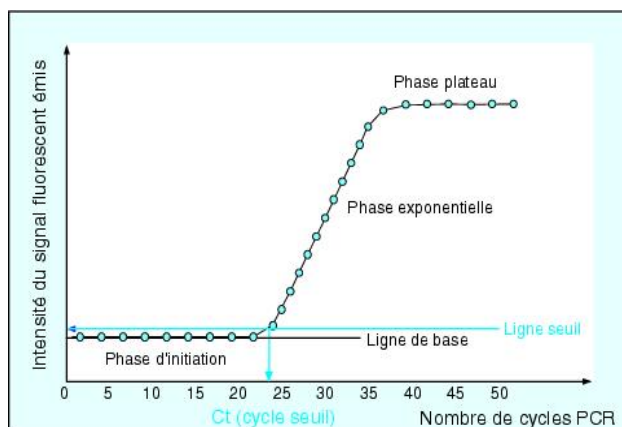


Figure 30 : Suivi en temps réel d'une réaction de PCR.

Les molécules fluorescentes peuvent être des agents intercalants se liant à l'ADN (technologie SYBR Green) ou des sondes moléculaires fluorogéniques spécifiques de la cible à amplifier (technologie TaqMan) (Figure 30). Dans cette technologie, la sonde fluorogénique s'hybride sur le fragment à amplifier. La Taq-polymérase possède une activité exonucléasique 5'-3'. Ainsi, au cours de la phase d'élongation, il y aura une dégradation de la sonde et libération du fluorophore « quencher » qui s'accompagnera d'une émission de la fluorescence du fluorophore « reporter ». La quantité d'ADN amplifiée et le nombre d'ADN cibles présent initialement pourront alors être déterminés. Dans notre étude, la technologie TaqMan a été celle utilisée pour détecter la présence de *M. hyopneumoniae* dans les différents prélèvements analysés.

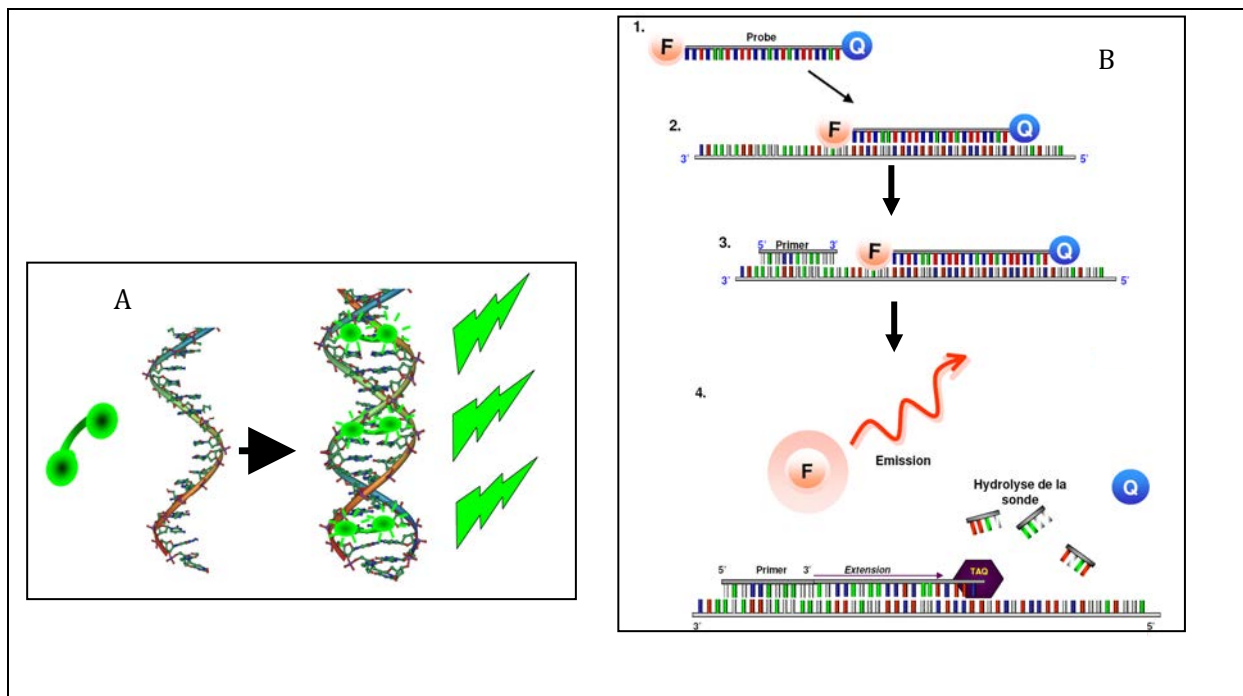


Figure 31 : Principe de la PCR en temps réel utilisant la technologie "Sybr-Green" (A) et utilisant la technologie "TaqMan" (B)

ANNEXE 5

Résultats des analyses PCR des élevages « cas »

C : Animaux avec signes cliniques

T : Animaux sans signe clinique

Mhr : *Mycoplasma hyorhinis*

Mhp : *Mycoplasma hyopneumoniae*

Hps : *Haemophilus parasuis*

Ssuis : *Streptococcus suis*

GAEC La Glinais, 35290 – Quédillac

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	1	1	1	1
T2	0	1	1	0
T3	0	1	0	0
T4	0	1	0	1
T5	0	0	0	0
T6	1	1	0	1
T7	0	1	1	1
T8	0	0	0	1
T9	0	1	0	0
T10	0	1	0	0
Témoins +	2/10	8/10	3/10	5/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	1	0	0
0	1	0	0
0	0	0	0
1	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	0	0	0
0	1	0	1
0	1	0	0
1/10	8/10	0/10	1/10

	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
C1	1	1	1	0
C2	1	1	0	0
C3	1	1	0	1
C4	0	1	0	1
C5	1	1	1	1
C6	0	1	1	1
C7	1	1	0	0
C8	1	1	0	1
C9	1	1	0	0
C10	1	1	0	1
Cas +	8/10	10/10	3/10	6/10

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
1	1	0	0
0	1	0	1
1	1	1	1
0	1	0	0
0	0	0	0
0	1	0	0
0	0	0	0
1	1	0	0
0	0	0	0
1	1	0	0
4/10	7/10	1/10	2/10

Total + 10/20 18/20 6/20 11/20

5/20 15/20 1/20 3/20

Ecouvillon trachéo-bronchique

Lavage trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	0	0	1
T2	0	0	0	0
T3	0	0	1	0
T4	0	0	0	0
T5	0	0	1	0
T6	0	0	1	1
T7	0	0	0	0
T8	0	0	0	0
T9	0	0	1	1
T10	0	0	0	0
Témoins +	0/10	0/10	4/10	3/10

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0/10	0/10	0/10	0/10

C1	0	0	0	0
C2	0	0	0	0
C3	0	0	0	0
C4	0	0	1	1
C5	0	0	0	1
C6	0	0	0	1
C7	0	0	0	0
C8	0	0	0	0
C9	0	0	1	1
C10	0	0	1	0
Cas +	0/10	0/10	3/10	4/10

0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	1	1
0	0	0	0
0	0	0	1
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0/10	0/10	1/10	2/10

Total + 0/20 0/20 7/20 7/20

0/20 0/20 1/20 2/20

SCEA du Pont des Champs, 36400 Montlevicq

Ecouvillon trachéo-bronchique

Lavage trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
------	-----	-----	-----	-------

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
-----	-----	-----	-------

T1	1	1	1	0
T2	0	1	1	0
T3	0	1	1	0
T4	0	1	1	0
T5	0	1	1	0
T6	0	1	1	0
T7	0	1	0	0
T8	0	0	0	0
T9	1	1	1	0
T10	0	1	1	0

0	1	0	0
0	0	0	0
0	1	0	0
0	1	1	0
0	1	0	0
0	1	0	1
0	0	0	0
0	1	0	0
0	0	1	0
0	0	0	0

Témoins + 2/10 9/10 8/10 0/10

0/10 6/10 2/10 1/10

C1	0	1	1	0
C2	1	1	1	0
C3	1	1	1	0
C4	0	1	1	0
C5	0	1	1	0
C6	0	1	1	0
C7	0	1	1	0
C8	0	1	1	0
C9	0	1	1	0
C10	1	1	1	0

0	1	0	0
0	1	0	0
0	0	0	0
0	1	0	0
0	0	1	1
1	1	1	1
0	1	1	1
0	1	1	0
0	0	0	0
0	0	0	0

Cas + 3/10 10/10 10/10 0/10

1/10 6/10 4/10 3/10

Total + 5/20 19/20 18/20 0/20

1/20 12/20 6/20 4/20

Ecouvillon trachéo-bronchique

Lavage trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	1	0	1
T2	0	1	0	1
T3	1	1	0	0
T4	0	1	0	0
T5	0	1	0	0
T6	1	1	1	1
T7	0	1	0	1
T8	0	1	0	1
T9	1	1	0	1
T10	0	1	0	1
Témoins +	3/10	10/10	1/10	7/10

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	1	0	1
0	1	1	1
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	1
0	1	0	1
0	1	0	1
0	1	0	1
0	1	0	0
0	1	0	0
0/10	10/10	1/10	6/10

C1	0	1	1	1
C2	1	1	1	1
C3	0	1	0	1
C4	1	1	0	0
C5	0	1	0	0
C6	0	1	0	1
C7	0	1	0	1
C8	0	1	1	1
C9	0	1	1	1
C10	0	1	1	1
Cas +	2/10	10/10	5/10	8/10

0	1	0	0
0	1	0	0
1	1	0	1
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	1
0	0	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
1	1	1	1
2/10	9/10	1/10	3/10

Total + 5/20 20/20 6/20 15/20

2/20 19/20 2/20 9/20

GAEC des Granges, 22400 – Saint Denoual

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	1	0	0
T2	0	1	0	0
T3	0	1	0	0
T4	0	1	0	0
T5	0	1	0	0
T6	0	0	0	0
T7	0	1	0	1
T8	0	1	0	0
T9	0	1	1	1
T10	0	1	1	0
Témoins +	0/10	9/10	2/10	2/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	1
0	0	0	0
1	1	0	0
0	0	0	0
0	1	1	0
0	0	1	1
1/10	7/10	2/10	2/10

C1	0	1	0	0
C2	0	1	0	1
C3	1	1	0	0
C4	0	1	0	1
C5	0	1	0	0
C6	0	1	1	1
C7	1	1	1	0
C8	0	1	0	1
C9	1	1	1	1
C10	0	1	0	1
Cas +	3/10	10/10	3/10	6/10

0	1	0	0
0	0	0	0
1	1	0	0
0	1	0	1
0	1	0	0
1	1	1	0
0	0	0	0
0	1	1	1
0	1	0	0
0	0	0	0
2/10	7/10	2/10	2/10

Total + 3/20 19/20 5/20 8/20

3/20 14/20 4/20 4/20

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	1	1	1
T2	0	1	1	1
T3	0	1	0	0
T4	0	1	0	0
T5	1	1	1	0
T6	0	1	1	0
T7	0	1	0	0
T8	1	1	0	0
T9	1	1	0	1
T10	1	1	1	0
Témoins +	4/10	10/10	5/10	3/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	1	0
0	0	0	0
1	1	1	0
0	1	0	0
0	0	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
1	1	0	1
2/10	8/10	2/10	1/10

C1	0	1	0	1
C2	0	1	0	0
C3	1	1	0	0
C4	0	1	0	1
C5	0	1	0	0
C6	0	1	0	0
C7	0	1	0	1
C8	0	1	0	1
C9	1	1	1	0
C10	0	1	0	0
Cas +	2/10	10/10	1/10	4/10

0	1	0	0
0	1	0	1
1	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
1/10	10/10	0/10	1/10

Total + 6/20 20/20 6/20 7/20

3/20 18/20 2/20 2/20

SCEA Le Dily, 22350 – Plumaudan

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	0	0	0
T2	0	1	0	0
T3	0	1	1	1
T4	0	1	1	0
T5	0	1	1	0
T6	0	1	1	0
T7	0	1	1	0
T8	0	1	1	0
T9	0	1	1	1
T10	0	1	0	0
Témoins +	0/10	9/10	7/10	2/10

C1	0	1	0	0
C2	0	1	0	0
C3	0	1	1	1
C4	0	1	1	1
C5	0	1	1	0
C6	0	1	1	0
C7	0	1	1	0
C8	0	1	1	0

Cas + 0/8 8/8 6/8 2/8

Total + 0/18 17/18 13/18 4/18

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	1	1
0	1	1	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	0	0	1
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0/10	9/10	2/10	2/10

0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	1	1
0	1	0	1
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	1	1

0/8 8/8 2/8 3/8

0/18 17/18 4/18 5/18

EARL Vivier, 22120 – Quessoy

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	1	0	0
T2	0	0	0	0
T3	0	0	1	0
T4	0	0	0	0
T5	0	1	1	0
T6	0	0	1	1
T7	1	0	1	0
T8	0	1	0	0
T9	1	1	1	0
T10	0	1	0	0
Témoins +	2/10	5/10	5/10	1/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	1	0	0
0	0	0	0
0	0	1	1
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	1	1	1
0	1	0	0
0	0	0	0
0/10	3/10	2/10	2/10

C1	0	1	1	0
C2	0	1	1	0
C3	1	1	1	0
C4	0	1	1	1
C5	0	1	1	0
C6	0	0	1	0
C7	0	1	1	0
C8	0	0	1	0
C9	0	0	1	0
Cas +	1/9	6/9	9/9	1/9

0	1	1	1
0	1	1	0
0	1	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	1	0	0
1	1	1	0
0	0	1	0
0	0	0	0
1/9	5/9	4/9	1/9

Total + 3/19 11/19 14/19 2/19

1/19 8/19 6/19 3/19

ANNEXE 6

Résultats des analyses des élevages « témoins »

C : Animaux avec signes cliniques

T : Animaux sans signe clinique

Mhr : *Mycoplasma hyorhinis*

Mhp : *Mycoplasma hyopneumoniae*

Hps : *Haemophilus parasuis*

Ssuis : *Streptococcus suis*

EARL Van de Broeck, 36160 – Feusines

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	1	1	0
T2	0	0	1	1
T3	1	1	1	1
T4	0	1	1	0
T5	0	1	1	0
T6	0	1	1	0
T7	0	0	1	0
T8	0	1	1	0
T9	0	1	1	0
T10	1	1	1	0

Total +

2/10 8/10 10/10 2/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	1	1	0
0	0	0	0
0	1	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	1	0	1
0	0	1	0
0	1	0	0
0	0	0	0
0	1	0	0

0/10 5/10 2/10 1/10

SARL Gougeon, 50600 – Moulines

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	0	0	0
T2	0	0	0	1
T3	0	0	0	0
T4	0	0	0	0
T5	0	0	0	0
T6	0	0	0	1
T7	1	0	0	1
T8	0	0	0	1
T9	0	1	0	1
T10	0	0	0	1

Total +

1/10 1/10 0/10 6/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	0	0	1
0	0	0	0
0	0	0	1
0	0	0	1
0	0	0	0
0	0	0	1
0	0	0	0
0	0	0	1
0	0	0	1
0	0	0	1

0/10 0/10 0/10 7/10

EARL de la Pontais, 22100 – Taden

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	1	1	0
T2	0	1	0	0
T3	0	1	1	0
T4	1	1	0	0
T5	0	0	0	0
T6	0	0	0	0
T7	0	0	0	0
T8	0	0	0	0
T9	0	1	1	0
T10	1	0	1	0
Total +	2/10	5/10	4/10	0/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	1
0	1	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	1
0	0	0	0
0	1	0	0
0/10	5/10	0/10	2/10

SCEA de la Métairie Neuve, 35360 – La Chapelle du Lou

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	0	1	0
T2	0	0	1	0
T3	0	0	1	0
T4	0	1	1	0
T5	0	1	0	0
T6	0	1	1	1
T7	0	0	0	0
T8	0	1	1	0
T9	0	1	1	0
T10	0	0	0	0
Total +	0/10	5/10	7/10	1/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	1	0	0
0	0	1	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0/10	1/10	1/10	0/10

EARL Porcine de Trédion, 56250 –Trédion

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	0	1	0
T2	1	0	1	0
T3	0	0	0	0
T4	0	0	1	0
T5	0	0	1	1
T6	0	0	0	1
T7	0	0	1	0
T8	0	0	1	1
T9	0	0	1	0
T10	0	0	1	0
Total +	1/10	0/10	8/10	3/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	0	0	0
0	0	1	0
0	0	0	1
0	0	1	0
0	0	0	1
0	0	1	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	1	1
0	0	0	0
0/10	0/10	4/10	3/10

Toublanc André, 22550 - L'Hopital, Matignon

Ecouvillon trachéo-bronchique

Porc	Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
T1	0	0	0	0
T2	1	1	1	0
T3	0	1	1	0
T4	0	0	1	0
T5	0	0	1	1
T6	0	0	0	0
T7	0	0	1	0
T8	0	0	0	0
T9	0	0	1	0
T10	1	0	1	0
Total +	2/10	2/10	7/10	1/10

Lavage trachéo-bronchique

Mhr	Mhp	Hps	Ssuis
0	0	1	0
1	1	1	0
0	1	1	1
0	0	1	0
0	1	0	1
0	0	0	0
0	0	0	0
1	0	1	0
1	0	1	0
0	0	0	0
3/10	3/10	6/10	2/10

ANNEXE 7

Comparaison des méthodes de prélèvement

- lavage trachéo-bronchique VS écouvillon trachéo-bronchique -

*Comparaison des fréquences d'isolement **dans tous les élevages étudiés** à partir de lavages trachéo-bronchiques (LTB) et d'écouvillons trachéo-bronchiques (MT)*

Mhp	MT +	MT-	Total
LTB+	111	6	117
LTB-	34	66	100
Total	145	72	217

Mhr	MT +	MT-	Total
LTB+	9	9	18
LTB-	31	168	199
Total	40	177	217

Hps	MT +	MT-	Total
LTB+	28	11	39
LTB-	83	95	168
Total	111	106	217

S.suis	MT +	MT-	Total
LTB+	21	26	47
LTB-	46	124	170
Total	67	150	217

*Comparaison des fréquences d'isolement **dans les élevages témoins** à partir de lavages trachéo-bronchiques (LTB) et d'écouvillons trachéo-bronchiques (MT)*

Mhp	MT +	MT-	Total
LTB+	12	2	14
LTB-	9	37	46
Total	21	39	60

Mhr	MT +	MT-	Total
LTB+	1	2	3
LTB-	7	50	57
Total	8	52	60

Hps	MT +	MT-	Total
LTB+	8	5	13
LTB-	28	19	47
Total	36	24	60

S.suis	MT +	MT-	Total
LTB+	6	9	15
LTB-	7	38	45
Total	13	47	60

*Comparaison des fréquences d'isolement **dans les élevages cas** à partir de lavages trachéo-bronchiques (LTB) et d'écouvillons trachéo-bronchiques (MT)*

Mhp	MT +	MT-	Total
LTB+	99	4	103
LTB-	25	29	54
Total	124	33	157

Mhr	MT +	MT-	Total
LTB+	8	7	15
LTB-	24	118	142
Total	32	125	157

Hps	MT +	MT-	Total
LTB+	20	6	26
LTB-	55	76	131
Total	75	82	157

S.suis	MT +	MT-	Total
LTB+	15	17	32
LTB-	39	86	125
Total	54	103	157

Comparaison des fréquences d'isolement **dans les élevages cas** entre les animaux présentant des symptômes respiratoires ou non à partir de lavages trachéo-bronchiques (LTB) et d'écouvillons trachéo-bronchiques (MT)

• Animaux présentant des symptômes respiratoires

Mhp	MT +	MT-	Total
LTB+	51	1	52
LTB-	13	12	25
Total	64	13	77

Mhr	MT +	MT-	Total
LTB+	6	5	11
LTB-	13	53	66
Total	19	58	77

Hps	MT +	MT-	Total
LTB+	12	3	15
LTB-	28	34	62
Total	40	37	77

S.suis	MT +	MT-	Total
LTB+	9	8	17
LTB-	22	48	60
Total	31	46	77

• Animaux sans signes cliniques respiratoires :

Mhp	MT +	MT-	Total
LTB+	48	3	51
LTB-	11	18	29
Total	59	21	80

Mhr	MT +	MT-	Total
LTB+	2	2	4
LTB-	11	65	76
Total	13	67	80

Hps	MT +	MT-	Total
LTB+	8	3	11
LTB-	27	42	69
Total	35	45	80

Ssuis	MT +	MT-	Total
LTB+	6	9	15
LTB-	17	48	65
Total	23	57	80

ANNEXE 8

Résumé proposé par Agnès Waret-Szkuta (ENVT) d'une future présentation orale à la conférence ESPHM en mai 2014, en Italie :

Evaluation of the performances of two sampling methods for qPCR detection of mycoplasmas in live pigs using a Bayesian approach

Waret-Szkuta A, Marois C, Corbière F, Fagot M, Scimia G, Martineau GP, Paul MC.

Mycoplasma hyopneumoniae and *Mycoplasma hyorhinis* are involved in the pathogenesis of Porcine Respiratory Complex, which is common in modern pork production and considered one of the main challenge for the swine industry. In order to monitor the contamination by both of those pathogens in live pigs, quantitative PCR tests have been developed. Various sampling sites can be used to detect *Mycoplasma* on live pigs. In order to design suitably timed management strategies, the performances of PCR techniques need to be quantitatively evaluated under field conditions and for various sampling sites. In this study, two hundred and seventeen finishing pigs were randomly selected from one batch of pigs in 14 herds purposively selected. Each pig was submitted to tracheo-bronchial swabbing and tracheo-bronchial washing. All samples were analyzed using quantitative PCR assays. A Bayesian analysis framework was applied to estimate the sensitivity and specificity of two conditionally dependant tests in a single population and without a gold standard. The cross classified results of the two sampling methods for *M. hyopneumoniae* were as followed: 117 (53.9%) of the 217 pigs sampled were found positive by trachea-bronchial washing, 145 (66.8%) tested positive by trachea-bronchial swabbing and 111 (51.2%) were positive by the two sampling methods. For *M. hyorhinis*, 18 pigs (8.3%) were positive by tracheo-bronchial washing and 40 (18.4%) by tracheo-bronchial swabbing. Nine pigs (4.1%) were found positive by the two sampling techniques. For *M. hyopneumoniae*, the latent class model gave a mean Se of 69.8% and a mean Sp of 88.3% for tracheo-bronchial washing with a 95% credibility interval of posterior distribution (95% CrI) ranging from 54.3% to 85%, and 74% to 97.4% respectively. The tracheo-bronchial swabbing was found more sensitive with a mean of 84.9% (95% CrI: 68%-97.7%) but less specific with a mean of 84% (95% CrI: 65.1%-96.7%). In the case of *M. hyorhinis*, both sampling methods appeared less sensitive but more specific with for trachea-bronchial washing a mean Se of 60.9% (95% CrI: 29.4%-88.7%) and a mean Sp of 94% (95% CrI: 89.3%-98.2%), and for trachea-bronchial swabbing a mean Se of 69.6% (95% CrI: 35.5%-95.2%) and a mean Sp of 84.8% (95% CrI: 78.3%-92.8%). Again tracheo-bronchial swabbing was found more sensitive but less specific than trachea-bronchial washing. Results for *M. hyopneumoniae* were similar to those found in previous work. Our study also indicates that tracheo-bronchial swabbing associated with PCR appears to be an accurate diagnostic tool for assessing *M. hyopneumoniae* but also *M. hyorhinis* infection dynamics in pig herds.

REFERENCES

- [1] **ALNO JP. (1996).** Suivi des problèmes respiratoires chez les reproducteurs – Stratégies de contrôle et de maîtrise. *AFMVP ; Actualités sur les maladies respiratoires du porc. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort ; p89-113*
- [2] **AUBRY A., FABLET C., CORREGE I., MADEC F. (2010).** Incidence technico-économique des maladies pulmonaires. *Journées Recherche Porcine, 53-58.*
- [3] **BAGCIGIL AF., IKIZ S., OZGUR NY. (2009).** Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in pigs in Turkey. *Turk. Journal of Veterinary Animal Science ; 33(1) :61-65.*
- [4] **BARDEN JA., DECKER JL., DALGARD DW., APTEKAR R. (1973).** *Mycoplasma hyorhinis* Swine arthritis III. Modified disease in Piney Woods swine. *Infection and Immunity, dec 1973, p. 887-890, vol.8 No.6*
- [5] **BARDEN JA., PRESCOTT B. (1973).** Chemical and serological properties of *Mycoplasma hyorhinis* fractions. *Infection and Immunity, June 1973, P.937-940, vol.7, n°6.*
- [6] **BAUMEISTER AK., RUNGE M., GANTHER M., FEENSTRA A., DELBECK F., KIRCHHOFF H. (1998).** Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in bronchoalveolar lavage fluids of pigs by PCR. *Journal of Clinical Microbiology, July 1998, p.1984-1988.*
- [7] **BASKERVILLE A. (1981).** Mechanisms of infection in the respiratory tract. *NZ Vet J 29 :235-238*
- [8] **BINDER A, VAN HEES C., LIKITDECHAROTE B. & KIRCHHOFF H. (1989).** Fluorescence serological and culture detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* in swine lungs. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 102(1) :11-13.*
- [9] **BOUWKAMP FT., GEUDEKE MJ., DE JONG MF., VAN DE VEN SCG. (2006).** Comparison of fattening farms with and without respiratory problems and poor technical results ; a case control study. *Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, 2006 – Volume 1.*
- [10] **BOUYER J., HEMON D., CORDIER S., DERRIENNIC F., STÜCKER I., STENGEL B., CLAVEL J. (2000).** Epidémiologie – Principes et méthodes quantitatives. *Les éditions INSERM.*
- [11] **CAI HJ., VAN DREUMEL T., MCEWEN B., HORNBY G., BELL-ROGERS P., MCRAILD P., JOSEPHSON G., MAXIE G. (2007).** Application and field validation of a PCR assay for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* from swine lung tissue samples. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation ; 19 :91-95*
- [12] **CALCUTT MJ., FOECKING MF., ROSALES RS., ELLIS RJ., NICHOLAS RAJ. (2012).** Genome sequence of *Mycoplasma hyorhinis* strain GDL-1. *Journal of bacteriology. 0021-9193/12, p .1848*
- [13] **CARON J., OUARDANI M., DEA S. (2000).** Diagnosis and differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* infections in pigs by PCR amplification of the P36 and p46 genes. *Journal of clinical microbiology, Apr.2000, p.1390-1396.*

- [14] **CARUSO JP., ROSS RF. (1990).** Effects of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *pleuropneumoniae* infections on alveolar macrophage functions in swine. *American Journal of Veterinary Research* 51 :227-231.
- [15] **CHO JG., DEE SA., DEEN J., TRINCADO C., FANO E., JIANG Y., FAABERG K., MURTAUGH MP., GUEDES A., COLLINS JE., JOO HS. (2006).** The impact of animal age, bacterial co-infection, and isolate pathogenicity on the shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols from experimentally infected pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 58 :25-30.
- [16] **CHOSSON C., GRANIER R. (1983).** Les besoins bioclimatiques des porcs. *Inst. Tech. du Porc, Toulouse.*
- [17] **CIPRIÀN A., PIJOAN C., CRUZ T., CAMACHO J., TÒRTORA J., COLMENARES G., LOPEZ-REVILLA R., DE LA GARZA M. (1988).** *Mycoplasma hyopneumoniae* increases the susceptibility of pigs to experimental *Pasteurella multocida* pneumonia. *Canadian Journal of Veterinary Research* 52 :434-438.
- [18] **CITTI C., KIM MF., WISE KS. (1997).** Elongated versions of Vlp Surface lipoproteins protect *Mycoplasma hyorhinis* escape variants from growth-inhibiting host antibodies. *Infection and Immunity*, May 1997, p.1773-1785.
- [19] **CITTI C., NOUVEL LX., BARANOWSKI E. (2010).** Phase and antigenic variation in *Mycoplasmas*. *Future Microbiology*, vol.5, n°7, p.1073-1085. ISSN 1746-0913.
- [20] **CLAVIJO MJ., BRUNER L., OLSON S., ROSEY EL., PEARCE D., ROVIRA A. (2012).** Dynamics of infection of *Mycoplasma hyorhinis* in two commercial swine herds. *Allen D.Leman Conference.*
- [21] **CLAVIJO MJ., BRUNER L., OLSON S., ROSEY EL., ROVIRA A. (2012).** Epidemiology of *Mycoplasma hyorhinis* on farms with history of polysérositis. *Bacteriology & bacterial diseases – Mycoplasma hyopneumoniae, Oral Sessions.*
- [22] **CLAVIJO MJ., MURRAY D., OLIVEIRA S., ROVIRA A. (2012).** Estimation of the prevalence of *Mycoplasma hyorhinis* in clinically affected swine herds. *IPVS 2012 Korea. 22nd International pig veterinary congress.*
- [23] **CLAVIJO MJ., OLIVEIRA S. (2010).** Tracking *Mycoplasma hyorhinis* prevalence in the farrowing house and nursery using a newly developed real-time PCR. *Allen D.Leman Swine Conference.*
- [24] **CLAVIJO MJ., OLIVEIRA S.** Development of a quantitative PCR assay for the detection of *Mycoplasma hyorhinis* in clinical samples.
- [25] **CLAVIJO MJ., OLIVEIRA S., ROVIRA A. (2012).** Development of a quantitative PCR assay for the detection of *Mycoplasma hyorhinis*. *Bacteriology and bacterial diseases – Mycoplasma hyopneumonia, Oral Sessions.*
- [26] **CLAVIJO MJ., ROVIRA A., OLIVEIRA S. (2011).** *Mycoplasma hyorhinis* : epidemiology of infection in endemically infected farms. *AASV : Evidence-based practice : how do we get there ?*

- [27] **COPELAND SP., BATTRELL MA., PITTMAN JS., ROBBINS R. (2013).** Exploring the prevalence of *M.hyorhinae*, *M.hyosynoviae*, and *M.hyopneumoniae*, across various age groups using various sampling techniques. *AASV Animal Meeting : Purpose-Inspired Practice*.
- [28] **CORREGE I. (2007).** Recours aux examens complémentaires : règles pratiques d'échantillonnage. *Techniporc, vol.30, n°3 - 2007, 37-43*
- [29] **COSTES P. (1983).** Les maladies respiratoires porcines dans le sud-ouest. *Bulletin des GTV, 1983, 83-1-P-43, Intervention au cours des journées nationales des GTV le 12 mai 1982, 91-98.*
- [30] **CURTIS SE., ANDERSON CR., SIMON J., JENSEN AH., DAY D., KELLEY KW. (1975).** Effect of aereal ammonia, hydrogen sulfide and swine-house dust on rate of gain and respiratory tract structure in swine. *J Anim Sci 41 :735-739*
- [31] **CURTIS SE., SIMON J., KINGDON DA., DRUMMOND JG. (1976).** Effect of cold stress and age on pulmonary bacterial clearance in young pigs. *AM. J. Vet. Rest., 37, 229-301.*
- [32] **CZERNICHOW P., CHAPERON J., LE COUTOUR X. (2013).** Epidémiologie. *Abrégés connaissances et pratique ; Elsevier / Masson.*
- [33] **DAVID J. (1983).** Les maladies respiratoires du porc en Provence. *Bulletin des GTV, 1983, 83-1-P-44, 99-101.*
- [34] **DERRIEN H. (1981).** Influence des conditions d'habitat sur la pathologie respiratoire chez le porc à l'engrais. *Mémoire de fin d'étude, 1981, ENSA, Nancy*
- [35] **DONE SH. (1988).** Some aspects of respiratory defence with special reference to immunity. *Proc Int Pig Vet Soc, Rio de Janeiro, pp. 31-60*
- [36] **DUNCAN JR., ROSS F.** Fine structure of the synovial membrane in *Mycoplasma hyorhinae* arthritis of swine.
- [37] **FABLET C. (2010).** Estimation of the sensitivity of four sampling methods for *Mycoplasma hyopneumoniae* detection in live pigs using a Bayesian approach. *Veterinary Microbiology, 2010 ; 143(2-4) :238-245.*
- [38] **FABLET C., MAROIS-CREHAN C., SIMON G., GRASLAND B., JESTIN M., KOBISCH M., MADEC F., ROSE N. (2011).** Infectious agents associated with respiratory diseases in 125 farrow-to-finish pig herds : A cross-sectional study. *Veterinary Microbiology 157 (2012) 152-163.*
- [39] **FAGET L. (2005).** Etude de la cinétique d'infection en élevage porcin par *Mycoplasma hyopneumoniae* – Approche transversale et longitudinale – Conséquences sur le choix du moment optimal de la vaccination. *Thèse de Doctorat Vétérinaire, Toulouse, 2005.*
- [40] **FERNSTEN PD., PEKNY KW., HARPER JR., WALKER LE. (1987).** Antigenic mimicry of a human cellular polypeptide by *Mycoplasma hyorhinae*. *Infection and Immunity, July 1987 ; p.1680-1685.*
- [41] **FLESJA KI., FORUS IB., SOLBERG I. (1982).** Pathological lesions in swine at slaughter in relation to some environmental factors in the herds. *Acta Vet. Scand. 1982, 23, 169-183*

- [42] **FOURCHON P. (1985).** Troubles respiratoires du porc charcutier et conditions d'élevage : du diagnostic aux conseils chez 12 producteurs du sud-ouest. *Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.*
- [43] **FREEMAN MJ., ARMSTRONG CH., SANDS-FREEMAN LL., LOPEZ-OSUNA M. (1984).** Serological cross-reactivity of porcine reference antisera to *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M.flocculare*, *M.hyorhinis* and *M.hyosynoviae* indicated by the enzyme-linked immunosorbent assay, Complement fixation and Indirect hemagglutination tests. *Can J. Comp Med.* ; 48 :202-207.
- [44] **FRIIS ET AL. (1994).** *M.hyorhinis* in the etiology of serositis among piglets. *Acta Veterinaria Scandinavia.*
- [45] **GESTIN G. (1996).** Intérêt et limites des profils sérologiques en engraissement. *AFMVP ; Actualités sur les maladies respiratoires du porc. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort ; p115-123*
- [46] **GOIS M., KUKSA F. (1974).** Intranasal infection of gnotobiotic piglets with *Mycoplasma hyorhinis* : differences in virulence of the strains and influence of age on the development of infection. *Zentralbl Veterinarmed B. 21(5) :352-361*
- [47] **GOIS M., KUKSA F., FRANZ J., TAYLOR-ROBINSON D. (1973).** The antigenic differentiation of seven strains of *Mycoplasma hyorhinis* by growth-inhibition, metabolism-inhibition, latex-agglutination, and polyacrylamide-gel-electrophoresis tests. *J.Med.Microbiol. – Vol.7 (1974), 105-112*
- [48] **GOIS M., VALICEK L. & SOVADINA M. (1968).** *Mycoplasma hyorhinis*, a causative agent of pig pneumonia. I. *Zentralbl Veterinarmed B. 15(2) : 230-240.*
- [49] **GREST P., KELLER H., SYDLER T., POSPISCHIL A. (1997).** The prevalence of lung lesions in pigs at slaughter in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd., 1997, 139, 500-506.*
- [50] **HALBUR PG (1998).** Porcine viral respiratory diseases. *Proceedings of the 14th International Pig Veterinary Society, Birmingham, UK, 8-12 July, 1-10.*
- [51] **HAMPL J., GOIS M. (1996).** *Radioimmunological Demonstration of Antibodies in Gnotobiotic Piglets Infected with Mycoplasma hyorhinis*
- [52] **HANSEN MS., PORS SE., JENSEN HE., BILLE-HANSEN V., BISGAARD M., FLACHS EM., NIELSEN OL. (2010).** An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *J.comp.Path.2010, vol.143, 120-131.*
- [53] **HENDRICKX W. (1996).** Abord pratique de la pathologie respiratoire. *AFMVP ; Actualités sur les maladies respiratoires du porc. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort ; p125-130*
- [54] **JAYAGOPALA REDDY NR., WILKIE B., BORGS P., MALLARD B. (2000).** Cytokines in *Mycoplasma hyorhinis*-induced arthritis in pigs bred selectively for high and low immune responses. *Infection and immunity, March 2000, p.1150-1155.*
- [55] **KAWASHIMA K., YAMADA S., KOBAYASHI H., NARITA M. (1996).** Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyorhinis* antigens in pulmonary lesions of pigs suffering from respiratory distress. *J.comp.Path.1996. Vol 114,*

315-323.

- [56] **KELLEY KW. (1980).** Stress and immune function : A bibliographic review. *Ann Vet Res* 11 :445-478.
- [57] **KIM B., LEE K, HAN K., KIM D., HA Y., KIM CH., OH Y., KANG I., LEE J., CHAE C. (2010).** Development of in situ hybridization for the detection of *Mycoplasma hyorhinis* in formalin-fixed paraffin-embedded tissues from naturally infected pigs with polyserositis. *J.Vet.Med.Sci.* 72(9) : 1225-1227, 2010.
- [58] **KIM HK., MOON HJ., PARK SJ., RHO SM., HAN JY., NGUYEN VG., PARK BK. (2011).** Identification of two cytopathogenic agents, *Mycoplasma hyorhinis* and mammalian orthoreovirus 3 based on modified particle associated nucleic acids PCR. *Korean J Vet Res.* 51(2) :129-137.
- [59] **KINNE J., JOHANNSEN U., NEUMANN R., MEHLHORN G., PFUTZNER H. (1991).** The pathology and pathogenesis of experimental *Mycoplasma hyorhinis* infection of piglets with and without thermomotoric stress. 1. Pathologico-anatomic, histologic and immunomorphologic study results. *Zentralbl Veterinarmed A.* 38(4) : 306-320
- [60] **KOBAYASHI H. ET AL. (1996).** *Mycoplasma hyorhinis* infection levels in lungs of piglets with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Journal of Veterinay Medical Science.* 58(2):109-113.
- [61] **KOBAYASHI H., MOROZUMI T., MUNTHALLI G., MITANI K., ITO N., YAMAMOTO K. (1995).** Macrolide susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis* isolated from piglets. *Antimicrobial agents and chemotherapy, Apr.1996, p.1030-1032.*
- [62] **KOBAYASHI H., NAKAJIMA H., SHMIZU Y., EGUCHI M., YAMAMOTO K. (2005).** Macrolides and lincomycin susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis* and variable mutation of domain II and V in 23S ribosomal RNA. *J.Vet.Med.Sci.* 67(8) :795-800
- [63] **KOBISCH M. (1983).** Pathogenicity of *M.hyorhinis*. *Yale J.Biol Med.* 56(5) :922-923.
- [64] **KOBISCH M., BLANCHARD B., MORVAN H., LAGADIC M. (1990).** Pathologie pulmonaire respiratoire du porc : lésions expérimentalement induites par *Mycoplasma hyopneumoniae* et *Pasteurella multocida*. *Journées rech. Porcine en France,* 22, 291-296.
- [65] **KOBISCH M., FRIIS NF. (1996).** Swine Mycoplasmoses. *Revue scientifique Officielle internationale Epiz.,* 15 (4), 1569-1605
- [66] **KRUIJF JM., WELLING A. (1988).** Occurrence of chronic inflammatory conditions in gilts and castrated male pigs. *Tijdschr Diegeneesk* 113 :415-417.
- [67] **KURTH KT., HSU T., SNOOK ER., THACKER EL., THACKER BJ., MINION F. (2002).** Use of a *Mycoplasma hyopneumoniae* nested polymerase chain reaction test to determine the optimal sampling sites in swine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation,* 14 :463-469
- [68] **L'ECUYER C., BOULANGER P. (1970).** Enzootic pneumonia of pigs : identification of a causative *Mycoplasma* in infected pigs and in cultures by immunofluorescent staining. *Can J.comp.med,* vol.34, January 1970, 38-46

- [69] **LE COZ D. (1996).** Pathologie respiratoire et impact technico-économique : estimation pratique. *AFMVP; Actualités sur les maladies respiratoires du porc. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort* ; p67-88
- [70] **LEE, J. ET AL. (2010).** *Mycoplasma hyorhinis* vaccine prevents *Mycoplasma* lesions and disease. *Proceedings 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, p.199.*
- [71] **LEMAN AD., STRAW BE., MENGELING WL., D'ALLAIRE S., TAYLOR DJ. (1992).** *Diseases of swine, seventh edition.*
- [72] **LENEVEU P., ROBERT N., KEITA A., PAGOT E., POMMIER P., TESSIER P. (2005).** Lung lesions in pigs at slaughter : a 2-year epidemiological study in France. *Inter J Appl Res Vet Med, Vol.3, N°3, 2005*
- [73] **LEUWERKE B. (2009).** *Mycoplasma hyorhinis* – Field experiences in diagnosis and control. *Allen D.Leman Conference.*
- [74] **LIN JH., CHEN SP., YEH KS., WENG CN. (2006).** *Mycoplasma hyorhinis* in Taiwan : diagnosis and isolation of swine pneumonia pathogen. *Vet. Microbiology 115(1-3) :111-116*
- [75] **LINQUIST JO. (1974).** A study of disease incidence in relation to certain environmental factor. *Acta Vet. Scand. Suppl. 51*
- [76] **LOBO E., ESPINOSA I., LOZADA Y., BURGHER Y., MARTINEZ S. (2011).** Detection of pathogens in pigs with pneumonia in different regions of Cuba. *Biotechnologica aplicada ;28 :161-163.*
- [77] **LOBO E., POVEDA C., SUAREZ A., HERNANDEZ Y., RAMIREZ A., POVEDA JB. (2011).** *Mycoplasma hyorhinis* in different regions of Cuba. Diagnosis. *Brazilian Journal of Microbiology. 42 : 721-725*
- [78] **MADEC F., FOURICHON C., MORVAN P., LABBE A. (1992).** Economie et santé en production porcine. *INRA Prod. AniM. 1992, 5 (2), 149-161.*
- [79] **MADEC F., KOBISCH M. (1982).** Bilan lésionnel des poumons des porcs charcutiers à l'abattoir. *Journées de recherche porcine en France, 1982, 14, 405-412.*
- [80] **MADEC F., KOBISCH M. (1984).** Etat sanitaire du porcelet et évolution des lésions au niveau de l'arbre respiratoire au cours des différentes phases d'élevage. *Journées recherche porcine en France, 16, 215-226.*
- [81] **MAGNUSSON U., WILKIE B., MALLARD B., ROSENDAL S., KENNEDY B. (1998).** *Mycoplasma hyorhinis* infection of pigs selectively bred for high and low immune response. *Veterinary Immunology and Immunopathology. 61(1) :83-96.*
- [82] **MAKHANON M., TUMMARUK M., THONGKAMKON P., THANAWONGNUWECH P., PRAPASARAKUL R. (2012).** Comparison of detection procedures of *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M.hyosynoviae*, and *M.hyorhinis* in lungs, tonsils, and synovial fluid of slaughtered pigs and their distribution in Thailand. *Trop. AniM. Health Prod. 44 :313-318.*
- [83] **MAROIS C., GOTTSCHALK M., MORVAN H., FABLET C., MADEC F., KOBISCH M. (2009).** Experimental infection of SPF pigs with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 alone

- or in association with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Microbiology* 135 :283-291.
- [84] **MARTINEAU GP., KOBISCH M., NICOLET J., GLATTLEIDER DL., DOUCET R. (1990).** *Pathologie respiratoire du porc – Affections bactériennes et mycoplasmiques.*
- [85] **MARTINEAU GP., MORVAN H. (2010).** *Maladies d'élevage des porcs, 2^{ème} édition. Guides France Agricole, p.245-247.*
- [86] **MEHLHORN G., HOY S. (1985).** Influence of endogenic and exogenic factors on the prevalence rate of lung lesions of fattening pigs and sows. *Proc 5th Int Congr Anim Hyg, September 1985, Hannover, pp. 391-396.*
- [87] **MEYLING A. (1971).** *Mycoplasma suis pneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* demonstrated in pneumonic pig lungs by the fluorescent antibody technique. *Acta Veterinaria Scandinavia. 12(1) :137-141.*
- [88] **MOORKAMP L., NATHUES H., SPERGSER J., TEGELER R., BEILAGE EG. (2008).** Detection of respiratory pathogens in porcine lung tissue and lavage fluid. *The Veterinary Journal ; 175 ; 273-275*
- [89] **MORITA T., FUKUDA H., AWAKURA T., SHIMADA A., UMEMURA T., KAZAMA S., YAGIHASHI T. (1995).** Demonstration of *Mycoplasma hyorhinis* as a possible primary pathogen for porcine otitis media. *Veterinary pathology 1995 32: 107*
- [90] **MORNET P., TOURNUT J., TOMA B. ET AL. (1982).** Le porc et ses maladies. *Malone S.A. Editeur.*
- [91] **MÜHLRADT PF., KIESS M., MEYER H., SÜSSMUTH R., JUNG G. (1998).** Structure and specific activity of macrophage-stimulating lipopeptides from *Mycoplasma hyorhinis*. *Infect Immun. October ; 66(10) : 4804-4810*
- [92] **MURRAY D. (2012).** *Mycoplasma hyorhinis* ; not just an incidental finding. *AASV Animal Meeting : Integrating Science, Welfare and Economics in Practice.*
- [93] **NEUMANN R., LEONHARDT W., BALLIN A., MEHLHORN G., DIECKE S. (1985).** Die Methode der intravitales Lungenspülen beim Schwein – Gewinnung und Differenzierung von Alveolarzellen. *Arch Exp Vet Med 39 :525-534.*
- [94] **OHGAMI M., DOERSHUK CM., ENGLISH D., DODEK, PM, HOGG JC. (1989).** Kinetics of radiolabeled neutrophils in swine. *J Appl Physiol 66 :1881-1885.*
- [95] **OPRIESSNIG T., GIMENEZ-LIROLA LG., HALBUR PG., (2011).** Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Animal Health Research Reviews 12(2) ; 133-148*
- [96] **OPRIESSNIG T., MADSON DM., SCHALK S., BROCKMEIER S., SHEN HG., BEACH NM., MENG XJ., BAKER RB., ZANELLA EL., HALBUR PG. (2011).** Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination is effective in reducing disease and PCV2 shedding in semen on boars concurrently infected with PCV2 and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Theriogenology 76 :351-360.*
- [97] **OTAGIRI Y., ASAI T., OKADA M., UTO T., YAZAWA S., HIRAI H., SHIBATA I., SATO S. (2005).** Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in lung and nasal swab samples from

- pigs by nested PCR and culture methods. *J.Vet.Med.Sci.* 67(8) : 801-805, 2005.
- [98] **PAGOT E., POMMIER P., KEITA A. (2007).** Relationship between growth during the fattening and lung lesions at slaughter in swine. *Revue Méd. Vét.*, 2007, 158, 5, 253-259
- [99] **PALZER A., RITZMANN M., WOLF G., HEINRITZI K. (2008).** Associations between pathogens in healthy pigs and pigs with pneumonia. *Veterinary Record.* 162(9) :267-271.
- [100] **PAVAUX Cl. (1987).** Splanchnologie des animaux domestiques. *Fascicule 1 – Appareil digestif – Appareil respiratoire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.* 201-301.
- [101] **PEPIN B., GOMES-NETO Jc., WOLFF T., BOWER LP., RAYMOND MD., STRAIT E. (2012).** Diagnosis of *Mycoplasma hyorhinis* and *Mycoplasma hyosynoviae* in pre-slaughter animals by serology and real-time PCR. *AASV Animal Meeting : Integrating Science, Welfare, and Economics in Practice.*
- [102] **PEREDELTCOUK M., WILSON DAVID SA., BHATTACHARYA B., VOLOKOV DV., CHIZHIKOV V. (2010).** Detection of *Mycoplasma* contamination in cell substrates using reverse transcription PCR assays. *Journal of applied Microbiology* 110, 54-60.
- [103] **POINTON AM., MCCLOUD P., HEAP P. (1985).** Enzootic pneumonia of pigs in South Australia – factors relating to incidence of disease. *Austr Vet J* 62 :98-101.
- [104] **POLAND J., EDINGTON N., GOIS M., BETTS AO. (1971).** The production of pneumonia with or without pleurisy in gnotobiotic piglets with pure cultures of strain TR32 of *Mycoplasma hyorhinis*. *J.Hyg.Camb*, 69, 145-156
- [105] **POMMIER P., KEITA A., PAGOT E. (2007).** Le lavage trachéobronchique chez le porc. *Bulletin des GTV n°41*, 105-108.
- [106] **POMMIER P., KEITA A., PAGOT E., BONNIER M., MARTINEAU GP., ETORE F. (2006).** Etio-physiopathogénie des maladies respiratoires porcine : Isolements bactériens à partir de lavages trachéo-bronchiques effectués par voie transnasale. *Revue Méd. Vét.*, 2006, 157, 3, 153-157
- [107] **POTGIETER LND., FREY ML., ROSS RF. (1972).** Chronological Development of *Mycoplasma hyorhinis* and *Mycoplasma hyosynoviae* infections in cultures of a swine synovial cell strain. *Can.J.Comp.Med*, vol.36.
- [108] **ROBERTS ED., SWITZER WP., RAMSEY FK. (1963).** Pathology of the visceral organs of swine inoculated with *Mycoplasma hyorhinis*. *American Journal of Veterinary Research.* 24 :9-18.
- [109] **ROVIRA A. (2009).** Review of *Mycoplasma hyorhinis*. *Allen D.Leman Conference.*
- [110] **ROVIRA A., CLAVIJO MJ. (2013).** *Mycoplasma hyorhinis* : What we learning. *AASV Animal Meeting : Purpose-Inspired practice.*
- [111] **ROVIRA A., CLAVIJO MJ., OLIVEIRA S. (2010).** *Mycoplasma hyorhinis* infection of pigs. *Acta Scientiae Veterinariae.* 38 (Supl 1) : s9-s15

- [112] **SALMON H. (1996)**. Le système immunitaire pulmonaire du porc. *AFMVP ; Actualités sur les maladies respiratoires du porc. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort ; p5-9*
- [113] **SCHEIBER T., THACKER B. (2012)**. *Mycoplasma hyosynoviae, Mycoplasma hyorhinis and Mycoplasma suis* overview : Disease basics, clinical presentations, diagnostics, treatments and prevention / control strategies. *Allen D. Leman Swine Conference*.
- [114] **SCHULMAN A., ESTOLA T., GARRY-ANDERSSON AS. (1970)**. On the occurrence of *Mycoplasma hyorhinis* in the respiratory organs of pigs, with special reference to enzootic pneumonia. *Zentralbl Veterinarmed B. 17(5) :549-553*.
- [115] **SISSON, SEPTIMUS (1953)**. The anatomy of the domestic animals. 4th edition. *W.B. Sanders Co, Philadelphia, Vol.2, 1295*
- [116] **SMITH WJ., TAYLOR DJ., PENNY RHC. (1990)**. A colour atlas of diseases and disorders of the pig. *Wolfe Published Limited*.
- [117] **SPONK E., MURRAY D., SPONHEIM A., MICHELS T., CLAVIJO MJ., ROVIRA A. (2013)**. A serial study to determine piglet vaccination age based on maternal antibody decay, time of infection and potential aerosolization of *Mycoplasma hyorhinis*. *AASV Animal Meeting : Purpose-Inspired Practice*.
- [118] **STAKENBORG T., VICCA J., BUTAYE P., IMBERECHTS H., PEETERS J., DE KRUIF A., HAESEBROUCK F., MAES D. (2006)**. A multiplex PCR to identify porcine *Mycoplasmas* present in broth cultures. *Veterinary research communications, 30(2006) 239-247*.
- [119] **STEMKE GW., LAIGRET F., GRAU O., BOVE JM. (1992)**. Phylogenetic relationships of three porcine *Mycoplasmas*, *M.hyoepneumoniae*, *M.flocculare* and *M.hyorhinis*, and complete 16S rRNA sequence of *M.flocculare*. *International Journal of Systemic Bacteriology, Apr.1992, p.220-225*.
- [120] **STERNKE & AL. (1994)**. Differentiation of *M.hyoepneumoniae*, *M.flocculare* and *M.hyorhinis* on the basis of amplification of a 16S rARN gene sequence. *AM. J. Vet.*
- [121] **STRUTZBERG-MINDER K., PALZER A., RITZMANN M., HEINRITZI K.** Direct and indirect detection of *Haemophilus parasuis* and *Mycoplasma hyorhinis* and association with serositis in swine.
- [122] **SURPRENANT C., DROLET R., GOTTSCHALK M., DAIGNEAULT J (2012)**. More investigation on the role of *Mycoplasma hyorhinis* and other bacteria in repeated outbreaks of respiratory signs in nursery pigs. *IPVS 2012 Korea. 22nd International pig veterinary congress*.
- [123] **SURPRENANT C., GOTTSCHALK M. (2011)**. A treatment protocol designed to control *Mycoplasma hyorhinis* infection in a commercial herd points to a potential association with *Streptococcus suis*. *AASV Animal Meeting : Evidence-based practice : how do we get there ?*
- [124] **THACKER EL., THACKER BJ., JANKE BH. (2001)**. Interaction between *Mycoplasma hyopneumoniae* and swine Influenza virus. *Journal of Clinical Microbiology. 39 :2525-2530*.
- [125] **THACKER EL., HALBUR PG., ROSS RF., THANAWONGNUWECH R., THACKER BJ. (1999)**. *Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology. 37 :620-*

- [126] **THOMGKAMKOOK P., NARONGSAK W., MAKHANON M. (2005).** In vitro susceptibility test of *Mycoplasma hyorhinis* to antimicrobial agents. *Proceedings of the 2nd Asian pig veterinary society congress. September 19-21, 2005 EDSA Shangri-La, Pasig City, Philippines.*
- [127] **THRUSFIELD MICHAEL (2007).** Veterinary epidemiology, Third edition. *Wiley-Blackwell Publishing.*
- [128] **TILLON JP. (1980).** Epidémiologie des maladies du porc liées à l'élevage intensif – Synthèse des travaux réalisés depuis 1977 à partir de la Station de Pathologie Porcine de Ploufragan. *Journées rech. Porcine en France, 1980, 361-380*
- [129] **TILLON JP. (1983).** Quelques aspects de l'épidémiologie des affections respiratoires du porc. *Bulletin des GTV, 1983, 83-1-P-41, 67-77*
- [130] **TILLON JP., MADEC F. (1985).** Quelques indicateurs pathologiques à prendre en considération dans l'évaluation du bâtiment en élevage porcin. *Journées rech. Porcine en France, 17, 251-264*
- [131] **TIMENETSKY J., SANTOS LM., BUZHINANI M., METTIFOGO E. (2006).** Detection of multiple *Mycoplasma* infection in cell cultures by PCR. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 39 : 907-914*
- [132] **VANGROENWEGHE F. (2013).** Tracheo Bronchial Swab Training. *Présentation PowerPoint ELANCO.*
- [133] **VANGROENWEGHE F., MAES D., PIERPERS S., LABARQUE G. (2013).** *Mycoplasma hyopneumoniae* prevalence in Belgian and Dutch pig herds using a tracheo-bronchial swab technique and eventual seasonal effects. *AASV Annual Meeting. Poster session, P060 ; P061 ; 130*
- [134] **VANNIER P., KOBISCH M., TILLON JP. (1983).** Les contaminants associés à la pathologie respiratoire dans l'espèce porcine. *Bulletin des GTV, 1983, 83-1-P-42, 79-90*
- [135] **WEDEL K., MURRAY D., HOOVER T. (2013).** Investigation of *Mycoplasma hyorhinis* in the reproductive tract of mature gilts and boars. *AASV Animal Meeting : Purpose-Induced Practice.*
- [136] **WU CC., SHRYOCK TR., LIN TL., FADERAN M., FLECK VEENHUIZEN M. (2000).** Antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis*. *Veterinary microbiology 76 (2000) 25-30*
- [137] **YOGEV D., WATSON-MCKOWN R., ROSENGARTEN R., IM J., WISE KS. (1995).** Increased structural and combinatorial diversity in an extended family of genes encoding Vlp surface proteins of *Mycoplasma hyorhinis*. *Journal of bacteriology, Oct. 1995 ; p.5636-5643.*
- [138] **ZINÖCKER S., WANG MY., GAUSTAD P., KVALHEIM G., ROLSTAD B., VAAGER JT. (2011).** *Mycoplasma* Contamination Revisited : Mesenchymal Stromal cells harboring *Mycoplasma hyorhinis* potently inhibit lymphocyte proliferation in vitro.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

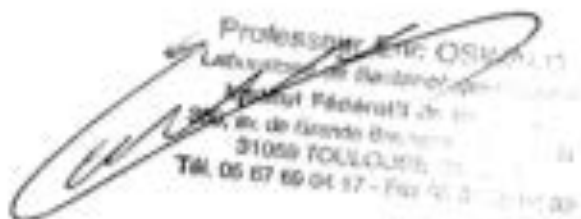
Je soussigné, *GP MARTINEAU*, Enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de *FAGOT Mathieu* intitulée « *Importance de Mycoplasma hyorhinis dans les co-infections bactériennes respiratoires profondes du porc à l'engrais : étude comparative préliminaire dans des élevages avec et sans maladies respiratoires cliniques.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 9 décembre 2013
Professeur Guy-Pierre MARTINEAU
Enseignant chercheur
de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

GP MARTINEAU



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Eric OSWALD



Professeur Eric OSWALD
Laboratoire de Bactériologie
UMR 1087 Santé des Élevés
31059 TOULOUSE
Tél. 05 67 60 04 57 - Fax 05 67 60 11 00

M. FAGOT Mathieu
a été admis(e) sur concours en : 2008
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012
a validé son master d'approfondissement le : 27/06/2013
s'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu :
Le Directeur de l'École Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur Bertrand MONTHUBERT



Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
vice-Président du CDR
Arnaud LE PACELLEC



Toulouse, 2014

NOM : FAGOT

PRENOM : MATHIEU

TITRE : IMPORTANCE DE *MYCOPLASMA HYORHINIS* DANS LES CO-INFECTIONS BACTERIENNES RESPIRATOIRES PROFONDES DU PORC A L'ENGRAIS : *ETUDE COMPARATIVE PRELIMINAIRE DANS DES ELEVAGES AVEC ET SANS MALADIES RESPIRATOIRES CLINIQUES*

RESUME : La pathologie respiratoire du porc à l'engrais est une dominante complexe en élevage porcin. L'implication de *Mycoplasma hyorhinis* a été suspectée par des études de terrain antérieures. Après une revue bibliographique, une enquête comparative a été menée dans quatorze élevages du Grand Ouest français, huit d'entre eux présentaient des maladies respiratoires cliniques. Une association statistique a été montrée entre la fréquence d'isolement de *Mycoplasma hyorhinis* et la présence de signes cliniques respiratoires. Cependant, cette association n'a pu être mise en évidence dans les élevages atteints de maladie respiratoire. Dans cette étude, *Mycoplasma hyorhinis* a toujours été isolé avec *Mycoplasma hyopneumoniae* associés à des signes cliniques. Les associations avec *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Streptococcus suis* et *Haemophilus parasuis* ont été explorées, par PCR sur lavages et écouvillons trachéo-bronchiques, afin d'établir des profils types de co-infections bactériennes.

MOTS-CLES: porc, maladie respiratoire, co-infection, *Mycoplasma hyorhinis*, lavage trachéo-bronchique, écouvillon trachéo-bronchique.

TITLE : IMPORTANCE OF *MYCOPLASMA HYORINIS* IN DEEP AIRWAYS BACTERIAL CO-INFECTIONS IN FATTENING PIGS : *PRELIMINARY COMPARATIVE STUDY OF RESPIRATORY DISEASE WITH OR WITHOUT CLINICAL EXPRESSION IN FARMS*

ABSTRACT : In pig fattening farms, respiratory disease is a complex situation. From previous field studies, *Mycoplasma hyorhinis* implication was suspected. After reviewing the literature, a fourteen farms comparative survey was conducted in the Great French West, among them, eight presented respiratory diseases. A statistical association between *Mycoplasma hyorhinis* isolation rate and respiratory clinical evidence was proven. However, in the respiratory affected farms, the association was not proven. In the present survey, associated with clinical symptoms *Mycoplasma Hyorhinis* was always isolated with *Mycoplasma hyopneumoniae*. The associations between *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Streptococcus suis* and *Haemophilus parasuis* were explored by PCR onto tracheo-bronchial washes and tracheo-bronchial swabs in order to set bacterial co-infection profiles.

KEY WORDS : swine, respiratory disease, co-infection, *Mycoplasma hyorhinis*, tracheo-bronchial washing, tracheo-bronchial swabbing