

ANNEE 2021 THESE : 2021 – TOU 3 – 4018

ÉTIOLOGIE INFECTIEUSE DES AFFECTIONS RESPIRATOIRES CHEZ LE RAT NAC

THESE
pour obtenir le titre de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

par

Audrey LE FOLL

Née le 22/01/1996 à QUINCY-SOUS-SENART (91)

Directeur de thèse : M. Guillaume LE LOC'H

JURY

PRESIDENT :
M. Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Guillaume LE LOC'H
M. Stéphane BERTAGNOLI

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

ÉTIOLOGIE INFECTIEUSE DES AFFECTIONS RESPIRATOIRES CHEZ LE RAT NAC

THESE
pour obtenir le titre de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

par

Audrey LE FOLL

Née le 22/01/1996 à QUINCY-SOUS-SENART (91)

Directeur de thèse : M. Guillaume LE LOC'H

JURY

PRESIDENT :
M. Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Guillaume LE LOC'H
M. Stéphane BERTAGNOLI

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

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Pharmacologie – Thérapeutique*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme HAGEN-PICARD, Nicole, *Pathologie de la reproduction*
- M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M. PETIT Claude, (Émérite) - *Pharmacie et Toxicologie*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme TRUMEL Catherine, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 1^{re} CLASSE

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
- Mme CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. DUCOS Alain, *Zootecnie*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M. GUERIN Jean-Luc, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- Mme LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, *Anatomie pathologique*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. MAILLARD Renaud, *Pathologie des Ruminants*

PROFESSEURS 2^{de} CLASSE

- Mme BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
- Mme DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme MEYNADIER Annabelle, *Alimentation animale*
- M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
- Mme PAUL Mathilde, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. RABOISSON Didier, *Médecine de population et Économie de la santé animale*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme CAMUS Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*

- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie- Bactériologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie - Analgésie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales réglementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

CHARGES D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS

- M. **FERCHIOU Ahmed**, *Economie, production animale,*
- M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
- Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophthalmologie*
- Mme **SOUVESTRE Marie**, *Production et pathologie aviaire*
- Mme **TOUSSAIN Marion**, *Pathologie des équidés*

ENSEIGNANT DE PREMIERE ANNEE COMMUNE AUX ETUDES VETERINAIRES

- Mme **GAUCHARD Cécile**, *Biologie-écologie-santé*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- M **BESSIERE Pierre**, *Microbiologie infectiologie*
- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*
- M. **TOUITOU Florian**, *Alimentation animale*

Remerciements au jury

A Monsieur le Professeur Christophe PASQUIER,

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Praticien hospitalier, Virologie

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.

Hommages respectueux.

Au Dr Guillaume Le Loc'h

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Médecine zoologique et santé de la faune sauvage

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger et d'encadrer cette thèse. Pour son aide, ses précieux conseils, ses idées, sa disponibilité, et son humanité,

Sincères remerciements.

Au Pr Stéphane Bertagnoli

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie infectieuse

Pour avoir accepté de prendre part au jury de thèse et de juger ce travail,

Sincères remerciements

Remerciements

Au Dr Emma MONGE

Assistante hospitalière et résidente au service NAC de l'ENVT

Pour avoir accepté de partager ce sujet avec moi, pour son investissement, sa motivation sans faille à faire vivre ce projet et son aide,

Sincères remerciements

A toute l'équipe de la clinique NAC de l'ENVT, à Camille, Claire, Alicia, Sofia et tous les étudiants qui ont participé à la collection des échantillons

Un grand merci pour votre implication dans ce travail

A Laetitia LEBRE

Technicienne de laboratoire au service de microbiologie de l'ENVT,

Pour sa patience, sa pédagogie et le temps qu'elle m'a consacré,

Qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance

Table des matières

Table des matières	13
Table des annexes	17
Table des figures	19
Table des tableaux	23
Liste des abréviations	25
Partie I. Étude bibliographique des agents responsables d'affections respiratoires chez le rat gris	27
A. <i>Mycoplasma pulmonis</i>	28
(a) Étiologie et épidémiologie	28
(b) Symptomatologie	31
(c) Diagnostic lésionnel :	31
(d) Diagnostic ante-mortem	32
(e) Traitement	35
B. Bacille CAR	36
(a) Étiologie et épidémiologie	36
(b) Symptomatologie	37
(c) Diagnostic lésionnel	37
(d) Diagnostic ante-mortem	38
C. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	38
(a) Étiologie et épidémiologie	38
(b) Symptomatologie	39
(c) Diagnostic lésionnel	39
(d) Diagnostic ante-mortem	40
D. <i>Corynebacterium kutscheri</i>	40
(a) Étiologie et épidémiologie	40
(b) Symptomatologie	40
(c) Diagnostic lésionnel	41

(d)	Diagnostic ante-mortem	42
E.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	42
(a)	Etiologie et épidémiologie	42
(b)	Symptomatologie	42
(c)	Diagnostic lésionnel	43
(d)	Diagnostic ante-mortem	43
F.	<i>Rodentibacter pneumotropicus</i>	43
(a)	Etiologie et épidémiologie	43
(b)	Symptomatologie	44
(c)	Diagnostic ante-mortem	44
G.	<i>Pneumocystis carinii</i>	45
(a)	Etiologie et épidémiologie	45
(b)	Symptomatologie	45
(c)	Diagnostic lésionnel	46
(d)	Diagnostic ante-mortem	47
H.	Coronavirus	47
(a)	Etiologie et épidémiologie	47
(b)	Symptomatologie	48
(c)	Diagnostic lésionnel	48
(d)	Diagnostic ante-mortem	50
I.	Virus Sendai	50
(a)	Etiologie et épidémiologie	50
(b)	Symptomatologie	51
(c)	Diagnostic lésionnel	51
(d)	Diagnostic ante-mortem	52
J.	Polyomavirus du rat.....	53
K.	Murine Pneumonia Virus	53
(a)	Etiologie et épidémiologie	53

(b)	Symptomatologie	54
(c)	Diagnostic lésionnel	54
(d)	Diagnostic ante-mortem	54
Partie II.	Etude expérimentale	55
A.	Objectifs de l'étude	55
B.	Matériel et méthodes	55
(a)	Détermination de la population d'étude	55
(b)	Technique de prélèvement	56
(c)	Recherche par PCR de <i>Mycoplasma pulmonis</i>	57
(d)	Séquençage des fragments amplifiés par PCR.....	63
(e)	Etude statistique.....	65
C.	Résultats	68
(a)	Analyse de la population d'étude	68
(b)	Présentation des résultats de l'étude PCR et du séquençage	80
(c)	Étude des paramètres pouvant expliquer la présence de signes respiratoires	83
D.	Discussion	91
Partie III.	Conclusion	97
Partie IV.	Bibliographie	99
Partie V.	Annexes.....	104

Table des annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignements	105
Annexe 2 : Plaque de Deepwell avant son introduction dans le robot Ideal 32	107
Annexe 3 : Tableaux de recensement des symptômes présentés par les rats ayant une atteinte respiratoire	108
Annexe 4 : Tableau synthétique des résultats	109
Annexe 5 : tableau de présentation des résultats de PCR	111

Table des figures

Figure 1 : Schéma de l'ultrastructure générale des mycoplasmes, Yiwen et al. 2021	29
Figure 2 : Manchons pérbronchiolaires de lymphocytes et plasmocytes (Barthold et al, 2016)	32
Figure 3 : Bronchiolectasie et abcès liés à <i>Mycoplasma pulmonis</i> (Barthold et al, 2016)	32
Figure 4 : Bronchioles de rat infecté par le bacille CAR (Barthold et al, 2016)	37
Figure 5 : Epithélium bronchiolaire colonisé par le bacille CAR en microscopie électronique (Barthold et al, 2016).....	37
Figure 6 : Aspect macroscopique des poumons touchés par <i>Corynebacterium</i> (Barthold et al, 2016).....	41
Figure 7 : Foyers de <i>Corynebacterium</i> touchant les reins. (Barthold et al, 2016)	41
Figure 8 : Poumons atteints de <i>P. carinii</i> (Barthold et. al, 2016).....	46
Figure 9 : Image microscopique de poumons de rat infecté par <i>P. carinii</i> (Barthold et. al, 2016).....	46
Figure 10 : Glandes salivaires sous-mandibulaires d'un rat atteint de SDAV en phase aiguë (Barthold et al, 2016)	49
Figure 11 : Glandes de Harder d'un rat atteint de SDAV en phase aiguë (Barthold et al, 2016).....	49
Figure 12 : Glandes parotidiennes en phase de récupération précoce (Barthold et al, 2016)	49
Figure 13 : Glandes de Harder en phase de récupération précoce (Barthold et al, 2016)	49
Figure 14 : Coupe de bulle tympanique de rat atteint par <i>Mycoplasma pulmonis</i> (Schoeb et. al 1985)	52
Figure 15 : Coupe de bulle tympanique de rat atteint par <i>Mycoplasma pulmonis</i> et le virus Sendai (Schoeb et. al 1985).....	52
Figure 16 : Coupe de bulle tympanique de rat sain (Schoeb et al 1985)	52
Figure 17 : Exemple de plan de plaque pour l'extraction d'ADN, (laboratoire d'analyse microbiologique de l'ENVT, Laetitia LEBRE)	57
Figure 18 : Graphique de répartition des sexes dans le groupe étudié	68
Figure 19 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction des tranches d'âges.....	69
Figure 20 : Graphique de répartition des individus de l'étude selon leur poids.....	69

Figure 21 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de la note d'état corporel.....	70
Figure 22 : Graphique de répartition des individus de l'étude en fonction de leur groupe	71
Figure 23 : Graphique présentant les différents signes cliniques présentés par les individus symptomatiques ainsi que leur occurrence.....	72
Figure 24 : Graphique de répartition de la population étudiée en fonction de la sévérité de l'atteinte respiratoire	73
Figure 25 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de la provenance des rats	73
Figure 26 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction du type de litière mise à disposition des rats et de sa fréquence de nettoyage.....	74
Figure 27 : Graphique des différents produits utilisés pour le nettoyage de la litière des individus de l'étude	75
Figure 28 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de l'aliment principal de la ration	76
Figure 29 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de la présence ou non de congénères dans l'environnement	77
Figure 30 : Graphique de répartition des individus en fonction de la chronicité ou non de leurs signes cliniques	78
Figure 31 : Graphique de répartition de la population symptomatique en fonction de la réponse au traitement de première intention	78
Figure 32 : Graphique de distribution des individus symptomatiques de l'étude en fonction de la proximité d'apparition des symptômes par rapport à l'adoption.....	79
Figure 33 : Résultat d'électrophorèse. De gauche à droite : échantillons 1, 2 et 3, Ladder, Témoin (+), Témoin (-) (laboratoire de microbiologie de l'ENVV)	80
Figure 34 : Résultat d'électrophorèse. De gauche à droite : échantillons 4, 5, 6, 7 et 8, Ladder, échantillons 9, 10, 11, 12, et 13, Témoin (+) (laboratoire de microbiologie de l'ENVV)	80
Figure 35 : Résultat de l'électrophorèse d'échantillons amplifiés. De gauche à droite : échantillons 14 et 15, Eau, échantillons 16 et 17, Ladder, échantillons 18, 19, 20, 24, 25 et 31 (laboratoire de microbiologie de l'ENVV)	80
Figure 36 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction des résultats des PCR à Mycoplasma pulmonis.....	82

Figure 37 : Graphique présentant le degré de sévérité de l'affection d'un rat en fonction de son résultat PCR	83
Figure 38 : Graphique d'analyse de la sévérité des signes cliniques en fonction du sexe des individus.....	84
Figure 39 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de la tranche d'âge et de la présence ou non de signes respiratoires.....	84
Figure 40 : Graphique de distribution de la population d'étude en fonction de la sévérité des signes cliniques et de la tranche d'âge	85
Figure 41 : Graphique d'analyse de la sévérité de la symptomatologie en fonction du type de litière et de sa fréquence de nettoyage	86
Figure 42 : Graphique d'analyse de la présence ou non de signes respiratoires en fonction de la présence ou non de congénères dans l'environnement	87
Figure 43 : Graphique d'analyse du rôle de l'aliment principal de la ration dans la sévérité de la symptomatologie	88
Figure 44 : Graphique d'analyse du rôle de l'embonpoint dans la sévérité des signes respiratoires.....	89
Figure 45 : Graphique d'analyse du moment d'apparition des troubles respiratoires par rapport à l'adoption en fonction de la provenance des rats	90

Table des tableaux

Tableau 1 : Réglages du thermocycleur Ozyme Doppio™ pour la réalisation de l'amplification par PCR	61
--	----

Liste des abréviations

- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- CRD : Chronic Respiratory Disease (Maladie Respiratoire Chronique)
- DASRI : Déchets d'Activité de Soin à Risque Infectieux
- mL : millilitre
- ND : Nom Déposé
- PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne
- PRC : Parker's Rat Coronavirus (Coronavirus de Parker)
- RT-PCR : Reverse Transcriptase PCR
- SDAV : Sialodacryoadenitis Virus (virus de sialodacryoadénite)
- TM : Trademark
- μL : microlitre

Partie I. Étude bibliographique des agents responsables d'affections respiratoires chez le rat gris

Cette étude s'est intéressée au Rat domestique. La popularité grandissante de cet animal de compagnie depuis des années amène les vétérinaires à se trouver de plus en plus confrontés à lui en consultation. L'installation de cette tendance implique le nécessaire développement des connaissances concernant leurs affections.

En effet, les données actuellement disponibles dans la littérature concernent essentiellement le Rat de laboratoire. Or, ces rats étant issus de souches différentes de celles des rats domestiques, voire issus de souches modifiées (souches athymiques par exemple), et se trouvant hébergés dans des conditions très différentes (hébergement en collectivité, alimentation différente), il n'est pas certain que les données concernant le Rat de laboratoire soient entièrement extrapolables au Rat de compagnie.

Les affections respiratoires sont une dominante pathologique majeure chez le Rat de compagnie, constituant chez cette espèce le second motif de consultations le plus fréquent (Quesenberry et Carpenter 2012; Graham et Schoeb 2011).

L'explication de cette tendance réside dans l'anatomie et la physiologie de ce rongeur. En effet, les rats sont dotés de voies respiratoires étroites et présentent une respiration nasale obligatoire. Par ailleurs, ils sont physiologiquement porteurs de germes respiratoires commensaux qui deviennent pathogènes à la faveur d'un stress ou sous l'influence de facteurs environnementaux inadéquats (Rothenburger et al. 2015). Aussi, les affections respiratoires des rats de compagnies présentent une origine mixte, à la fois infectieuse et environnementale, dont la gestion complexe explique la forte prévalence.

En clinique vétérinaire, la présentation en consultation d'un rat domestique pour troubles respiratoires débouche le plus souvent sur la mise en place d'un traitement reposant sur la correction des paramètres environnementaux et sur une antibiothérapie probabiliste basée sur les études menées sur rats de laboratoire. En effet, les examens complémentaires visant à déterminer le(s) germe(s) impliqué(s) sont invasifs et peu de laboratoires en France permettent la réalisation de certains

tests diagnostiques tels que l'identification par PCR, en cas de suspicion de mycoplasmoses notamment.

De multiples études concernant les agents responsables d'affections respiratoires chez le rat sauvage ou de laboratoire figurent dans la littérature. Chez ces espèces, en cas de symptomatologie respiratoire, les données disponibles indiquent une origine respiratoire haute dans 87% des cas, avec une responsabilité significativement imputable à *Mycoplasma pulmonis*, au bacille CAR ou encore à une co-infection de ces deux agents (Piasecki, Chrzastek, et Kasprzykowska 2017). La littérature fait également la distinction entre les atteintes aiguës, le plus souvent imputables à *Streptococcus pneumoniae* ou *Corynebacterium kutscheri*, et les atteintes respiratoires chroniques impliquant *Mycoplasma pulmonis* en premier lieu. Dans tous les cas, les affections respiratoires sont la plupart du temps le résultat de co-infections associées à des facteurs environnementaux défaisants (Mayer et Donnelly 2013).

La littérature scientifique étant bien plus pauvre de données concernant le rat de compagnie, l'objectif de notre étude a été d'explorer la prévalence de *Mycoplasma pulmonis* lors d'affection respiratoire chez ces individus et d'appréhender les facteurs favorisant le déclenchement de symptômes respiratoires lors d'infection par cet agent pathogène.

A. *Mycoplasma pulmonis*

(a) Étiologie et épidémiologie

Mycoplasma pulmonis est un bacille Gram négatif (Chawla et al. 2017). Petite bactérie pléomorphe dépourvue de paroi cellulaire et appartenant à l'ordre des *Mycoplasmatales*, il peut être un agent facilitateur d'infections secondaires, en particulier à bacille CAR ou à virus Sendaï. Chez le rat, il présente un tropisme respiratoire, auriculaire (oreille moyenne via la trompe d'eustache), génital chez les femelles, et plus rarement synovial (Barthold, Griffey, et Percy 2016). Il possède à sa surface des adhésines et protéines accessoires, structures lui permettant de s'accrocher aux cellules hôtes (Figure 1) (Yiwen et al. 2021).

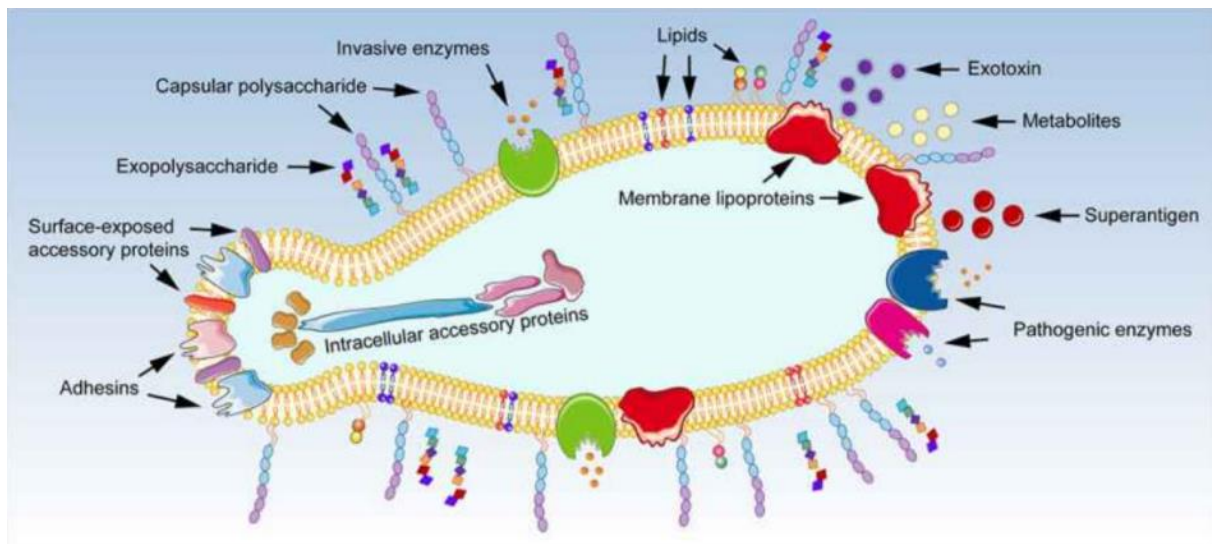


Figure 1 : Schéma de l'ultrastructure générale des mycoplasmes, Yiwen et al. 2021

Cet agent commensal de l'appareil respiratoire des rats de compagnie semble présenter chez eux une prévalence importante, de l'ordre de 70% à presque 100% (Quesenberry et Carpenter 2012; Chawla et al. 2017).

✓ *Transmission et mode d'action*

La transmission de *Mycoplasma pulmonis* entre rats peut se faire occasionnellement de manière horizontale par contact direct ou aérosolisation (Graham et Schoeb 2011). Le plus souvent, elle se fait de manière verticale, de la mère vers les jeunes à la naissance.

Dans les voies aériennes supérieures, *Mycoplasma pulmonis* se fixe aux cellules ciliées grâce à ses différentes adhésines et protéines de surface accessoires. Un exopolysaccharide de surface nommé EPS-I, constitué d'une alternance de glucose et de galactose, a également été identifié comme étant un facteur d'adhésion aux cellules hôtes (Daubenspeck et al. 2009; Taylor-Robinson et al. 1981).

Son rôle pathogène résulte principalement de la perte de cellules ciliées après qu'il a colonisé l'appareil respiratoire. Premièrement, la fixation de *Mycoplasma pulmonis* aux cellules ciliées provoque la formation d'amas entre ces cellules. Cela a pour effet la ciliostase des cellules concernées qui deviennent non fonctionnelles. De plus, la colonisation de l'arbre respiratoire par *Mycoplasma pulmonis* provoque une perte des jonctions serrées entre les cellules épithéliales. Parallèlement à cela, des cellules ciliées sont colonisées par *Mycoplasma pulmonis* qui est également doté d'une action lytique. Ces différents mécanismes d'action entraînent une diminution de l'efficacité

des cellules ciliées et une augmentation de la vulnérabilité de l'arbre respiratoire face à d'autres agents pathogènes (Stadtländer et al. 1991).

D'autres mécanismes d'actions, plus subtils, ont également été mis en évidence. Il a notamment été démontré que *Mycoplasma pulmonis* compromet drastiquement la capacité des cellules épithéliales à sécréter des ions Cl⁻ et à absorber des ions Na⁺, ainsi que la résistance de la monocouche épithéliale. Si le mécanisme exact n'est pas complètement compris, il a été prouvé que c'est la présence du mycoplasme en lui-même dans la cellule qui en est responsable, et non d'un produit sécrété par celui-ci. Quoiqu'il en soit, ce phénomène conduit à la mise en place d'un nouvel équilibre fonctionnel impliquant une diminution du débit d'absorption/ sécrétion des fluides et électrolytes par la monocouche épithéliale. Ceci affecte à la fois le volume et la composition du fluide baignant les voies respiratoires, et il est supposé que cela peut compromettre les mouvements ciliaires, l'hydratation du mucus et *in fine*, réduire la clairance mucociliaire (Lambert et al. 1998).

✓ *Facteurs influençant la sévérité de l'expression clinique*

Quand elle se déclare, l'intensité de la maladie dépend d'un certain nombre de facteurs (Graham et Schoeb 2011; T. R. Schoeb, Davidson, et Lindsey 1982) :

- De la souche de rats (les rats LEW sont plus sensibles que les rats F344) (T. R. Schoeb, Kervin, et Lindsey 1985) ;
- Des possibles co-infections (avec notamment le bacille CAR, un coronavirus, ou le virus Sendai) ;
- Des possibles déficits en vitamine A et E (Quesenberry et Carpenter 2012) ;
- Des éventuelles surinfections bactériennes ;
- D'un environnement défaillant : cage mal aérée, litière inadaptée (pin, cèdre) ou changée trop peu souvent, mauvaise gestion de l'humidité ou de la température, taux d'ammoniac à plus de 25 ppm (Broderson, Lindsey, et Crawford 1976; Booth et al. 2014).

De même, il apparaît que les rats athymiques et donc immunodéprimés ont davantage tendance à développer des formes cliniques de mycoplasmoses à

Mycoplasma pulmonis, souvent associées à une arthrite secondaire (Graham et Schoeb 2011).

L'intensité de la maladie dépend également de la capacité de l'agent pathogène à résister aux mécanismes de défense de l'hôte. Le principal moyen de défense de l'organisme face à *Mycoplasma pulmonis* une fois les cellules ciliées infectées est la phagocytose par les macrophages (T. Schoeb 2007). Or, *Mycoplasma pulmonis* dispose à sa surface des protéines Vsa présentant une vaste région de répétition en tandem. Plus la longueur de la zone de répétition est importante, et plus la souche de *Mycoplasma pulmonis* est résistante à l'action du complément et donc à la phagocytose (Shaw, Simmons, et Dybvig 2012; Simmons, Denison, et Dybvig 2004).

De plus, les protéines exposées à la surface de *Mycoplasma pulmonis* sont sujettes à des mutations qui augmentent encore davantage la résistance de cet agent pathogène aux mécanismes de défense de l'hôte (Citti et Rosengarten 1997).

(b) Symptomatologie

Il touche le plus souvent les jeunes rats, chez lesquels il est fréquemment retrouvé sous forme asymptomatique. Les signes cliniques sont principalement constatés chez les rats plus âgés car la mycoplasmosse respiratoire murine est avant tout une affection chronique. Aussi, si les rats s'infectent dans leur jeune âge, ils restent ensuite porteurs tout au long de leur vie, et les signes cliniques ont tendance à se déclarer tardivement, lorsque le statut immunitaire des individus diminue en raison de leur âge avancé. Le tableau clinique peut alors se composer des signes suivants : dyspnée, râles, éternuements, jetage oculaire et nasal, chromodacryorrhée, syndrome vestibulaire, troubles génitaux (endométrite), arthrite (Chawla et al. 2017; Quesenberry et Carpenter 2012). Il est également possible d'observer du contenu séreux ou purulent dans les voies respiratoires ou encore l'oreille moyenne en lien avec une otite moyenne-interne chronique (Graham et Schoeb 2011).

(c) Diagnostic lésionnel :

Ce type de diagnostic n'est évidemment pas adapté à l'exercice d'une médecine individuelle. Néanmoins, il arrive fréquemment que les propriétaires de rats de compagnie en détiennent plusieurs. Aussi, en cas de décès d'un rat suspect de mycoplasmosse vivant en groupe, le diagnostic histologique peut s'avérer intéressant.

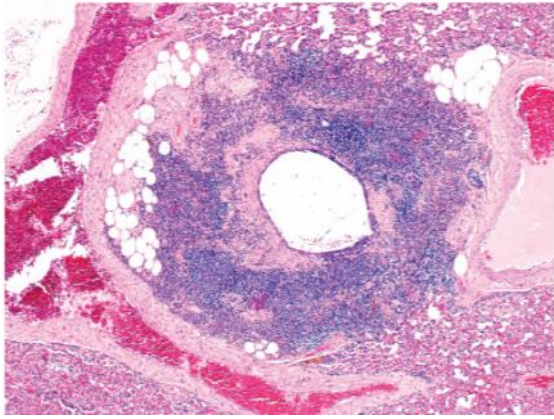


Figure 2 : Manchons péribronchiolaires de lymphocytes et plasmocytes (Barthold et al, 2016)

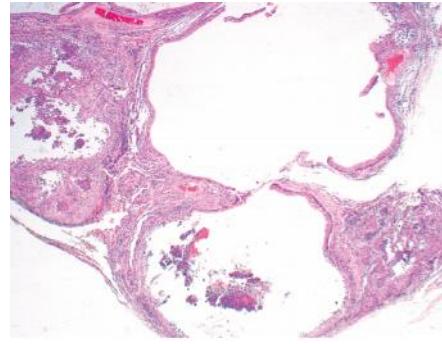


Figure 3 : Bronchiolectasie et abcès liés à *Mycoplasma pulmonis* (Barthold et al, 2016)

Histologiquement, un pattern neutrophilique de la muqueuse respiratoire et de la bulle tympanique est visible. En cas de présence d'un contenu purulent, un amas de monocytes peut être observé dans la sous-muqueuse des tissus concernés, de même que des manchons péribronchiolaires de lymphocytes et plasmocytes (Figure 2). L'inflammation provoquée par l'infection s'accompagne d'une métaplasie de l'épithélium nasal ainsi que d'hyperplasies péribronchiolaire et péribronchique. Il est aussi fréquent d'observer de la bronchiolectasie marquée, pouvant aller jusqu'à la rupture des voies respiratoires et la formation d'un abcès (Figure 3) (Chawla et al. 2017; Barthold, Griffey, et Percy 2016; Lindsey et Cassell 1973). Les modifications histologiques sont à rechercher sur des cadavres de rats issus de groupes suspects de mycoplasmoses, même s'ils étaient asymptomatiques avant la mort. En effet, ces lésions sont retrouvées chez 89% des rats asymptomatiques issus d'un groupe suspect. Ces rats sont également généralement positifs en PCR *Mycoplasma pulmonis* (Chawla et al. 2017).

(d) Diagnostic ante-mortem

L'auscultation pulmonaire manque de sensibilité pour évaluer la sévérité de l'atteinte (Quesenberry et Carpenter 2012). En clinique vétérinaire, il est possible d'utiliser la radiographie pour différencier une atteinte tumorale d'une atteinte infectieuse. Une tumeur se traduira en effet le plus souvent par une opacification médiastinale crâniale tandis qu'une atteinte infectieuse se manifestera plutôt par une opacification caudale. En cas de mycoplasmoses, il peut arriver d'observer à la radiographie des aires multifocales d'opacification liées à des infiltrations pulmonaires (Graham et Schoeb 2011). Cependant, il est important de signaler que le plus souvent,

aucune anomalie n'est visible sur les clichés (Quesenberry et Carpenter 2012). De plus, la petite taille des rats joue en défaveur de la résolution spatiale, rendant l'interprétation des clichés radiographiques parfois complexe (Fouriez-Lablée et al. 2017).

Parmi les meilleurs moyens diagnostiques figure l'identification de *Mycoplasma pulmonis*. Cet agent peut être isolé à partir de la partie haute du tractus respiratoire, d'exsudats issus de l'oreille moyenne ou de lésions pulmonaires. Le lieu préférentiel de prélèvement est le conduit nasopharyngé, même si l'idéal reste encore de multiplier les sites. Les lavages trachéo-bronchiques sont également un bon moyen d'isoler *Mycoplasma pulmonis* (Graham et Schoeb 2011).

✓ *Mise en culture*

Pour la mise en culture de *Mycoplasma pulmonis*, il faut placer l'échantillon sur un milieu conventionnel solide à base d'extrait de levure enrichie avec du sérum équin. On optimise la croissance de ce mycoplasme en conditions anaérobies facultatives à pH 7,8, 37°C et avec une humidité relative de 95%. Cultivé sur un milieu solide, *Mycoplasma pulmonis* fermente le glucose et les colonies présentent parfois un aspect en « œuf sur le plat » (Graham et Schoeb 2011). Il faut donc un matériel spécifique ainsi qu'une certaine expérience dans ce domaine qui rendent difficile la mise en culture de cet agent. De plus, les délais de culture sont longs, puisqu'il faut au moins 21j de mise en culture avant évaluation des résultats (Sanchez et al. 1994; Barreto et al. 2002).

Dans la mesure où la culture des mycoplasmes est particulièrement longue et difficile, la méthode de choix pour le diagnostic ante-mortem de mycoplasmosse repose sur la sérologie ou la PCR (Quesenberry et Carpenter 2012).

✓ *Sérologie ELISA*

La sérologie ELISA apparaît comme la méthode la plus efficace pour identifier les rats infectés par *Mycoplasma pulmonis*. Elle présente néanmoins deux inconvénients majeurs :

- Le premier est qu'il existe des réactions antigéniques croisées chez le rat avec deux autres mycoplasmes : *Mycoplasma neurolyticum* et *Mycoplasma arthridis* (Minion, Brown, et Cassell 1984). Aussi, un test sérologique positif

ne peut être considéré comme diagnostic de certitude, même si la présentation clinique et la prévalence élevée de *Mycoplasma pulmonis* chez les rats domestiques augmentent la valeur prédictive positive d'un tel résultat.

- Le second est que la sérologie consiste en la détection d'anticorps. Or, *Mycoplasma pulmonis* étant à la fois un agent commensal et un potentiel agent pathogène chronique, la détection d'anticorps dirigés contre cette entité ne présente pas de valeur diagnostique pour le clinicien confronté à un rat domestique présentant une symptomatologie respiratoire.

✓ Méthodes par PCR

Plusieurs techniques PCR sont décrites dans la littérature. Il ressort des différentes publications disponibles que la PCR, quelle que soit la méthode, est la technique la plus fiable et la plus rapide actuellement disponible (Sanchez et al. 1994).

En effet, même s'il apparaît selon les études que la sérologie présente des sensibilité et spécificité équivalentes à la PCR, il semble également qu'elle soit plus sujette à l'expression de faux positifs (sur des animaux en phase de rémission après un traitement antibiotique) et faux négatifs (en raison du délai nécessaire à la séroconversion de trois à quatre mois), en plus des inconvénients déjà sus-cités (Sanchez et al. 1994).

La technique la plus citée dans la littérature est la PCR 16S. Elle est réalisée sur de l'ADN extrait d'échantillons de flushs naso-pharyngés. Sur le plan technique, il s'agit de cibler les gènes de l'ARN 16S, spécifique des mycoplasmes, et plus particulièrement un fragment de 266 paires de bases spécifique de *Mycoplasma pulmonis* (van Kuppeveld et al. 1993). A cette fin, deux amorces ont été identifiées et sont constamment citées dans les différentes publications :

- L'amorce sens 5'-AGCGTTTGCTTCACTTTGAA-3'
- L'amorce anti-sens 5'-GGGCATTTCCCTCCCTAAGCT-3'

D'autres techniques PCR ont également été étudiées, comme la PCR nichée qui semble présenter une meilleure sensibilité encore que la PCR simple (T. R. Schoeb et al. 1997)

✓ *Multiplex Fluorescent Immunoassay (MFI)*

La méthode d'immunoessai par fluorescence permet l'analyse de très petits échantillons et est au moins aussi sensible que la méthode Elisa, faisant de cette méthode la référence aux Etats-Unis (Graham et Schoeb 2011).

(e) Traitement

L'objectif du traitement est de limiter au maximum la charge infectieuse afin d'améliorer le confort du rat. Néanmoins, il est très compliqué de guérir complètement un individu.

L'association de dexaméthasone et d'oxytétracycline agit sur l'inflammation neurogénique des voies respiratoires, potentialisée par *Mycoplasma pulmonis*. Les corticoïdes permettent également de corriger le remodelage des vaisseaux sanguins et pour partie celui des vaisseaux lymphatiques. Ces derniers sont néanmoins moins sensibles à l'action des corticoïdes et leur remodelage peut persister après guérison de l'inflammation primaire. Cette persistance pourrait être la cause des épisodes inflammatoires récidivants (Graham et Schoeb 2011; Bowden et al. 1994; McDonald, Schoeb, et Lindsey 1991; Yao et al. 2010).

Différents antibiotiques peuvent être employés pour traiter une infection par *Mycoplasma pulmonis*. En première intention, les antibiotiques recommandés sont la tylosine par voie orale ou les tétracyclines longue action par voie sous-cutanée à 60 mg/kg/72h. En cas d'absence d'efficacité de l'antibiotique de première intention et si l'antibiogramme le justifie, un traitement combinant de l'enrofloxacin par voie orale à 10 mg/kg/12h et de la doxycycline par voie orale à 5 mg/kg/12h peut être mis en place pour sept jours (Graham et Schoeb 2011).

Au traitement antibiotique peuvent être ajoutés des bronchodilatateurs (sucralfate d'albuterol 0,05 mg/kg/8h par voie orale) ou encore des inhalations de sérum physiologique. Lors de mycoplasmoses réfractaires à l'association antibiotique/bronchodilatateur, des anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent être ajoutés. Il est également possible d'administrer antibiotiques, anti-inflammatoires ou encore bronchodilatateurs directement par nébulisations (Graham et Schoeb 2011).

B. Bacille CAR

(a) Etiologie et épidémiologie

Il s'agit d'une bactérie extracellulaire Gram négative argyrophile (argentophile), micro-aérobie, filamenteuse, non dotée de flagelle, motile, et non sporulante (Ike et al. 2016). Elle fait partie des agents étiologiques des maladies respiratoires chroniques murines et présente une spécificité d'espèce assez étroite. En effet, elle infecte essentiellement le lapin (*Oryctologus cuniculus*) et le rat, bien que des contaminations de porcins et de bovins ont été décrites (Harkness et al. 2010; Itoh et al. 1987). Le bacille CAR, ou *Filobacterium rodentium* est rarement retrouvé chez les animaux de laboratoire, mais il semblerait, malgré l'absence de données approfondies à ce propos, qu'il infecte fréquemment les rongeurs de compagnie (Itoh et al. 1987). Sa prévalence est proche de celle de *Mycoplasma pulmonis* (Pritchett-Corning, Cosentino, et Clifford 2009).

La transmission se fait principalement par des contacts directs entre un animal infecté et un animal sain, ou par des sécrétions contaminées. Cette transmission se fait le plus souvent au cours de la période néonatale (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Tout comme *Mycoplasma pulmonis*, le bacille CAR se fixe sur l'épithélium cilié et agit en perturbant la clairance mucociliaire (Ganaway et al. 1985; Barthold, Griffey, et Percy 2016). Il est impliqué dans la maladie respiratoire chronique murine (Chronic Respiratory Disease (CRD) en anglais) en co-infection avec *Mycoplasma pulmonis* et le virus Sendai.

Contrairement à ce qui a été dit pour l'infection à *Mycoplasma pulmonis*, il n'y a pas de souche de rats préférentiellement touchée par l'infection par le bacille CAR.

En tant qu'agent de la maladie respiratoire chronique murine, les autres facteurs de risque du bacille CAR sont sensiblement les mêmes que ceux des infections à *Mycoplasma pulmonis*, avec en tête de liste une mauvaise gestion environnementale, notamment la saturation de l'air ambiant en ammoniac (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

(b) Symptomatologie

Sur le plan clinique, l'infection est le plus souvent asymptomatique. Lorsque des signes cliniques sont présents, ils sont non spécifiques. Le tableau clinique se compose alors d'une perte de poids accompagnée d'une dyspnée (Ike et al. 2016).

(c) Diagnostic lésionnel

Sur le plan histologique, la lésion la plus caractéristique et la plus souvent constatée en cas de maladie est la présence de manchons péribronchiolaires et péribronchiques composés de lymphocytes et de plasmocytes. Il est également possible d'observer des lésions plus haut sur l'appareil respiratoire, telles qu'une trachéite lymphoplasmocytaire, la présence dans la lumière trachéale de débris nécrotiques ou encore des lésions de rhinite (Rothenburger et al. 2015). Néanmoins, toutes ces lésions sont communes à celles observées lors d'infection par *Mycoplasma pulmonis* et sont ainsi non spécifiques. Par ailleurs, il est possible de constater une infiltration leucocytaire marquée dans la lamina propria des voies respiratoires touchées et une bronchiolectasie avec accumulation de mucine et leucocytes (Itoh et al. 1987). En cas de co-infection avec *Mycoplasma pulmonis*, une inflammation suppurative peut être objectivée.

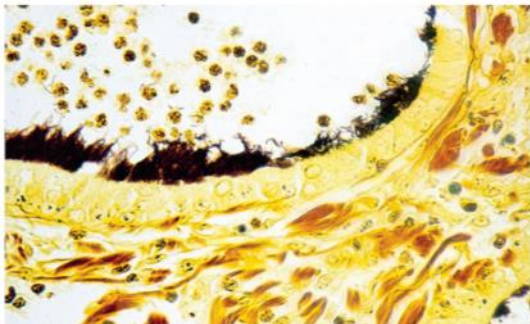


Figure 4 : Bronchioles de rat infecté par le bacille CAR (Barthold et al, 2016)

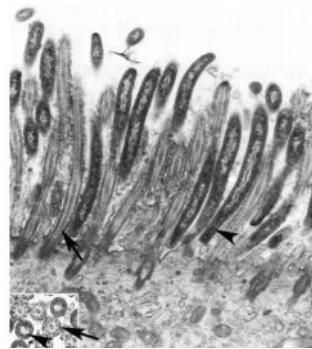


Figure 5 : Epithélium bronchiolaire colonisé par le bacille CAR en microscopie électronique (Barthold et al, 2016)

Le meilleur moyen de visualiser les bacilles CAR typiques est l'observation de coupes tissulaires en coloration de Warthin-Starry (Figure 4). En microscopie électronique, ils apparaissent sous forme de bacilles électrodenses localisés entre les cils des cellules épithéliales respiratoires (Figure 5).

(d) Diagnostic ante-mortem

Au même titre que *Mycoplasma pulmonis*, cette bactérie est difficile à cultiver. Diverses méthodes peuvent être utilisées pour la détecter dans un échantillon.

Pour diagnostiquer une infection par le bacille CAR du vivant de l'animal, il est possible d'utiliser des tests sérologiques. Cependant, il n'est pas recommandé d'utiliser le produit de lyse de bacilles CAR entiers comme cible antigénique pour la sérologie, car ce bacille présente un certain nombre d'antigènes provoquant des réactions croisées avec d'autres bactéries (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Une autre possibilité de mise en évidence du bacille CAR est d'utiliser la PCR sur écouvillon nasal (Barthold, Griffey, et Percy 2016). La RT-PCR sur écouvillon buccal a également montré une grande spécificité ainsi qu'une bonne sensibilité (Goto et al. 1995; Franklin et al. 1999). Cette méthode n'est actuellement disponible que dans le cadre de la recherche.

C. *Streptococcus pneumoniae*

(a) Etiologie et épidémiologie

Cet agent pathogène autrefois très répandu au sein des populations de rats de laboratoire est bien plus rarement diagnostiqué aujourd'hui. Il se loge dans les cornets nasaux et les bulles tympaniques des rats. S'agissant d'un agent zoonotique, l'homme est considéré comme source de contamination potentielle (Barthold, Griffey, et Percy 2016; Quesenberry et Carpenter 2012).

Streptococcus pneumoniae peut être un agent de contamination primaire, responsable de mortalité aiguë chez les individus touchés. On le retrouve cependant plus fréquemment en tant qu'agent de surinfection dans le cadre de maladies respiratoires (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Grâce à sa capsule de polysaccharides, cet agent pathogène est capable de résister à la phagocytose exercée par les cellules de son hôte. Agent méconnu dans la littérature en tant que producteur de toxines, certaines souches sont tout de même capables de dégrader les tissus hôtes en activant la voie alternative du complément (Barthold, Griffey, et Percy 2016). Les facteurs prédisposant à une infection par cet agent pathogène sont les modifications environnementales et les infections concomitantes (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

(b) Symptomatologie

De manière non spécifique, la clinique d'une affection à *Streptococcus pneumoniae* peut se composer, comme pour n'importe quelle autre pneumonie bactérienne, de jetage nasal et oculaire, d'une rhinite, d'une sinusite, de dyspnée, d'une augmentation des bruits respiratoires, de toux, d'anorexie, de perte de poids, d'une conjonctivite et d'un syndrome vestibulaire (Barthold, Griffey, et Percy 2016; Quesenberry et Carpenter 2012).

(c) Diagnostic lésionnel

Il est possible de constater dans les voies respiratoires un exsudat séreux à mucopurulent, avec parfois aussi une atteinte de la bulle tympanique associée. On peut également constater de la pleurésie, une péricardite fibrineuse ainsi qu'une bronchopneumonie suppurative.

Face à une forme systémique aiguë, on pourra observer à l'examen nécropsique des signes de polysérosite fibrinopurulente se manifestant sous forme de méningite, péritonite, ou péricardite. À l'examen microscopique, il est courant de retrouver de la pleurésie fibrinopurulente et une péricardite. Les modifications pulmonaires visibles peuvent présenter des degrés variables de sévérité, de la bronchopneumonie suppurée localisée à la bronchopneumonie fibrinopurulente aiguë associée au remodelage des lobes touchés.

Dans les cas les plus graves, des lésions fibrino-purulentes peuvent se trouver cloisonnées dans les leptoméninges. Dans ces-cas-ci, il est également possible de noter la consolidation d'un ou plusieurs lobes pulmonaires.

Parmi les observations microscopiques courantes, en plus de celles précédemment citées, figurent la péritonite fibrinopurulente, la périhépatite et/ou la leptoméningite. Il arrive également d'être confronté à une rhinite ou une otite moyenne.

La forme chronique d'une telle infection se traduit par une bronchopneumonie suppurative et une otite moyenne.

L'étude nécropsique permet de formuler un diagnostic de suspicion lorsqu'on observe une sérosite fibrinopurulente et qu'on est en mesure de mettre en évidence sur le site lésionnel, en coloration de Gram, des diplocoques encapsulés.

(d) Diagnostic ante-mortem

Le diagnostic de certitude nécessite le prélèvement et la mise en culture d'un échantillon provenant d'un flush naso-pharyngé. À partir de cet échantillon, il est nécessaire de mettre en évidence la présence d'agents alpha-hémolytiques.

Chez un individu porteur, on augmente de 30% le succès de détection de cet agent pathogène en réalisant simultanément une culture quantitative et une PCR (Kontiokari et al. 2000). La PCR n'est cependant pas accessible au vétérinaire praticien pour cet agent pathogène.

Les méthodes diagnostiques les plus décrites demeurent des méthodes post-mortem.

D. *Corynebacterium kutscheri*

(a) Etiologie et épidémiologie

Il s'agit d'un bacille gram positif pouvant affecter rarement les rats de laboratoire, de même que les souris et cobayes (Barthold, Griffey, et Percy 2016; Quesenberry et Carpenter 2012).

L'expression symptomatique ainsi que la mortalité sont généralement associées à la présence d'affections concomitantes telles qu'une immunodépression ou des carences alimentaires. En revanche, les agents viraux de type coronavirus, virus Sendai ou encore parvovirus ne semblent pas être des facteurs de risques.

Macroscopiquement, on peut trouver dans les poumons et d'autres organes des abcès à contenu granulomateux liés à une embolie septique, en lien avec la dissémination hématogène de ce bacille.

Cet agent pathogène n'est désormais pratiquement plus retrouvé chez les rats de laboratoire ou de compagnie (Hansen et al. 2019).

(b) Symptomatologie

Le portage est la plupart du temps asymptomatique, au niveau de l'oropharynx et des nœuds lymphatiques adjacents. L'expression clinique survient lorsqu'une dissémination hématogène se produit depuis ces sites vers les viscères thoraciques et abdominales (H. Amao et al. 1995). Lorsque la maladie se déclare, des signes

cliniques non spécifiques de type perte de poids, détresse respiratoire et poil piqué sont constatés (Barthold, Griffey, et Percy 2016; Quesenberry et Carpenter 2012).

(c) Diagnostic lésionnel

L'autopsie montre généralement des ecchymoses rouge sombre en périphérie des yeux et des narines. Ceci peut s'accompagner d'un exsudat mucopurulent périnatal.

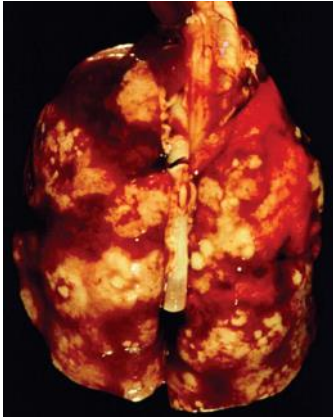


Figure 6 : Aspect macroscopique des poumons touchés par *Corynebacterium* (Barthold et al, 2016)

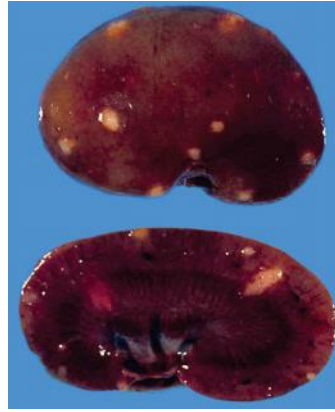


Figure 7 : Foyers de *Corynebacterium* touchant les reins. (Barthold et al, 2016)

Les poumons sont les organes les plus souvent touchés. Les lésions retrouvées prennent la forme de foyers de suppuration de taille variable entourés d'une hyperhémie périphérique (Figure 6). Les foyers adjacents ont fréquemment tendance à se rejoindre en coalescence de foyers pouvant présenter un aspect caséonécrotique avec infiltration leucocytaire. Par la suite, des foyers peuvent également apparaître dans les reins ou le foie (Figure 7) (H. Amao et al. 1995). Il arrive par ailleurs qu'un exsudat fibrineux soit visible sur la plèvre et le péricarde.

D'un point de vue cellulaire, les neutrophiles sont les cellules les plus retrouvées dans les infiltrats au stade précoce. Par la suite, on y retrouve des macrophages, lymphocytes et plasmocytes. Dans la mesure où la diffusion du germe est hémotogène, les lésions précoces sont souvent associées aux vaisseaux sanguins. Les lésions évoluant depuis plusieurs jours sont suppuratives, infiltrées de cellules mononucléaires et fibrosées. Dans les cas chroniques, il est fréquent de constater l'apparition d'une hyperplasie lymphoïde (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

L'identification des germes après autopsie se fait par visualisation de grandes colonies bactériennes apparaissant comme du matériel basophile amorphe sur les tissus lésés colorés à l'Hémalun-éosine. La visualisation de ce type de colonies est pathognomonique de ce germe (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

(d) Diagnostic ante-mortem

Les méthodes diagnostiques de références pour identifier les animaux porteurs nécessitent une mise en culture ou une analyse PCR à partir d'un lavage oropharyngé, d'une ponction au niveau des nœuds lymphatiques cervicaux, ou encore d'un écouvillonnage buccal de la zone gingivale à proximité des incisives supérieures (Hiromi Amao et al. 2002). Il est également possible d'utiliser des tests sérologiques tels que l'agglutination sur tube. La technique ELISA en revanche montre des réactions croisées avec *Corynebacterium ulcerans* (Ackerman, Fox, et Murphy 1984).

E. *Klebsiella pneumoniae*

(a) Etiologie et épidémiologie

Ce bacille Gram négatif est un agent pathogène opportuniste pouvant être retrouvé dans les fèces de rats sains (Barthold, Griffey, et Percy 2016). Concernant son pouvoir pathogène respiratoire, il existe différentes souches qui ne présentent pas toutes la même pathogénicité. De plus, une dichotomie réside au sein de chaque souche entre un variant à capsule polysaccharidique épaisse et un autre à capsule plus fine. L'épaisseur de la capsule serait corrélée à la pathogénicité de l'agent, avec un plus fort pouvoir pathogène des variants possédant une capsule plus épaisse. En effet, une plus grande épaisseur de la capsule permettrait une meilleure résistance à la phagocytose exercée par les macrophages de l'hôte, et donc une plus grande survie du pathogène *in situ* (Domenico, Johanson, et Straus 1982).

Cet agent étant opportuniste, les facteurs de risques sont, comme pour les autres agents pathogènes opportunistes, une baisse d'immunité ou une infection concomitante.

(b) Symptomatologie

Cet agent est souvent à l'origine de la formation d'abcès au niveau des reins et des nœuds lymphatiques cervicaux, mésentériques ou inguinaux (Barthold, Griffey, et Percy 2016). Ce type de symptomatologie peut être retrouvé sans signes respiratoires associés (Jackson et al. 1980).

D'un point de vue respiratoire, il peut être à l'origine d'une rhinite suppurée modérée et d'une bronchopneumonie (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

La forme « pneumonie lobaire », rarement retrouvée à l'état naturel, se traduit en phase aiguë par des écoulements oculaires muqueux, ainsi qu'une respiration superficielle et particulièrement rapide. Lors de forme chronique, on peut observer un poil terne et une perte de poids marquée (Domenico, Johanson, et Straus 1982).

(c) Diagnostic lésionnel

La forme abcédée sans atteinte respiratoire se traduit au niveau macroscopique par la présence d'abcès dans les zones précédemment citées. À l'échelle microscopique, on observe une zone nécrotique au centre des abcès avec, en périphérie, une zone neutrophilique très dense. On peut retrouver, en plus de ces lésions fréquentes, une néphrite multifocale subaiguë.

En cas de bronchopneumonie interstitielle, on observe des lésions multifocales de pneumonie relativement non spécifiques.

Il est possible d'isoler le germe depuis le contenu des abcès ou l'exsudat de bronchopneumonie. La culture est possible sur gélose de Mac Conkey (Jackson et al. 1980).

(d) Diagnostic ante-mortem

Klebsiella pneumoniae peut être isolée depuis un échantillon de fèces ou un écouvillon trachéal. Dans le premier cas, le risque est de trouver cette bactérie sans pour autant qu'elle soit responsable de la symptomatologie respiratoire observée.

Dans tous les cas, l'échantillon peut ensuite être mis en culture sur gélose de Mac Conkey ou encore sur un milieu de culture à mycoplasmes ou une gélose d'agar au sang de mouton (Pritchett-Corning, Cosentino, et Clifford 2009; Jackson et al. 1980).

F. *Rodentibacter pneumotropicus*

(a) Etiologie et épidémiologie

Anciennement nommé *Pasteurella pneumotropica*, cet agent pathogène a été reclassé dans le nouveau genre *Rodentibacter*, au sein de la famille des *Pasteurellaceae* (Benga, Sager, et Christensen 2018).

Cet agent pathogène Gram négatif anaérobie facultatif est essentiellement retrouvé dans le tube digestif des rats, où il peut demeurer longtemps. Il peut cependant également être isolé depuis le nasopharynx, les conjonctives, les voies respiratoires

profondes ou encore l'utérus. Le plus souvent, il n'est pas à l'origine de signes cliniques (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Les rats se contaminent par contact direct ou par voie fécale.

(b) Symptomatologie

Le portage de cet agent pathogène seul est rarement associé à la présence de signes cliniques. Cependant, il s'agit d'un agent opportuniste qui peut, secondairement à une infection par *Mycoplasma pulmonis* ou le virus Sendaiï, déclencher un pattern clinique. On peut alors retrouver des signes d'atteinte de la sphère oto-rhino-laryngologique de type rhinite, sinusite, conjonctivite, otite moyenne ou encore bronchopneumonie. Il est aussi possible de constater des signes non respiratoires de type abcédation sous-cutanée, mammite nécrotique ou encore pyomètre (Barthold, Griffey, et Percy 2016; Hayashimoto et al. 2008).

Par ailleurs, lorsqu'une ratte gestante est infectée, il y a mort fœtale dans 30% des cas. Les études conduites à ce sujet montrent un lien étroit entre portage de l'agent pathogène et avortement, mais suggèrent, face à l'absence d'avortement dans la plupart des cas, que d'autres facteurs entrent en compte dans le déclenchement d'une mort fœtale (Ward, Moffatt, et Olfert 1978).

Cet agent pathogène étant opportuniste, les facteurs de risques le concernant sont une baisse d'immunité et une infection concomitante par *Mycoplasma pulmonis* ou le virus Sendaiï (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

(c) Diagnostic ante-mortem

Le diagnostic se fait par mise en culture d'un échantillon trachéal. *Rodentibacter pneumotropicus* présente des propriétés de coloration bipolaire et sa mise en culture se déroule très bien en conditions anaérobies et sur milieu conventionnel (Barthold, Griffey, et Percy 2016). La croissance est également satisfaisante sur gélose d'agar au sang de mouton, comme pour *Klebsiella pneumoniae* (Pritchett-Corning, Cosentino, et Clifford 2009).

Il est également possible de réaliser le diagnostic par PCR comme pour toute *Pasteurellaceae* (Wang et al. 1996).

G. *Pneumocystis carinii*

(a) Etiologie et épidémiologie

Cet agent pathogène, d'abord identifié comme un protozoaire, est désormais reconnu comme un organisme fongique. Les récentes études menées sur cet agent pathogène mettent en évidence un haut degré de spécificité d'espèce (Baker 1998; Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Le portage se fait au niveau du tractus respiratoire des rats (Baker 1998). La transmission passe par l'inhalation d'oocystes infectants. Aucune transmission placentaire n'a été mise en évidence. Les jeunes rats âgés de 6 à 12 semaines sont les plus sujets à la contamination, avec un portage maximal qui diminue ensuite avec l'âge jusqu'à disparaître complètement chez les individus immunocompétents. Cependant, ces individus peuvent transmettre des spores à de plus jeunes rats non immunocompétents et déclencher chez eux des signes cliniques allant souvent jusqu'à la mort (Barthold, Griffey, et Percy 2016). Cet agent pathogène ne semble pas présenter d'affinité majeure pour les poumons de rats âgés de moins de 6 semaines (Hong et al. 1999).

Le facteur de risque principal à l'origine du développement des signes cliniques est l'immunosuppression (Yoneda et Walzer 1981). Elle peut être iatrogène (traitement corticoïde de plusieurs semaines) ou bien secondaire à une maladie auto-immune. Il apparaît par ailleurs que les femelles seraient plus à risque que les mâles en condition d'immunosuppression (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

(b) Symptomatologie

Les signes cliniques sont essentiellement visibles chez les animaux immunodéprimés. Le tableau clinique comprend une perte de poids, un pelage terne et hirsute, de la dyspnée, de la cyanose et peut aboutir au décès de l'animal concerné (Baker 1998; Barthold, Griffey, et Percy 2016). S'il a longtemps été suspecté que seuls les individus immunodéprimés présentaient des signes cliniques, des études plus récentes laissent supposer que les individus immunocompétents ne sont pas systématiquement asymptomatiques (Henderson et al. 2012).

(c) Diagnostic lésionnel

Que le rat soit symptomatique ou non, des lésions pulmonaires sont fréquemment visibles à l'autopsie.

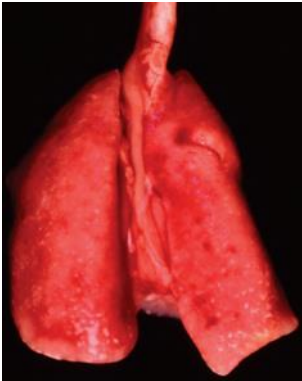


Figure 8 : Poumons atteints de *P. carinii* (Barthold et. al, 2016)

Les poumons des individus massivement atteints présentent une consolidation focale à diffuse, sont collabés et de coloration rose pâle (Figure 8).

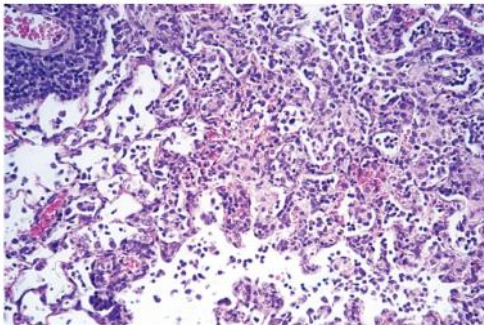


Figure 9 : Image microscopique de poumons de rat infecté par *P. carinii* (Barthold et. al, 2016)

L'examen microscopique révèle des lésions de pneumonie interstitielle allant d'une forme légère avec remplissage alvéolaire macrophagique à une forme sévère avec remplissage alvéolaire par un contenu éosinophile organisé en nids d'abeille (Figure 9). Lors de formes sévères, on peut observer en plus, que l'interstitium est infiltré de leucocytes mononucléés. Dans les cas les plus avancés, l'infiltrat inflammatoire et l'exsudat s'accompagnent d'une prolifération massive des pneumocytes de type II ainsi que d'une fibrose interstitielle (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

La pneumonie provoquée par *P.carinii* est pour partie liée aux mécanismes d'attachement de l'agent pathogène aux cellules pulmonaires, et peut se voir aggravée par des co-infections entre *P. carinii* et d'autres agents pathogènes (Baker 1998). Elle peut également être accentuée sous l'effet des protéines A associées au surfactant (Baker 1998).

L'identification microscopique peut se faire sur coupe de zone lésée colorée par technique argentique à la méthénamine de Gomori modifiée pour correspondre à la procédure Grocott. Cette coloration, permet de mettre en évidence de nombreux trophozoïtes noirs ainsi que des kystes de 3 à 5 µm de diamètre, isolés ou groupés au sein des alvéoles. Une analyse ultrastructurale des trophozoïtes permet de mettre en lumière une association étroite entre le filopode des trophozoïtes et les pneumocytes de type I (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Lorsque des individus immunocompétents en bonne santé sont affectés, il est possible de noter à l'autopsie des lésions de périvascularite non suppurée multifocale transitoires et de pneumonie interstitielle. Ces lésions grises multifocales de 1 à 4mm peuvent persister plusieurs semaines avant de se résorber complètement. Cependant, la plupart du temps, chez ces catégories d'individus, les voies respiratoires sont relativement épargnées à l'exception de quelques infiltrats lymphocytaires autour de quelques bronchioles (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

(d) Diagnostic ante-mortem

Le diagnostic ante-mortem de cette infection se fait essentiellement par PCR sur liquide de lavage broncho-alvéolaire ou écouvillon oral.

H. Coronavirus

(a) Etiologie et épidémiologie

Il existe deux coronavirus majoritaires chez le rat : le coronavirus de Parker (PRC) et le coronavirus agent de sialodacryoadénite (SDAV), tous deux des sous-type de l'espèce *Murine coronavirus* (Barthold, Griffey, et Percy 2016). Le second, fortement contagieux, est très fréquemment rencontré au sein des populations de rats sauvages, avec une prévalence de 92% (Rothenburger et al. 2015).

Comme certains autres pathogènes déjà présentés, les coronavirus murins peuvent agir en synergie avec *Mycoplasma pulmonis*, et de façon moins prononcée avec le bacille CAR.

La transmission se fait par la salive ou les sécrétions nasales et découle généralement de l'introduction dans une population sensible d'un individu infecté (Barthold, Griffey, et Percy 2016). Il semblerait que les infections par le SDAV finissent par cesser au sein d'une population dans laquelle il est devenu enzootique (Bhatt et Jacoby 1985).

(b) Symptomatologie

Le SDAV est responsable d'inflammation et d'œdème des glandes salivaires cervicales et nœuds lymphatiques cervicaux. Il cause en premier lieu une rhinite suivie de nécrose épithéliale puis d'un gonflement inflammatoire des glandes salivaires et lacrymales. De l'atteinte des glandes lacrymales peuvent, secondairement, résulter des troubles oculaires de type conjonctivite, kératite, blépharospasmes, ulcères cornéens, synéchies ou hyphéma (Quesenberry et Carpenter 2012). Enfin, des lésions des glandes de Harder peuvent être provoquées par l'infection et s'accompagner d'une accumulation de porphyrine autour des yeux (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Le retour à la normale de la taille des glandes survient en sept à dix jours. La disparition des signes cliniques, plus lente, nécessite une trentaine de jours. Si la morbidité de la sialodacryoadénite est élevée, ce n'est pas le cas de la létalité associée qui est négligeable (Barthold, Griffey, et Percy 2016). Il est important de noter qu'en phase aiguë, le risque de décès per-anesthésique des rats augmente en raison du rétrécissement luminal du tractus respiratoire supérieur (Quesenberry et Carpenter 2012; Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Le PRC quant à lui, est responsable de rhinite, trachéite et de pneumonie interstitielle (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

(c) Diagnostic lésionnel

À l'examen macroscopique, diverses atteintes sont notables dont un élargissement et un blanchissement des glandes salivaires touchées et un œdème périglandulaire. Certaines glandes de Harder et glandes lacrymales peuvent montrer les mêmes modifications.

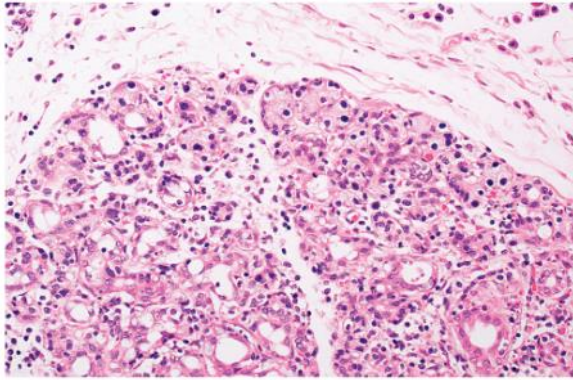


Figure 10 : Glandes salivaires sous-mandibulaires d'un rat atteint de SDAV en phase aiguë (Barthold et al, 2016)

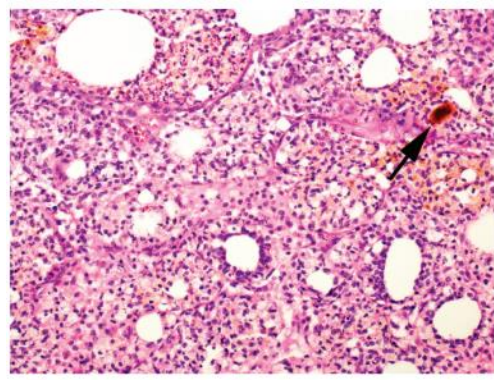


Figure 11 : Glandes de Harder d'un rat atteint de SDAV en phase aiguë (Barthold et al, 2016)

En phase aiguë, on peut remarquer une coagulation nécrotique de l'épithélium du conduit des glandes salivaires, avec un effacement de l'architecture normale des acini (Figure 10). Le même type de lésion est retrouvé au niveau des glandes de Harder (Figure 11).

Il est aussi fréquent d'observer de l'œdème interstitiel accompagné d'un infiltrat cellulaire polymorphe. C'est en phase aiguë qu'une rhinite nécrosante associée à un infiltrat polymorphe peuvent être observés au niveau des voies aériennes supérieures (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

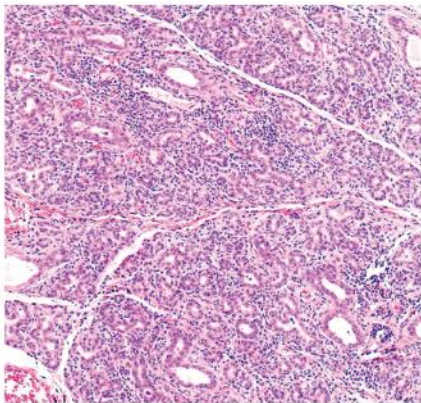


Figure 12 : Glandes parotidiennes en phase de récupération précoce (Barthold et al, 2016)

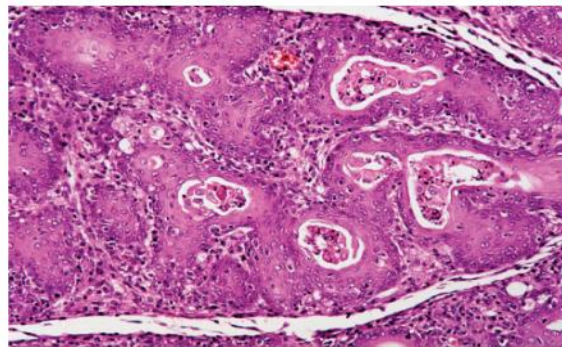


Figure 13 : Glandes de Harder en phase de récupération précoce (Barthold et al, 2016)

La phase de récupération clinique, débutant 7-10 jours post-inoculation, se caractérise par la mise en place d'une métaplasie squameuse non kératinisée du conduit et des acini des glandes touchées, associée à une hyperplasie réactionnelle des nœuds lymphatiques cervicaux. Au niveau microscopique, on observe à ce stade un infiltrat lymphocytaire et macrophagique (Figure 12, Figure 13).

Les cellules épithéliales des acini et des conduits se régénèrent en trois à quatre semaines. À l'issue de cette période, l'examen histologique des glandes salivaires et lacrymales est généralement normal. Seules des lésions des glandes de Harder peuvent persister plusieurs semaines (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

En pratique, le diagnostic histologique est confirmé par la visualisation microscopique de lésions typiques des glandes salivaires et lacrymales.

(d) Diagnostic ante-mortem

Le coronavirus du rat de Parker (PRC) et le virus sialodacryoadenis (SDAV) sont actuellement rarement isolés chez des rats de laboratoire. La méthode de choix pour l'identification serait malgré tout le recours à la sérologie ELISA (Pritchett-Corning, Cosentino, et Clifford 2009; Barthold, Griffey, et Percy 2016). Le recours à la PCR est également envisageable chez les rats massivement infectés, mais reste peu décrit (Yoo et al. 2000).

I. Virus Sendai

(a) Etiologie et épidémiologie

Il s'agit d'un virus à ARN simple brin de la famille des *Paramyxoviridae* (Baker 1998), du genre *Respirovirus*. Connu sous le nom de virus Sendai, le nom officiel de l'espèce virale est *Murine respirovirus*. Ce virus a par le passé fréquemment été associé en co-infection avec *Mycoplasma pulmonis* dans le cadre de la maladie respiratoire chronique murine. Actuellement, il circulerait à bas bruit au sein des populations de rats de laboratoires mais aussi de rats sauvages, où sa prévalence se situerait autour de 4% (Quesenberry et Carpenter 2012; Barthold, Griffey, et Percy 2016).

La transmission peut se faire par contact direct ou via aérosols. S'agissant d'une zoonose, l'homme peut également être source de contamination (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

L'un des facteurs de risque de sévérité de la maladie est le jeune âge. En effet, les très jeunes rats de quelques jours mettent plus de temps à éliminer le virus et ne développent pas d'anticorps en quantité dépassant le seuil de détectabilité (Castleman et al. 1987).

(b) Symptomatologie

Seul, ce virus n'est que très peu pathogène. Il peut malgré tout se trouver à l'origine d'une atteinte de la portion haute de l'arbre respiratoire, à savoir d'une rhinite nécrosante modérée, d'une laryngite, d'une trachéite ou encore d'une bronchite. Les atteintes plus profondes de type bronchiolite ou pneumonie interstitielle ne peuvent en revanche pas lui être imputées (T. R. Schoeb, Kervin, et Lindsey 1985). Le degré de pathogénicité serait directement lié à la présence d'une tryptase, la tryptase Clara, sécrétée par les cellules Clara des rats. Cette enzyme est capable de cliver la protéine F de surface du virus Sendai, et ainsi de l'activer (Tashiro et al. 1992).

Il est capable d'agir en co-infection avec *Mycoplasma pulmonis*, le bacille CAR ou d'autres agents pathogènes encore et de déclencher ainsi par synergie des signes d'atteinte respiratoire plus profonde (Quesenberry et Carpenter 2012; Kashuba et al. 2005). Il est notamment connu pour sa synergie avec *Mycoplasma pulmonis*. Si seules, ces deux entités ne provoquent pas d'atteinte respiratoire profonde, elles peuvent entraîner de la bronchiectasie et une pneumonie interstitielle lorsqu'elles sont associées (T. R. Schoeb, Kervin, et Lindsey 1985). Ceci se traduit alors par de la dyspnée marquée et une augmentation des bruits respiratoires.

(c) Diagnostic lésionnel

Macroscopiquement, on note des lésions inflammatoires chroniques d'intensité modérée à faible au niveau de la cavité nasale, ainsi qu'une nécrose épithéliale de localisation focale à diffuse. Des lésions inflammatoires chroniques sont également visibles plus profondément, à l'étage pulmonaire. Cette inflammation est plutôt focale dans les alvéoles et diffuse en périphérie des bronches et bronchioles. Elle est généralement auto-résolutive en trois à cinq jours en l'absence de coinfection avec d'autres agents pathogènes (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Le diagnostic post-mortem peut se faire par analyse histologique des poumons, mais demeure peu spécifique. Le constat d'une bronchiolite ou d'une bronchite est un critère diagnostique mais n'est pas complètement spécifique. Le seul moyen diagnostique sûr reste la détection d'une élévation du taux d'anticorps dirigés contre le virus Sendai dans le sang (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Globalement, on recherchera la présence du virus Sendai en cas de suspicion d'atteinte concomitante entre ce virus et *Mycoplasma pulmonis*. Cette suspicion est le plus souvent fondée sur une atteinte respiratoire sévère et chronique, voire sur des résultats PCR positifs à *Mycoplasma pulmonis* associés à une clinique respiratoire sévère.

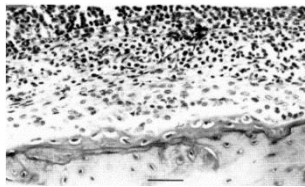


Figure 14 : Coupe de bulle tympanique de rat atteint par *Mycoplasma pulmonis* (Schoeb et al 1985)



Figure 15 : Coupe de bulle tympanique de rat atteint par *Mycoplasma pulmonis* et le virus Sendai (Schoeb et al 1985)

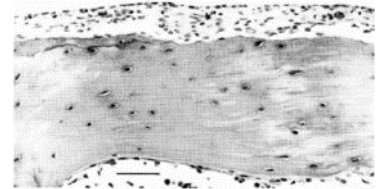


Figure 16 : Coupe de bulle tympanique de rat sain (Schoeb et al 1985)

La synergie entre ces deux agents pathogènes est telle qu'elle concerne à la fois les zones touchées par les deux et les zones touchées par seulement l'un d'entre eux lorsqu'ils sont seuls. Par exemple, lors d'une atteinte de la bulle tympanique uniquement par *Mycoplasma pulmonis* (Figure 14), un exsudat suppuratif est observé. Des cellules lymphoïdes s'accumulent dans la bulle et la membrane de revêtement s'épaissit. En cas d'association des deux entités pathogènes (Figure 15), le même type d'exsudat est retrouvé accumulé dans des espaces de forme glandulaire, et la membrane de revêtement est sévèrement fibrosée. Les modifications provoquées par l'association entre le virus Sendai et *Mycoplasma pulmonis* sont ainsi bien plus importantes que celles découlant de l'infection par *Mycoplasma pulmonis* seul (pour comparaison, coupe de bulle tympanique de rat sain sur la Figure 16). Ceci n'est qu'un exemple mais témoigne du rôle aggravant du virus Sendai sur les lésions provoquées par *Mycoplasma pulmonis* lorsque ces deux entités infectent un rat de manière concomitante (T. R. Schoeb, Kervin, et Lindsey 1985).

(d) Diagnostic ante-mortem

La détection de l'infection peut se faire par sérologie ELISA. Les anticorps sont détectables jusqu'à sept mois ou plus et passent en-deçà des seuils de détectabilité après neuf mois post-inoculation (Barthold, Griffey, et Percy 2016; Pritchett-Corning, Cosentino, et Clifford 2009). Si d'autres méthodes de détection sont disponibles, à l'image de la fixation du complément ou encore du test d'inhibition de l'hémagglutination, c'est la sérologie ELISA qui demeure la technique la plus sensible (Rottinghaus, Gibson, et Wagner 1986; Parker, O'Beirne, et Collins 1979).

La PCR reverse transcriptase (RT-PCR) et la PCR reverse transcriptase fluorogène (RTf-PCR) ont également été éprouvées pour cet agent pathogène, montrant des résultats satisfaisants. Elles ne sont néanmoins pas décrites en-dehors de la recherche sur cohorte de laboratoire (Hayase et al. 1997; Wagner, Loganbill, et Besselsen 2003) .

J. Polyomavirus du rat

Plusieurs polyomavirus sont susceptibles d'infecter le rat mais leur prévalence demeure inconnue. En effet, les effets pathogènes de ces virus ont d'abord été décrits au sein de populations de rats de laboratoires athymiques, soit immunodéprimés. Il s'agissait alors de signes peu spécifiques respiratoires (dyspnée, pneumonie) et d'une sialoadénite de la glande parotidienne. Aucune description de signes pathogènes n'a été réalisée chez des rats immunocompétents, chez qui l'on retrouve néanmoins en cas d'infection des antigènes viraux au niveau des glandes salivaires et du larynx, et parfois également au niveau des reins et de l'épithélium bronchiolaire (Barthold, Griffey, et Percy 2016; Tanaka et al. 2018).

À l'échelle microscopique, des inclusions intranucléaires peuvent être constatées dans l'épithélium des voies respiratoires, et parfois également au niveau des acini des glandes parotidiennes et jusque dans les poumons (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

Ces agents pathogènes sont rarement recherchés, en particulier chez des individus immunocompétents. Il a cependant été récemment démontré qu'il était possible de les rechercher par la méthode Amp-FTA, une technique de PCR directe à partir d'un écouvillon buccal (Tanaka et al. 2018).

K. Murine Pneumonia Virus

(a) Etiologie et épidémiologie

Il s'agit d'un virus à ARN simple brin dont le nom d'espèce officiel est *Murine orthopneumovirus* et qui appartient à la famille des *Pneumoviridae* et au genre *Orthopneumovirus*.

La transmission se fait par voie aérosol ou encore par contact direct avec le tractus respiratoire d'un rat infecté (Baker 1998).

À nouveau, un statut immunitaire déprimé apparaît comme facteur de risque de cette affection. Cet agent peut être retrouvé en co-infection avec d'autres agents pathogènes tels que *Mycoplasma pulmonis*. Une infection préexistante pourrait ainsi également être un facteur de risque (Barthold, Griffey, et Percy 2016).

(b) Symptomatologie

Chez les individus immunocompétents, aucun signe clinique n'est rapporté, et l'infection est de courte durée. En revanche, chez les rats immunodéprimés, on observe la mise en place d'une pneumonie chronique avec du jetage, une perte de poids et un décès de l'individu (Baker 1998).

(c) Diagnostic lésionnel

Des lésions macro- et microscopiques sont visibles dès six jours post-inoculation, sans pour autant que des signes cliniques soient nécessairement associés.

L'examen histologique peut mettre en lumière des lésions multifocales de périvasculite non suppurative, ainsi que des lésions de pneumonie interstitielle associée à une hyperplasie du BALT persistant plusieurs semaines. Ces lésions ne sont cependant pas pathognomoniques et nécessitent une confirmation diagnostique passant par la recherche d'une séroconversion au moyen d'un test ELISA (Barthold, Griffey, et Percy 2016; Rosenberg et Domachowske 2008).

(d) Diagnostic ante-mortem

Le diagnostic d'une telle affection se fait par sérologie ELISA (Pritchett-Corning, Cosentino, et Clifford 2009).

Partie II. Etude expérimentale

A. Objectifs de l'étude

Nous avons mené une étude prospective entre janvier 2019 et mai 2021 sur une population de rats de compagnie suivie par le service NAC de l'ENVT. Le principe de cette étude était de rechercher, chez tous les rats inclus, la présence ou non de *Mycoplasma pulmonis* par PCR sur flush nasal. Différents objectifs ont motivé ce travail :

- Recherche de la prévalence de *Mycoplasma pulmonis* au sein d'une population de rats de compagnie.
- Evaluation de la prévalence de formes respiratoires cliniques parmi les individus porteurs de *Mycoplasma pulmonis*
- Evaluation des facteurs prédisposant à l'expression clinique respiratoire chez les rats de compagnie

B. Matériel et méthodes

(a) Détermination de la population d'étude

Notre objectif étant de constituer le pool de rats le plus important possible, tous les rats présentés en consultation à l'ENVT ont été considérés comme candidats pour l'étude. Leur inclusion a été proposée à tous les propriétaires, dans le cadre d'une démarche diagnostique pour les rats présentés pour troubles respiratoires, ou dans le cadre d'un dépistage pour les autres.

A leur inclusion les rats ont été répartis dans trois groupes différents dépendant de leur état clinique :

- Groupe 1 : composé des rats présentant des signes d'atteinte respiratoire (éternuement, jetage, chromodacryorrhée, modification de la courbe respiratoire, ...)
- Groupe 2 : composé des rats ne présentant pas d'anomalie à l'examen clinique

- Groupe 3 : composé des rats présentant d'autres anomalies sans répercussions respiratoires (tumeur mammaire, atteinte dermatologique, atteinte locomotrice, ...)

Pour chaque rat inclus dans l'étude, il a été demandé aux propriétaires de remplir un questionnaire (cf Annexe 1) standardisé afin de recueillir pour chaque individu des données concernant :

- Son signalement : nom, âge, sexe, poids, note d'état corporel, provenance de l'animal ;
- Son environnement : type de substrat, fréquence de nettoyage, produit d'entretien utilisé, type d'alimentation, contact éventuel avec d'autres rats ou animaux d'autres espèces ;
- Son historique médical : antécédents médicaux, éventuels traitements administrés au cours des trois derniers mois, antécédents médicaux des autres éventuels rats en contact.

(b) Technique de prélèvement

Pour chacun des rats inclus dans l'étude, un flush nasal bilatéral sous sédation à l'isoflurane a été réalisé, dans la cadre d'une démarche diagnostique ou de dépistage.

La sédation s'est imposée afin de faciliter la réalisation des prélèvements et d'en limiter les biais techniques. Il a été demandé aux propriétaires, préalablement à chaque prélèvement, de signer un document de consentement éclairé à propos de l'anesthésie.

Avant prélèvement, chaque rat a été placé dans une boîte en plexiglas hermétique transparente reliée à un vaporisateur d'anesthésie TEC 3 délivrant de l'isoflurane à 5%, avec un débit de dioxygène à 1,5 L/min. La tranquillisation a été évaluée en inclinant délicatement la boîte sur le côté une fois le rat assoupi, pour vérifier l'absence de réaction. Chaque rat, une fois tranquilisé, a été placé en décubitus sternal en bord de table, tête vers le bas. Un assistant a été chargé de maintenir le rat en position tout en plaçant devant ses narines une tubulure délivrant de l'isoflurane à 5%. De manière concomitante, l'opérateur a instillé 0,5 mL de NaCl 0,9% stérile répartis équitablement dans les deux narines du rat. Les flushs ont été

réalisés avec une tubulure de cathéter violet (26 G) Neoflon court, de 19 mm de long et 0,6 mm de diamètre. Pour chaque rat, le produit du flush a été récupéré dans un tube Eppendorf™ stérile de 1,5 mL. Chaque échantillon a ensuite été conservé au congélateur à -20°C avant d'être analysé au laboratoire de l'école.

(c) Recherche par PCR de *Mycoplasma pulmonis*

Afin de détecter l'ADN de *Mycoplasma pulmonis*, une séquence de 266 paires de bases a été amplifiée. La séquence ciblée est celle classiquement utilisée dans la littérature (Chawla et al. 2017). Les deux amorces utilisées sont :

- AGCGTTTGCTTCACTTTGAA
- GGGCATTTCCTCCCTAAGCT

Pour la réalisation de la PCR, des désoxynucléotides libres, les deux amorces, l'enzyme et l'échantillon d'ADN sont placés dans le même tube.

✓ *Extraction de l'ADN*

Cette première étape se déroule au laboratoire pré-PCR et consiste à extraire l'ADN des différents échantillons à l'aide du kit Mag Fast d'ID gene™ et d'un robot d'extraction Ideal™ 32 permettant le traitement de 32 échantillons en vingt minutes. Le protocole suivi est celui décrit par le fabricant.

L'Ideal™ 32 permet l'extraction d'ADN par magnétisme, en s'appuyant sur des billes de silice.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1					Vide	9					Vide
B	2	Wash 1	Wash 2	Wash 3	Elution		10	Wash 1	Wash 2	Wash 3	Elution	
C	3	300 µL	300 µL	300 µL	80 µL		11	300 µl	300 µl	300 µl	80 µl	
D	4						12					
E	5						13					
F	6						14					
G	7						15					
H	8						Eau					

Figure 17 : Exemple de plan de plaque pour l'extraction d'ADN, (laboratoire d'analyse microbiologique de l'ENVT, Laetitia LEBRE)

Avant de débiter les manipulations, tous les échantillons ont été mélangés quelques secondes avec l'agitateur Vortex Genie Winn™ à vitesse 10 et ont subi une centrifugation de 5 secondes afin de les homogénéiser. Des plans des plaques ont également été schématisés, comme celui visible sur la Figure 17, afin de limiter les risques d'erreur au moment du remplissage des plaques.

- *Protocole d'extraction*

Pour chaque plaque Deepwell, les colonnes 1 et 7 ont été remplies comme suit :

- 125 µL de tampon de lyse prélevé avec une micropipette Gilson™ de 200 µL et des cônes Thermo Scientific™ de 200 µL.
- 310 µL de « mélange de billes » réalisé en mélangeant 10µL de Mag Fast Beads et 300µL de BB Fast, réactifs présents dans le kit Mag Fast ND. Un mélange global pour la totalité des puits a été réalisé en prélevant les volumes avec une pipette multicanaux « Multipette E3 » Eppendorf™. Afin d'être certains de ne pas manquer de préparation malgré les volumes morts, les calculs pour trouver la quantité à ajouter de chaque composant ont été basés sur un nombre « n+2 », « n » correspondant au nombre d'échantillons à passer à l'extracteur. Avant de prélever les microbilles, le tube les contenant a été agité quelques secondes au moyen d'un agitateur Vortex Genie Winn™ à vitesse 10 afin de décoller les billes du fond du tube. Finalement, le mélange a été ajouté à chaque puits en veillant à ne pas en toucher les rebords avec le cône.
- 50µL d'un échantillon dont on souhaite extraire l'ADN, prélevés au moyen d'une micropipette Gilson™ de 200 µL et d'un cône Thermo Scientific™ de 200 µL. Un échantillon différent a été déposé dans chaque puits des colonnes 1 et 7.

Les colonnes 2 et 8 ont été remplies avec 300 µL de liquide de lavage « wash 1 », les colonnes 3 et 9 avec 300 µL de liquide de lavage « wash 2 » et les colonnes 4 et 10 avec 300µL d'éthanol à 80%. À chaque fois, les puits ont été remplis en utilisant une micropipette multicanaux « Multipette E3 » Eppendorf™ et des cônes Thermo Scientific™ de 1000µL.

Enfin, les colonnes 5 et 11 ont été remplies avec 80 µL de tampon d'élution, tandis que les colonnes 6 et 12 ont été laissées vides. Les puits des colonnes 5 et 11 ont été remplis en utilisant une micropipette Gilson™ de 200 µL et des cônes Thermo Scientific™ de 200 µL.

Sur chaque plaque d'extraction, un témoin négatif a été réalisé en remplaçant dans les colonnes 1 et 7 l'ajout d'un échantillon par de l'eau afin de vérifier, après révélation des PCR, qu'aucune contamination n'a pu se produire entre les puits au moment de l'extraction.

Il aurait été préférable de disposer également d'un témoin positif d'extraction mais cela n'a pas été réalisé.

Une fois les plaques dûment remplies comme visible en exemple sur l'Annexe 2, elles ont été introduites dans l'Ideal™ 32 ayant préalablement subi un cycle de 15 minutes d'UV pour le purifier. Des peignes de protection stériles ont été positionnés en regard des aimants du robot avant de le refermer et de lancer un cycle d'extraction de 20 minutes.

Le principe de fonctionnement du robot extracteur et du kit est le suivant : les bactéries potentiellement contenues dans l'échantillon sont clivées par le tampon de lyse ajouté dans les puits des colonnes 1 et 7. L'ADN bactérien, chargé négativement, est alors libéré dans la solution et capté grâce aux interactions électromagnétiques par les billes de silice chargées positivement. À ce stade, les aimants de l'Ideal™ 32 permettent d'extraire des puits des première et septième colonnes les billes de silice et les fragments d'ADN qui y sont liés. Les billes sont ensuite transférées, avec l'ADN, dans les différents bains de lavage avant d'être séparées des fragments d'ADN dans le bain d'éluion. C'est dans ce dernier puits que l'ADN extrait est récupéré à l'issue de l'extraction.

✓ *Préparation du « Mix PCR »*

Il s'agit là du mélange dans lequel sont ajoutés les ADN extraits en vue de la réalisation de la PCR. La fabrication de ce mix s'est faite sous hotte, afin d'éviter toute contamination par des ADN environnants. Le mix PCR a été réalisé pour l'ensemble des échantillons dans le même tube Eppendorf stérile de 1,5 mL en mélangeant, dans cet ordre, les éléments suivants :

- 16,9 µL d'eau pure par échantillon à tester
- 2,5 µL de 10X KAPA Taq Buffer par échantillon à tester
- 1µL d'amorce MP2 10µM (amorce 5'-3' GGGCATTTCCTCCCTAAGCT) par échantillon à tester
- 1 µL d'amorce MP1 10µM (amorce 5'-3' AGCGTTTGCTTCACTTTGAA) par échantillon à tester
- 0,5 µL de désoxyribonucléotides 10mM par échantillon à tester

- 0,1 µL d'enzyme KAPA Taq 5U/µL par échantillon à tester

L'enzyme a systématiquement été ajoutée en dernier et conservée dans un bloc réfrigéré jusqu'au dernier moment pour éviter qu'elle ne se dégrade. À l'exception de celui contenant l'enzyme, tous les tubes contenant les différents éléments du mélange ont subi une étape d'homogénéisation de quelques secondes dans l'agitateur Vortex Genie Winn™ ainsi qu'une brève centrifugation avant d'être inclus dans le mix.

Le mix préparé a, toujours sous hotte, été distribué dans autant de puits de plaques PCR que d'échantillons à analyser, témoins compris. Avant de refermer les puits et de les sortir de la zone sous hotte, les témoins positif et négatif de PCR ont été ajoutés dans deux puits distinct. Pour le témoin positif, 3µL d'une solution contenant de l'ADN de *Mycoplasma pulmonis* ont été ajoutés à l'un des puits. Pour le témoin négatif, ce sont 3µL d'eau pure qui ont été ajoutés à un puits.

✓ *Étape d'amplification par PCR*

Une fois l'extraction terminée et le mix préparé, les produits d'extraction ont été récupérés dans les puits d'élution des plaques Deepwell avec une micropipette multicanaux « multipette E3 » Eppendorf™, et déposés dans des puits de plaque PCR stériles. En raison de la proximité des puits sur la plaque, chaque colonne de puits a été recouverte d'un couvercle dès son remplissage afin de limiter les risques de contamination entre puits voisins.

Dans un second temps, au moyen d'une micropipette multicanaux « multipette E3 » Eppendorf™, 3µL de chaque produit d'extraction ont été déposés dans les puits de plaque PCR contenant déjà le mix, en ajoutant un produit différent dans chaque puits.

Une fois tous les puits remplis, ils ont été rebouchés et centrifugés pendant 10 secondes, puis conservés sur glace en attendant de les placer dans le thermocycleur à PCR Doppio Ozyme™.

Ils ont alors été disposés dans un thermocycleur programmé selon les paramètres indiqués dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Réglages du thermocycleur Ozyme Doppio™ pour la réalisation de l'amplification par PCR

Conditions		
T(°C)	Temps	Cycles
95	180 sec	1
95	30 sec	40
55	30 sec	
72	30 sec	
72	60 sec	1

✓ *Préparation de la gélose d'agarose en vue de la révélation*

L'étape de révélation se fait en faisant migrer sur gel d'agarose à 1 à 2% les produits de PCR. Ceci permet d'identifier les produits amplifiés en fonction de leur poids moléculaire, par comparaison avec les marques de migration d'un marqueur de poids moléculaire.

La première étape consiste à fabriquer la gélose d'agarose. Pour ce faire, on dilue dans un erlenmeyer en verre 1 g d'agarose en poudre pesé au moyen d'une balance dotée d'une précision à 0,1 g dans 100 mL de TBE dilué dans de l'eau à 0,5%. Ce volume est mesuré à l'aide d'une éprouvette graduée dotée d'une précision au millilitre. Le mélange est ensuite placé dans un four à micro-ondes à puissance maximale, sans être rebouché, jusqu'à ébullition. Une fois l'ébullition enclenchée, il est sorti du four à micro-ondes. À ce stade, une vérification visuelle est effectuée pour contrôler l'absence de particules d'agarose non dissoutes dans le mélange. Ce contrôle réalisé, le mélange est refroidi à température ambiante pendant quinze minutes.

Lorsque l'erlenmeyer n'est plus brûlant, une portion du mélange est transférée dans un bécher en plastique. On ajoute ensuite dans le mélange du SYBR Safe ND, un agent intercalant de l'ADN réagissant aux UV et permettant donc la révélation des bandes de migration sous lampe à UV après électrophorèse. Le SYBR Safe ND doit se trouver à une concentration d'1/20000 dans le mélange contenu dans le bécher. Il est ajouté au moyen d'une micropipette de 10 µL et de cônes Thermo Scientific™ de 10 µL, et le mélange est remué directement après l'ajout pour permettre son homogénéisation.

Le mélange complet est ensuite versé dans un moule à gélose contenant un support en plastique et un peigne de 6 à 12 dents selon le format de la gélose. Ces derniers ne doivent pas toucher la base du support afin que les puits qu'ils formeront ne laissent pas échapper le produit déposé à l'intérieur par le fond.

Une fois la gélose coulée, elle est placée à l'obscurité pour ne pas faire réagir le SYBR et on attend au moins dix minutes, temps nécessaire à sa solidification.

✓ *Mise en place de l'électrophorèse*

La gélose solidifiée, les peignes sont retirés précautionneusement et elle est placée dans une cuve à électrophorèse puis recouverte de tampon de migration TBE 0,5%.

Vient ensuite l'étape de remplissage des puits. Avant toute chose, nous avons ajouté à chaque échantillon amplifié par PCR 5 μ L de colorant de charge d'ADN DYE bleu Thermo Scientific™, et homogénéisé les solutions. Ce produit permet d'augmenter le poids des échantillons déposés dans les puits, évitant ainsi qu'ils ne remontent dans le tampon.

Pour chaque électrophorèse, l'un des puits a été rempli de 5 μ L de marqueur de poids moléculaire 100 pb. Les différentes bandes de migration de ce produit servent d'échelle de lecture pour connaître le poids moléculaire des fragments d'ADN amplifiés par PCR dans les échantillons. Les autres puits ont été chacun remplis de 10 μ L d'échantillon amplifié associé au colorant de charge. Autant que possible, sur tous les gels, un puits a été rempli du témoin positif de PCR. Le témoin négatif n'a, pour sa part, migré qu'une seule fois afin de confirmer le bon déroulement de la PCR.

Une fois tous les puits remplis, la cuve d'électrophorèse a été branchée au générateur en reliant le câble noir à l'entrée noire (négative) et le câble rouge à l'entrée rouge (positive). La migration s'est ensuite faite de la borne négative à la borne positive, pendant 30 minutes à 5,8V/cm, dans l'obscurité, toujours par souci de ne pas faire réagir le SYBR avec la lumière ambiante.

✓ *Lecture des résultats de l'électrophorèse*

À l'issue de la migration, la cuve d'électrophorèse a été débranchée et la gélose extraite. Elle a ensuite été placée sous une lampe bleue dans la pénombre. À la lecture de la première électrophorèse d'une série PCR, avant de s'intéresser aux résultats

concernant les échantillons issus des rats de l'étude, certains éléments de contrôle ont été vérifiés :

- Vérification que le contrôle négatif d'extraction ne présente pas de bandes de migration. En effet, en l'absence de contamination entre les puits lors de l'extraction, aucun ADN de *Mycoplasma pulmonis* ne devrait se trouver dans ce témoin. Il est cependant acceptable de constater des bandes de migration de faible poids moléculaire, de l'ordre de moins de 100 paires de bases. Effectivement, le fait que des désoxyribonucléotides aient été ajoutés peut expliquer la formation de petits peptides formant une bande de migration de faible poids moléculaire, mais celle-ci ne doit pas dépasser 100 pb pour considérer que l'étape d'extraction n'a pas été contaminante.
- Vérification que le témoin négatif de la PCR ne présente pas de bande de migration, ou à faible poids moléculaire, et que le témoin positif migre bien à 266 pb, bande attendue lors de la présence d'ADN de *Mycoplasma pulmonis* dans l'échantillon.

Ceux-ci étant vérifiés, il est possible de s'intéresser à la lecture des résultats pour tous les échantillons de rats testés et de rechercher la présence d'une bande de migration à 266 paires de bases, taille des fragments ciblés de *Mycoplasma pulmonis* par la PCR.

(d) Séquençage des fragments amplifiés par PCR

Bien que la littérature scientifique indique que la technique PCR est très spécifique de *Mycoplasma pulmonis*, nous avons choisi de séquencer les fragments d'ADN amplifiés pour 5 rats symptomatiques et 5 rats asymptomatiques afin de vérifier que les rats de l'étude étaient bien infectés par *Mycoplasma pulmonis* et non par une autre souche de mycoplasmes.

Pour ce faire, 5 échantillons de rats asymptomatiques et 5 échantillons de rats atteints de signes respiratoires ont été sélectionnés au hasard après PCR afin d'être séquencés.

✓ Purification de l'ADN

La purification de l'ADN a été réalisée au moyen du kit Nucleospin™ PCR clean-up employant une membrane de silice.

Dans un premier temps, les échantillons amplifiés ont été transférés dans des tubes Eppendorf™ d'1,5 mL et mélangés à de l'eau purifiée afin que chaque échantillon présente un volume de 100 µL. Selon les échantillons, ce sont entre 80 et 90 µL d'eau purifiée qui ont ainsi été ajoutés au moyen d'une micropipette Gilson™ de 200 µL et de cônes Thermo Scientific™ de 200µL.

Ensuite, 200 µL de tampon NT1 permettant la liaison de l'ADN ont été ajoutés à chaque échantillon au moyen d'une micropipette de 1000 µL et de cônes adaptés. À l'issue de cette étape, tous les échantillons ont été agités quelques secondes au Vortex Genie Winn™ puis centrifugés quelques secondes afin d'éviter la présence de gouttelettes résiduelles sur les parois des tubes.

Puis, chaque échantillon de 300 µL a été transféré sur une colonne de nettoyage placée sur un tube et contenant une membrane de silice. À ce stade, toutes les colonnes ont été centrifugées une première fois à 11000 g pendant 30 secondes, puis transposées sur des tubes propres tandis que le produit liquide résiduel a été jeté dans un flacon dédié à la gestion des déchets de laboratoire et que chaque tube usagé a été éliminé en poubelle DASRI.

Deux cycles de lavage ont ensuite été réalisés comme suit :

- Ajout de 670µL de tampon NT3 dans chaque colonne au moyen d'une micropipette de 1000 µL et de cônes adaptés.
- Centrifugation des colonnes montées sur tubes à 11000 g pendant 30 secondes.
- Élimination du produit liquide résiduel et des tubes usagés et transfert des colonnes sur des tubes propres.

À l'issue de ces cycles, les colonnes montées sur des tubes propres ont à nouveau été centrifugées à 11000 g pendant une minute afin de les sécher. Comme pour les étapes précédentes, les tubes ont été éliminés et les colonnes ont été disposées sur des tubes Eppendorf™ d'1,5mL après centrifugation. Enfin, 20µL de tampon d'élution

ont été ajoutés à chaque colonne. Après une minute à température ambiante, les colonnes montées sur tubes Eppendorf™ ont été une dernière fois centrifugées pendant une minute à 11000 g.

À ce stade, l'ADN amplifié et purifié se trouvant dans le produit de l'élution au fond des tubes Eppendorf™, les colonnes ont à leur tour été jetées en poubelle DASRI.

✓ *Préparation des échantillons pour le séquençage*

Pour chaque échantillon d'ADN purifié, 5 µL ont été transférés avec une micropipette de 10 µL dans deux tubes d'1 mL contenant, pour l'un 5µL d'amorce MP1 10µM, et pour l'autre 5µL d'amorce MP2 10µM.

Enfin, les 20 échantillons ont été étiquetés pour être envoyés à un laboratoire prestataire afin d'être séquencés par méthode Sanger.

✓ *Analyse des séquences*

Les séquences brutes et les chromatogrammes ont été lus avec le logiciel BioEdit version 7.2.5. Les chromatogrammes ont d'abord été évalués visuellement évaluer la qualité des séquences. Les séquences sens et anti-sens issues d'un même prélèvement ont ensuite été alignées avec le programme ClustalW Multiple Alignment (paramètres par défaut) et une séquence consensus a été créée pour chaque échantillon. Les séquences des dix échantillons ont ensuite été alignées manuellement et une recherche de correspondance avec des séquences publiées a été réalisées sur la banque de données du *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) grâce à l'outil *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST).

(e) Etude statistique

Les résultats ont intégralement été analysés en utilisant le logiciel Excel®.

✓ *Analyse statistique descriptive de la population d'étude*

L'ensemble des informations figurant sur la fiche de renseignements présentée en Annexe 1 a été rentré dans un tableau Excel, dans un premier temps de façon complète, en intégrant la totalité des informations fournies par les propriétaires, puis en regroupant certains paramètres entre eux afin de simplifier l'analyse statistique.

Les âges des rats ont été transcrits en tranches d'âge, répartissant la population selon les tranches « < 1 an », « 1-2 ans » et « 2-3 ans ».

Les poids et notes d'état corporel ont également été simplifiés, classant les rats selon qu'ils pèsent plus ou moins de 300 grammes et en fonction d'une note d'état corporel inférieure, supérieure ou égale à 3/5. La répartition des notes d'état corporel a été choisie ainsi pour distinguer les rats au poids anormal des autres, le poids effectif ne permettant pas de savoir à lui seul si l'individu concerné est en surpoids ou non.

Concernant le type de litière et la fréquence de nettoyage, les propriétaires ayant donné des réponses extrêmement variées, il a été choisi de regrouper ces paramètres en une seule variable et de faire une distinction entre les rats bénéficiant d'une bonne litière changée fréquemment ou non, et ceux recevant une litière inadaptée, peu importe la fréquence de nettoyage. L'appréciation de la qualité d'une litière a été faite en fonction des données actuellement connues, à savoir en particulier que les granulés de bois et copeaux de résineux sont irritants pour les voies respiratoires des rats et donc inadaptés, contrairement au chanvre ou à la rafle de maïs par exemple (Graham et Schoeb 2011). Concernant la fréquence de nettoyage, elle a été considérée comme fréquente lorsqu'au moins deux nettoyages par semaine étaient effectués.

L'alimentation a été catégorisée selon l'aliment principal de la ration des rats. Aussi, deux groupes ont été définis, selon que les rats recevaient des extrudés, ou au moins 50% de mélange de graines comme aliment principal.

Concernant les congénères, la variable a été simplifiée en présence ou non de congénères dans l'environnement du rat testé.

Les antécédents médicaux des rats et de leurs congénères ont pour leur part été résumés aux antécédents d'affections respiratoires, les autres antécédents étant considérés comme n'ayant pas de lien avec notre question d'étude.

Enfin, pour tous les rats symptomatiques, nous avons recherché dans leur dossier Clovis (logiciel d'archivage des données médicales) si les symptômes étaient apparus dans la semaine suivant leur adoption, auquel cas les signes étaient considérés comme apparus « post-adoption ». Nous avons également recherché une éventuelle chronicité et, en cas de données suffisamment anciennes, le degré d'efficacité du traitement effectué en première intention, à savoir un traitement anti-inflammatoire (meloxicam 0,5 mg/kg par voie orale deux fois par jour pendant 7 jours) plus ou moins associé à une antibiothérapie non critique (Doxycycline 5 mg/kg par voie

orale deux fois par jour pendant 21 jours) et à des inhalations d'huiles essentielles. Le traitement était considéré comme efficace en cas de disparition complète des signes cliniques, modérément efficace en cas d'atténuation des signes sans disparition complète, et non efficace en cas d'absence totale d'amélioration, voire en cas d'aggravation de la symptomatologie.

La symptomatologie des rats a été consignée dans un premier temps de manière exhaustive (cf Annexe 3), puis a également été classée en fonction de trois catégories : l'absence totale de signes (classe « Absence de signes »), la présence d'éternuements seuls (classe « atteinte modérée »), ou la présence d'autres signes respiratoires de type dyspnée, augmentation des bruits respiratoires ou jetage, associés ou non à des éternuements (classe « marquée »). Nous avons opté pour cette répartition sur le postulat que des éternuements seuls, sans jetage associé, traduisent plutôt une atteinte respiratoire haute sans répercussion importante sur la fonction respiratoire, tandis que d'autres signes associés ou non à ces éternuements sont plutôt en faveur d'une atteinte plus importante. Cette fragmentation tente donc d'approcher au mieux une répartition des rats en fonction de la sévérité de leurs signes cliniques. Pour l'analyse statistique, les classes ont été regroupées en deux ensembles, selon que les rats présentaient ou non des signes respiratoires.

Le tableau Excel contenant toutes les données simplifiées comme présentées ci-dessus est disponible en Annexe 4.

✓ *Analyse de la relation entre les paramètres relevés et la symptomatologie associée à *Mycoplasma pulmonis**

Dans un second temps, la symptomatologie des rats a été analysée en fonction des différents paramètres à notre disposition afin d'apprécier le rôle de ces paramètres dans l'apparition de signes cliniques respiratoires chez les rats étudiés.

Pour ce faire, nous avons utilisé le logiciel Excel pour réaliser des analyse statistiques bivariées en utilisant principalement le test de Fisher exact et, lorsque les conditions étaient réunies, le test du Khi 2.

À chaque fois, un paramètre a été considéré comme influençant la sévérité du tableau clinique lorsque la p-value associée était inférieure à 0,05.

C. Résultats

(a) Analyse de la population d'étude

L'analyse de la population d'étude a été réalisée au moyen des données des fiches de renseignements ainsi que de certaines données figurant sur les dossiers Clovis des individus, stockés dans la base de données de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Au total, 37 rats issus de 18 foyers sont entrés dans l'étude. Au sein de cette population, 51% des individus ont été présentés en consultation pour troubles respiratoires, 32% pour troubles cutanés, 8,5% pour boiterie et 8,5% sans aucune atteinte.

✓ Répartition selon les sexes

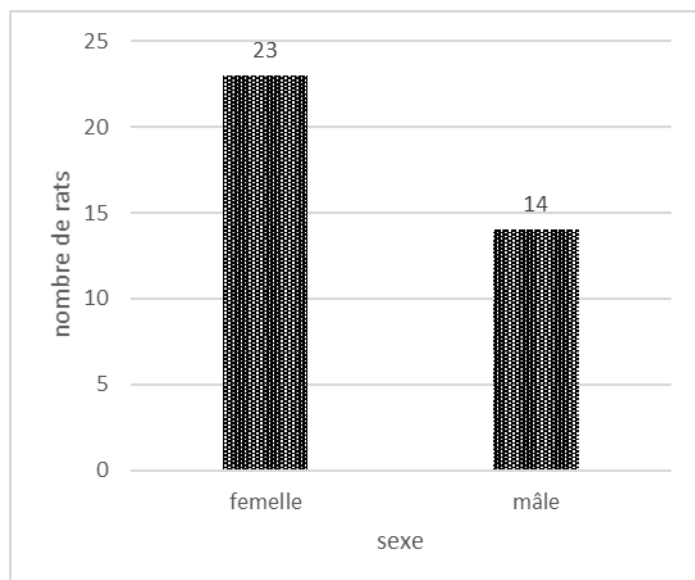


Figure 18 : Graphique de répartition des sexes dans le groupe étudié

On remarque sur la Figure 18 que la population d'étude ne présente pas une répartition homogène entre mâles et femelles. 62% des individus de la population sont des femelles tandis que 38% sont des mâles. Sur ce point, il est à noter que 90% des rats inclus dans l'étude vivent avec des congénères. Souvent, les propriétaires venant consulter à la clinique pour l'un de leurs rats ont amené les autres avec eux, nous permettant d'inclure à la fois le rat malade et ses congénères dans l'étude. Or, 100% des rats inclus en groupe dans l'étude sont issus de groupes non mixtes. Aussi, le ratio des sexes a été influencé par le nombre de rats présentés par un même propriétaire.

Notons en particulier qu'un propriétaire a inclus six femelles d'un même groupe dans l'étude.

✓ *Distribution selon les tranches d'âges*

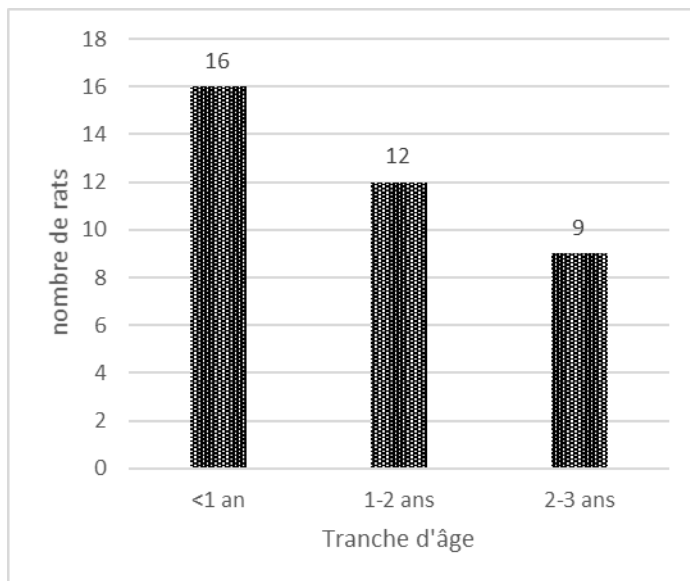


Figure 19 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction des tranches d'âges

À nouveau, la distribution n'est pas complètement équitable. On constate de façon prévisible sur la Figure 19 que le nombre d'individus est inversement proportionnel à la tranche d'âge. On note ainsi que 43% des rats ont moins d'un an, 32% ont entre un et deux ans et 24% ont entre deux et trois ans. Cette répartition pyramidale peut s'expliquer par la longévité de l'espèce qui est d'environ trois ans.

✓ *Distribution de la population en fonction du poids*

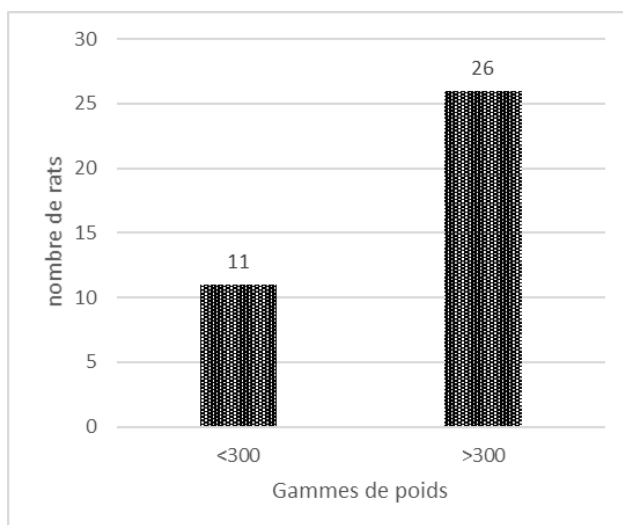


Figure 20 : Graphique de répartition des individus de l'étude selon leur poids

Le graphique de la Figure 20 montre que les individus de poids important prédominent dans la population, avec 70% des individus pesant plus de 300 grammes. La bibliographie met en cause l'obésité parmi les facteurs de risque de déclenchement d'une mycoplasmosse symptomatologique chez le rat. Néanmoins, la seule connaissance du poids des individus ne permet pas d'en déduire un éventuel surpoids. Aussi, intéressons-nous à la note d'état corporel qui a été enregistrée pour chaque rat inclus dans l'étude.

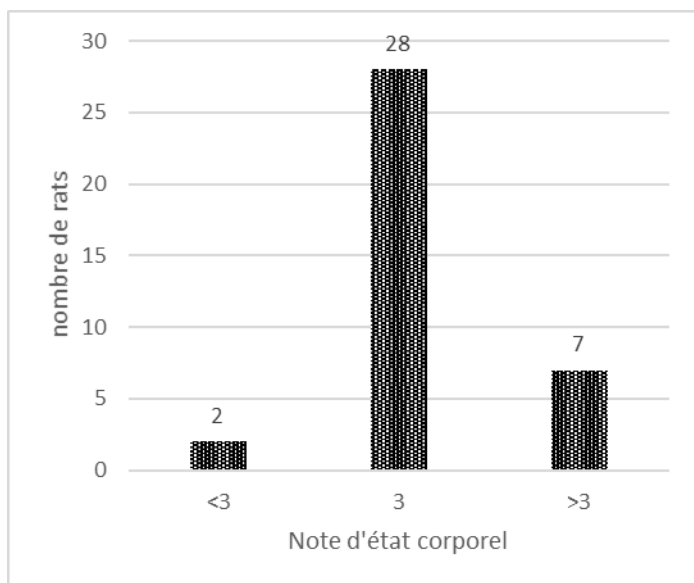


Figure 21 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de la note d'état corporel

On remarque sur le graphique de la Figure 21 que 76% de la population d'étude présente une note d'état corporel de 3, soit un poids idéal. Toutefois, 19% des individus sont en surpoids, facteur non-négligeable à prendre en compte dans l'analyse des résultats.

Si l'analyse des poids effectifs ne nous apporte pas cette information, elle nous indique néanmoins que la plupart des rats inclus sont de gabarit moyen à grand, permettant une mise en application plus aisée et plus standardisée du protocole de prélèvement.

✓ *Distribution de la population d'étude en fonction de la clinique*

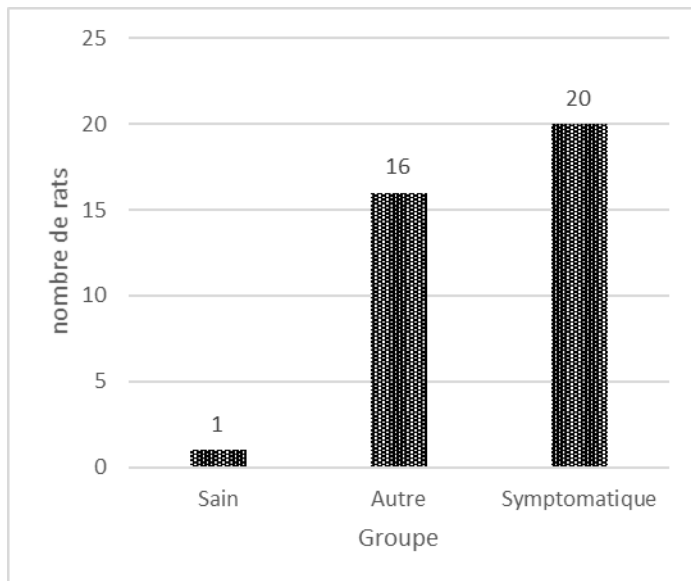


Figure 22 : Graphique de répartition des individus de l'étude en fonction de leur groupe

Comme cela a déjà été exposé dans la partie « matériel et méthodes », les individus de la population d'étude ont été répartis en trois groupes selon qu'ils présentaient des signes cliniques d'atteinte respiratoire (groupe « Symptomatique »), qu'ils étaient parfaitement sains (groupe « Sain ») ou encore qu'ils présentaient des atteintes non respiratoires (groupe « Autre »).

On constate à la lecture du graphique de la Figure 22 que 54% des rats présentaient des signes respiratoires au moment du prélèvement tandis que 46% n'en présentaient aucun.

Cette répartition faite, des sous-groupes ont été réalisés au sein du groupe « symptomatique » afin de préciser l'atteinte clinique.

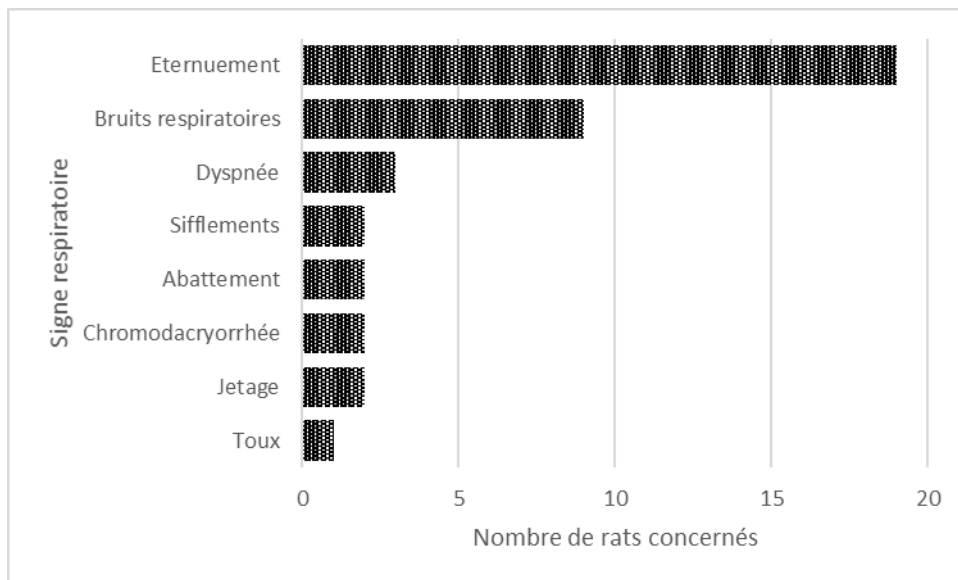


Figure 23 : Graphique présentant les différents signes cliniques présentés par les individus symptomatiques ainsi que leur occurrence

Le graphique ci-dessus (Figure 23) présente les différents signes relevés chez les individus atteints de troubles de l'appareil respiratoire. On note une occurrence marquée des éternuements, signe particulièrement peu spécifique pouvant être associé à une maladie infectieuse ou simplement environnementale. Parmi les autres signes, on peut noter que l'abattement, signe non respiratoire, figure sur ce graphique. Il a en effet été retenu en tant que facteur de sévérité de l'atteinte.

Comme expliqué dans la partie « matériels et méthodes », pour la suite de l'analyse des résultats, il a été décidé de grouper tous les individus symptomatiques dans une catégorie « signes respiratoires ». Cependant, pour certaines analyses, nous avons choisi de répartir la population « symptomatique » en fonction de la présence d'éternuements seuls (groupe « atteinte modérée »), ou de signes respiratoires autres, associés ou non à la présence d'éternuements (groupe « atteinte marquée »).

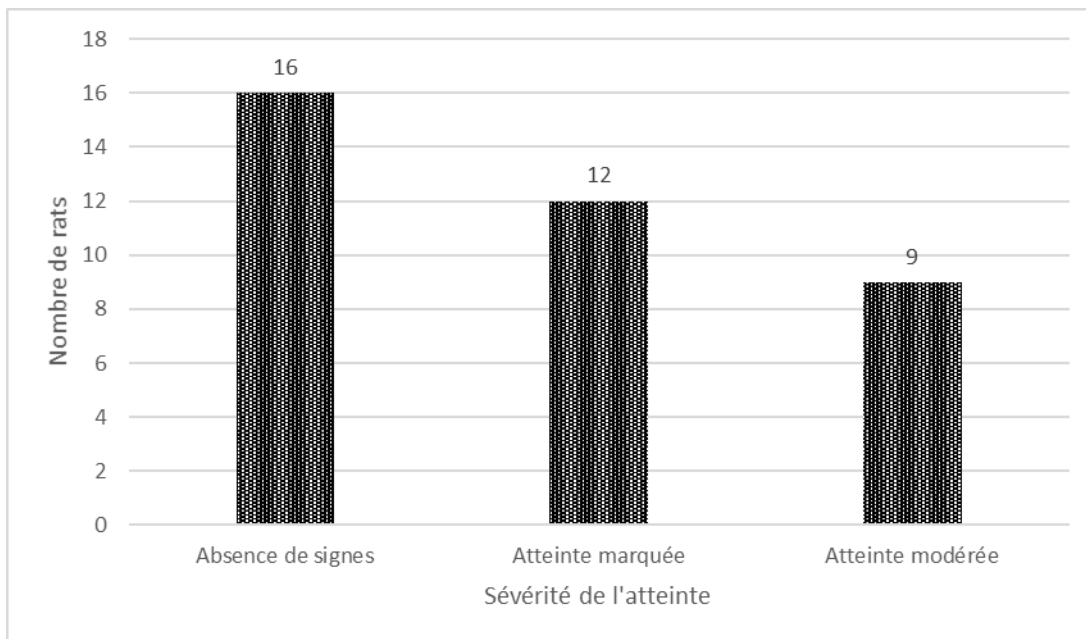


Figure 24 : Graphique de répartition de la population étudiée en fonction de la sévérité de l'atteinte respiratoire

Sur la Figure 24, on remarque que 43% des individus ne présentent aucun trouble respiratoire. En revanche, 24% des individus de l'étude présentent une atteinte modérée avec des éternuements pour seuls signes et 32% présentent une atteinte marquée.

✓ *Distribution de la population d'étude en fonction de l'origine*

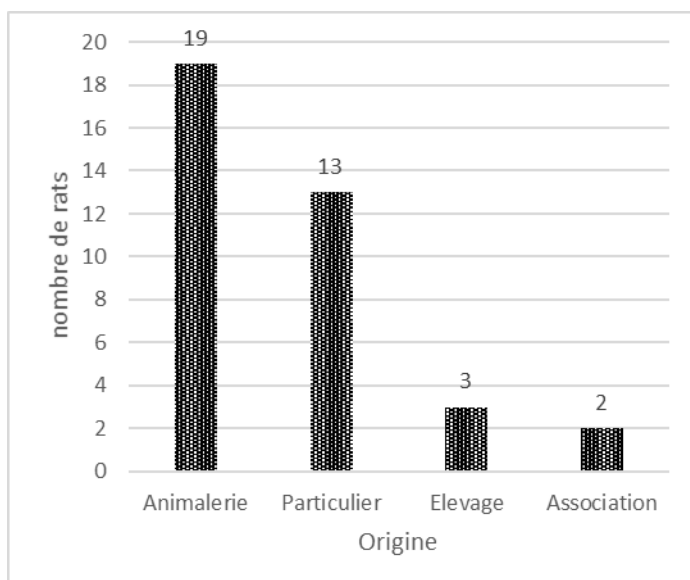


Figure 25 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de la provenance des rats

La Figure 25 révèle que 51% des individus inclus dans l'étude proviennent d'animalerie et que 35% sont issus de particuliers. Les individus originaires

d'association ou d'élevage sont bien moins représentés dans la population, avec une occurrence inférieure à 10% dans les deux cas.

- ✓ *Distribution de la population en fonction du type de litière et de la fréquence de nettoyage*

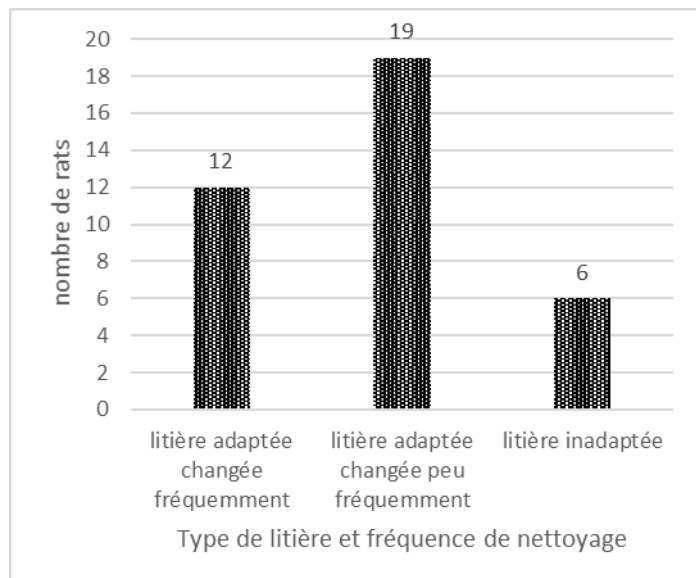


Figure 26 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction du type de litière mise à disposition des rats et de sa fréquence de nettoyage

Signalons ici que, bien que cela ne figure pas sur le graphique de la Figure 26, 100% des individus de l'étude vivent dans une cage grillagée et non dans une cage pleine empêchant l'aération.

Le type de cage et la litière sont deux paramètres massivement impliqués dans les troubles respiratoires. En effet, une cage manquant d'aération sera propice à l'accumulation d'ammoniac dans l'air ambiant, de même qu'une litière inappropriée ou insuffisamment nettoyée. L'uniformité du type de cage hébergeant les rats de l'étude nous permet de nous affranchir de ce paramètre et de nous intéresser à l'impact du type de litière et de la fréquence de nettoyage sur la santé respiratoire des rats.

Parmi les rats de l'étude, 84% bénéficient d'une litière adaptée, de type copeaux de bois non résineux ou de chanvre, rafle de maïs ou plaid, et pour 38% d'entre eux, la litière est changée fréquemment (plus d'une fois par semaine).

Finalement, seuls 16% des individus de la population ont une litière inadaptée de type granulés de bois.

Cependant, le type de produit utilisé pour nettoyer la litière doit également être pris en compte. En effet, un produit inadapté ou mal rincé peut être à l'origine de troubles respiratoires par irritation de l'arbre respiratoire.

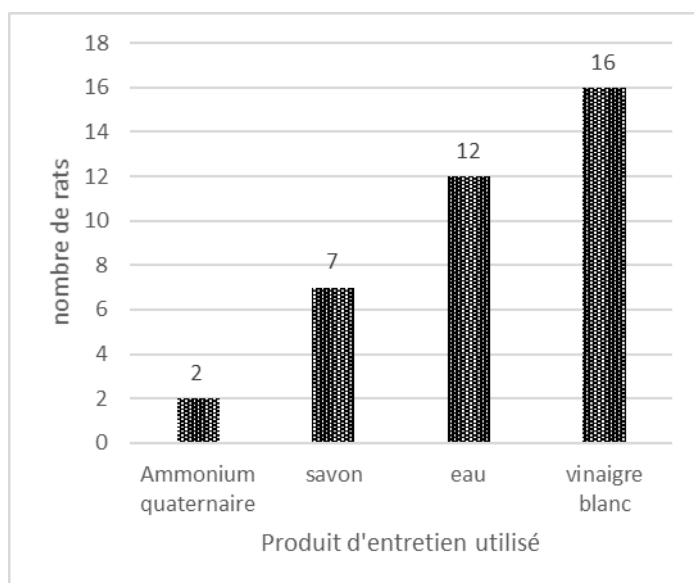


Figure 27 : Graphique des différents produits utilisés pour le nettoyage de la litière des individus de l'étude

Concernant les produits appliqués pour le nettoyage de la litière, aucun des produits utilisés pour les rats de l'étude, et présentés sur la Figure 27 n'est à proscrire. Néanmoins, bien que les ammoniums quaternaires et le vinaigre blanc soient efficaces contre la plupart des agents infectieux, il faut que ces produits soient bien rincés pour ne pas risquer de devenir irritants pour les voies respiratoires des rats. Les produits les plus utilisés pour les litières des rats de notre étude sont le vinaigre blanc pour 43% des rats et l'eau sans produit d'entretien pour 32% de la population. L'eau ne présente aucun risque nocif pour les voies respiratoires, en revanche elle n'a bien-sûr aucun pouvoir désinfectant.

✓ *Distribution de la population en fonction du type d'aliment principalement distribué*

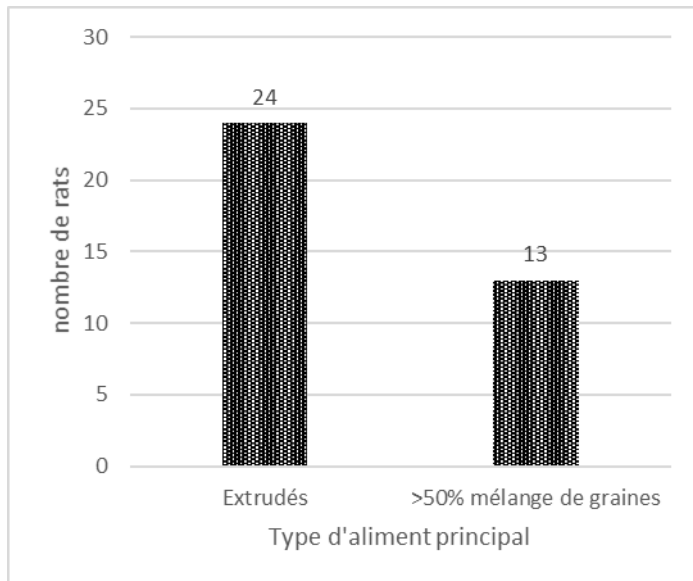


Figure 28 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de l'aliment principal de la ration

À la lecture de la Figure 28, il apparaît que 65% des individus de la population étudiée reçoivent une alimentation principalement composée d'extrudés, 19% reçoivent une alimentation essentiellement à base de graines et 16% reçoivent un mélange des deux.

Lorsqu'ils sont de bonne qualité (formulation adaptée au régime alimentaire omnivore des rats, peu gras, équilibrés), les extrudés correspondent à l'alimentation recommandée pour les rats car ils permettent une alimentation complète sans possibilité de tri. Ce n'est pas le cas des mélanges de graines qui permettent un tri et entraînent davantage de risques d'obésité et d'apparition de carences en vitamines A et E, favorisant la fixation des mycoplasmes sur l'épithélium respiratoire (Quesenberry et Carpenter 2012).

✓ *Distribution de la population d'étude en fonction de la présence ou non de congénères dans l'environnement*

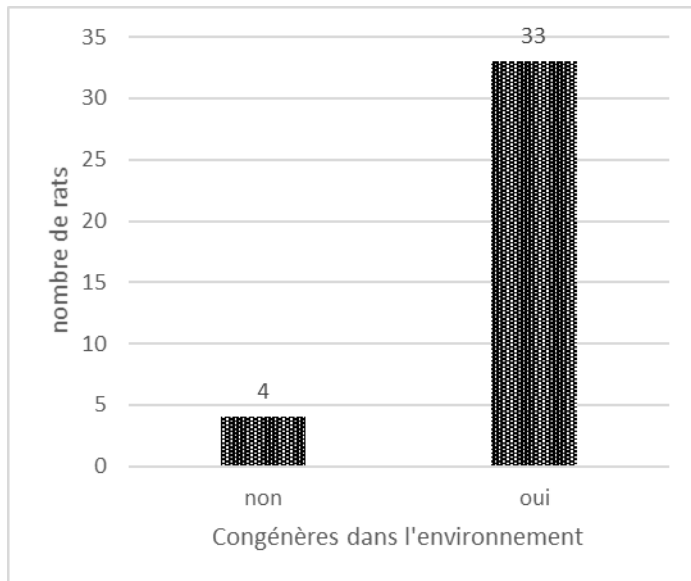


Figure 29 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de la présence ou non de congénères dans l'environnement

Le graphique sur la Figure 29 présente la distribution de la population d'étude en fonction de la présence ou non de congénères dans l'environnement des rats. Comme cela a déjà été évoqué dans le paragraphe d'analyse de la répartition de la population selon les sexes, ce déséquilibre de distribution vient du fait que très souvent l'ensemble des groupes étaient prélevés et qu'ainsi 90% de la population étudiée vit en groupe.

Mycoplasma pulmonis présentant une contagiosité faible, la vie en collectivité ne constitue pas nécessairement un facteur d'augmentation du risque de contamination. En revanche, la vie en collectivité augmente le risque de développement de déséquilibres environnementaux tels qu'une surpopulation ou une surcharge de l'air ambiant en ammoniac en cas d'accumulation d'urines (Graham et Schoeb 2011).

✓ *Analyse des antécédents respiratoires du groupe symptomatique*

Nous nous sommes intéressés plus précisément aux antécédents du groupe d'individus présentant des symptômes respiratoires.

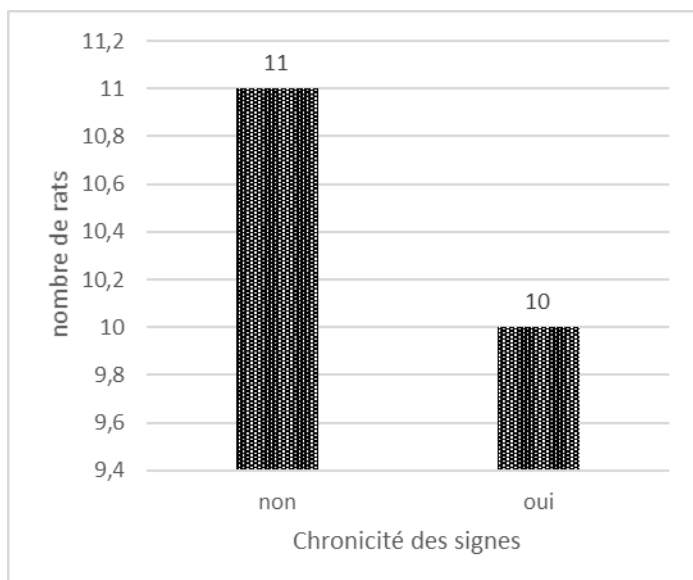


Figure 30 : Graphique de répartition des individus en fonction de la chronicité ou non de leurs signes cliniques

Au sein du groupe présentant des symptômes respiratoires, 52% sont affectés de manière chronique (Figure 30). Parmi ces individus, tous ne présentent pas le même degré de réponse au traitement de première intention. La répartition de la population symptomatique en fonction de la réponse au traitement de première intention est représentée sur le graphique en Figure 31.

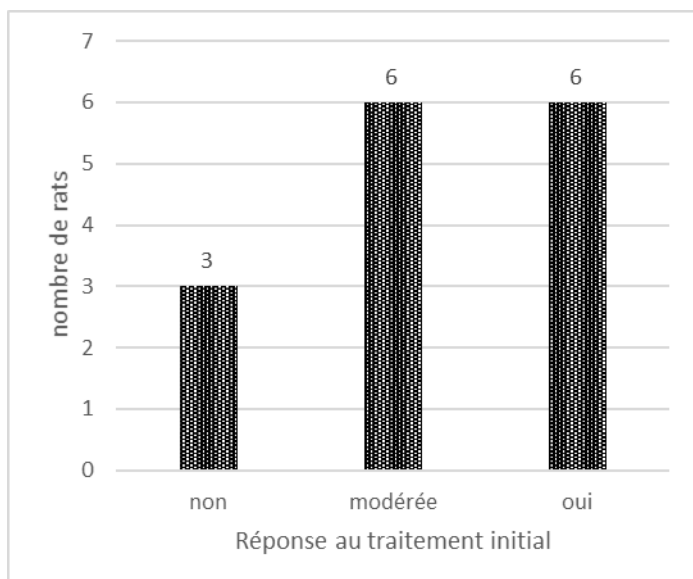


Figure 31 : Graphique de répartition de la population symptomatique en fonction de la réponse au traitement de première intention

Sur la Figure 31, ne figurent que les individus pour lesquels nous disposions d'informations concernant la réponse au traitement de première intention. Parmi ces individus, 80% présentent une réponse au moins partielle au traitement dont la moitié présente une réponse complète. Cette analyse doit néanmoins être interprétée avec

précaution car le traitement de première intention n'a pas été systématisé pour l'ensemble des rats. Aussi, certains n'ont reçu qu'un anti-inflammatoire en première intention, et ceux ayant reçu un antibiotique n'ont pas toujours reçu la même molécule.

Enfin, la mycoplasmosse murine étant une affection pouvant se déclarer secondairement à un stress ou une modification environnementale, nous avons recensé, à partir des dossiers Clovis des rats symptomatiques, les rats ayant déclaré des signes cliniques dans la semaine suivant leur adoption.

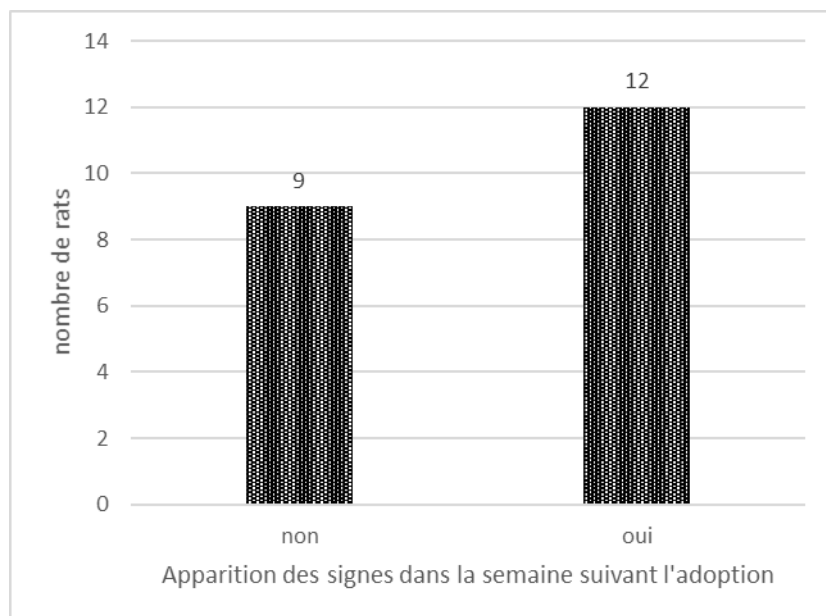


Figure 32 : Graphique de distribution des individus symptomatiques de l'étude en fonction de la proximité d'apparition des symptômes par rapport à l'adoption

On constate sur la Figure 32 que 57% des individus symptomatiques ont déclaré les premiers signes cliniques dans la semaine suivant leur adoption. Pour ces rats-là, le stress du changement d'environnement doit être considéré comme un potentiel catalyseur de l'apparition des signes cliniques.

(b) Présentation des résultats de l'étude PCR et du séquençage

✓ *Amplifications par PCR*

Les résultats des différentes électrophorèses ont été photographiés. Les figures ci-dessous correspondent aux photographies des résultats de lecture de gélodes d'une même série PCR.

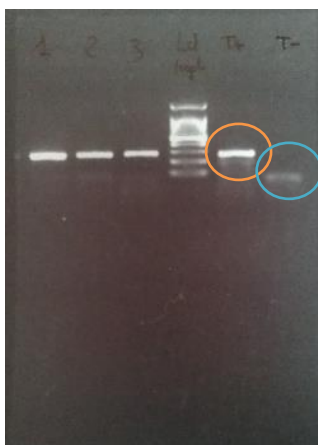


Figure 33 : Résultat d'électrophorèse. De gauche à droite : échantillons 1, 2 et 3, Ladder, Témoin (+), Témoin (-) (laboratoire de microbiologie de l'ENVT)

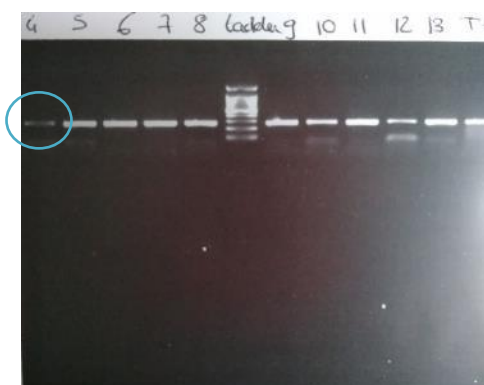


Figure 34 : Résultat d'électrophorèse. De gauche à droite : échantillons 4, 5, 6, 7 et 8, Ladder, échantillons 9, 10, 11, 12, et 13, Témoin (+) (laboratoire de microbiologie de l'ENVT)

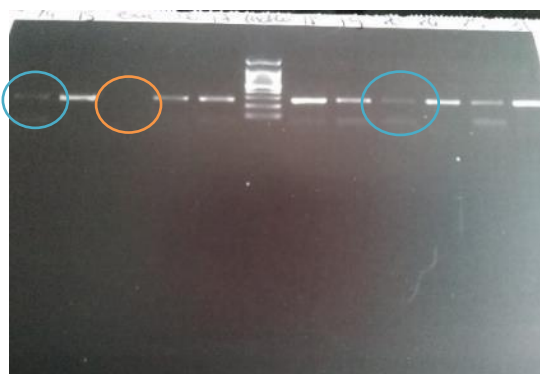


Figure 35 : Résultat de l'électrophorèse d'échantillons amplifiés. De gauche à droite : échantillons 14 et 15, Eau, échantillons 16 et 17, Ladder, échantillons 18, 19, 20, 24, 25 et 31 (laboratoire de microbiologie de l'ENVT)

Avant d'analyser les résultats pour les échantillons testés, les points de contrôle énoncés au paragraphe « matériels et méthodes » sont à vérifier.

- Absence de contamination à l'étape d'extraction de l'ADN : ce point de contrôle est encerclé en orange sur la Figure 35. On observe l'absence totale de bande de migration sur cette colonne contrôle, indiquant qu'il n'y a pas eu de contamination lors de l'extraction des ADN.
- Amplification correcte du témoin de PCR positif : ce point de contrôle est encerclé en orange sur la Figure 33. On observe en effet la présence d'une bande de migration marquée dans la colonne du témoin positif. Lorsqu'on

compare cette bande avec celles du Ladder, on s'aperçoit qu'elle se trouve entre la bande de marquage 200 pb et celle de marquage 300 pb. Cette localisation correspond bien au fragment d'ADN de *Mycoplasma pulmonis* de 266 pb amplifié par la technique PCR.

- Absence de migration du témoin de PCR négatif : ce point de contrôle est encerclé en bleu sur la Figure 33. On observe en effet l'absence de bande de migration autour de 266 pb. On remarque qu'une bande de migration de faible intensité est présente à moins de 100 pb. Il s'agit le plus probablement de dimères de nucléotides formés au cours de la PCR. Ceci n'empêche pas de considérer le témoin négatif de PCR comme correct.

Tous les points de contrôle étant vérifiés, il est possible de lire les résultats concernant les échantillons des individus de l'étude. On remarque sur les trois figures prises en exemple que toutes les PCR sont positives. C'est également le cas des PCR dont les résultats ne sont pas présentés ici. Finalement, les échantillons issus des 37 individus de l'étude sont positifs à *Mycoplasma pulmonis*.

On remarque néanmoins à la lecture des images d'électrophorèse que toutes les bandes de migration à 266 pb ne présentent pas la même intensité. On peut en particulier noter que les bandes encerclées en bleu sur les Figure 34 et Figure 33 sont particulièrement peu intenses au regard des autres. Aussi, les résultats de la PCR ont été décrits comme « faiblement positifs » ou « positifs » en fonction de l'intensité de la bande positionnée à 266 pb. Parmi les résultats visibles sur les figures ci-dessus, ont été considérés comme faiblement positifs les résultats pour les échantillons 4, 12, 14, 16, 17, 19, 20 et 25. Tous les autres ont été considérés comme positifs. Ces résultats sont présentés en Annexe 5 et sur la Figure 36 ci-dessous.

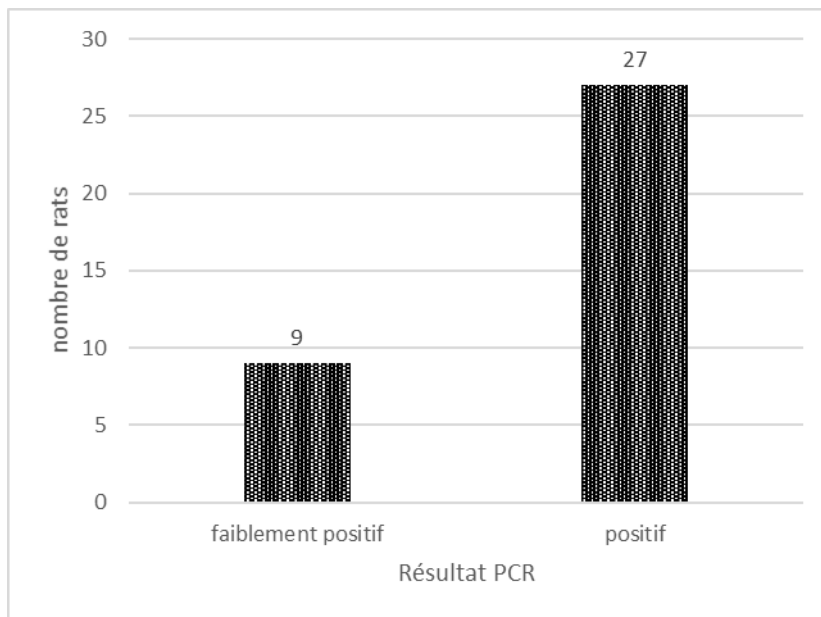


Figure 36 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction des résultats des PCR à *Mycoplasma pulmonis*

Seuls 36 résultats sont présentés pour l'intensité des bandes car celle d'un échantillon (n°21) n'a pas été notée.

✓ *Analyse des séquençages d'ADN*

L'analyse et l'alignement des séquences a permis de montrer que les dix séquences obtenues étaient rigoureusement identiques entre elles et la recherche de correspondance a montré qu'il s'agissait bien de séquence de *Mycoplasma pulmonis*. Ces résultats nous permettent de dire que les résultats de PCR ne sont pas des faux positifs et que tous les rats étaient bien infectés par *Mycoplasma pulmonis*.

À l'issue de ces analyses, nous avons donc cherché à comprendre pourquoi, bien que tous les rats soient infectés par *Mycoplasma pulmonis*, les expressions cliniques étaient variables. Nous avons donc étudié les différents facteurs pouvant expliquer les atteintes respiratoires.

(c) Étude des paramètres pouvant expliquer la présence de signes respiratoires

✓ *Recherche de corrélation entre le résultat PCR et la symptomatologie*

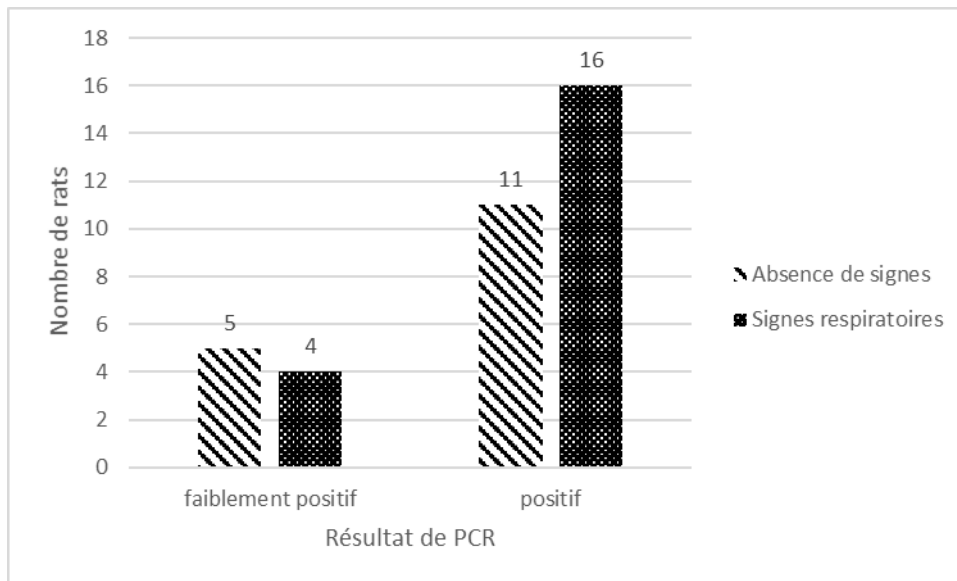


Figure 37 : Graphique présentant le degré de sévérité de l'affection d'un rat en fonction de son résultat PCR

On note sur le graphique présenté en Figure 37 que 41% des individus présentant un test positif sont complètement asymptomatiques. Soulignons malgré tout que seulement 22% des individus présentant une PCR faiblement positive ont une symptomatologie marquée, contre 37% des individus à test positif.

Nous avons cherché à évaluer le lien entre niveau de positivité du test PCR et présence ou non de signes respiratoires. L'un des effectifs étant inférieur à 5, nous avons appliqué un test de Fisher exact pour estimer l'indépendance des variables. Pour ces paramètres, le test renvoie une p-value de 0,94. Aucun lien ne peut donc ici être avancé statistiquement.

Face à ce constat, nous avons tenté de rechercher d'autres facteurs expliquant ces différences dans la symptomatologie.

✓ *Influence du sexe sur la symptomatologie observée*

Bien que, comme constaté lors de l'analyse de la population, le ratio des sexes ne soit pas équilibré, nous avons cherché à savoir si ce paramètre pouvait influencer la symptomatologie présentée par les individus.

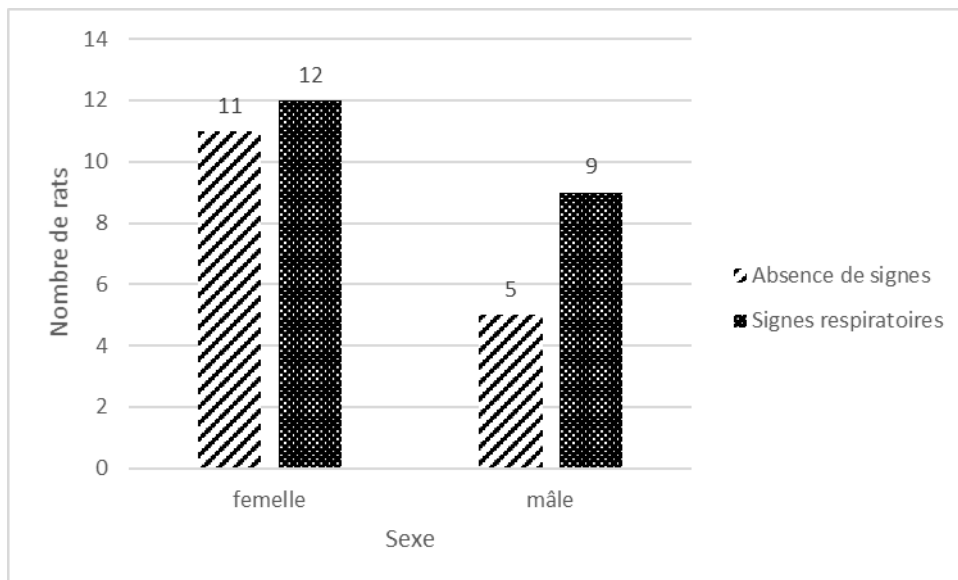


Figure 38 : Graphique d'analyse de la sévérité des signes cliniques en fonction du sexe des individus

On remarque d'emblée sur la Figure 38 une plus grande uniformité des résultats du côté des femelles que des mâles. En effet, on ne note aucune tendance particulière concernant les femelles de l'étude dont 48% sont asymptomatiques. Chez les mâles en revanche, seuls 36% sont asymptomatiques. Cependant, là encore, le calcul de la p-value par test de Fisher exact donne un résultat de 0,63. Il n'est donc pas possible de conclure quant au rôle du sexe sur la présentation de signes cliniques respiratoires.

✓ *Influence de l'âge sur la symptomatologie observée*

Dans un premier temps, nous avons cherché à savoir si la tranche d'âge à laquelle un individu appartient est directement corrélée à la symptomatologie observée.

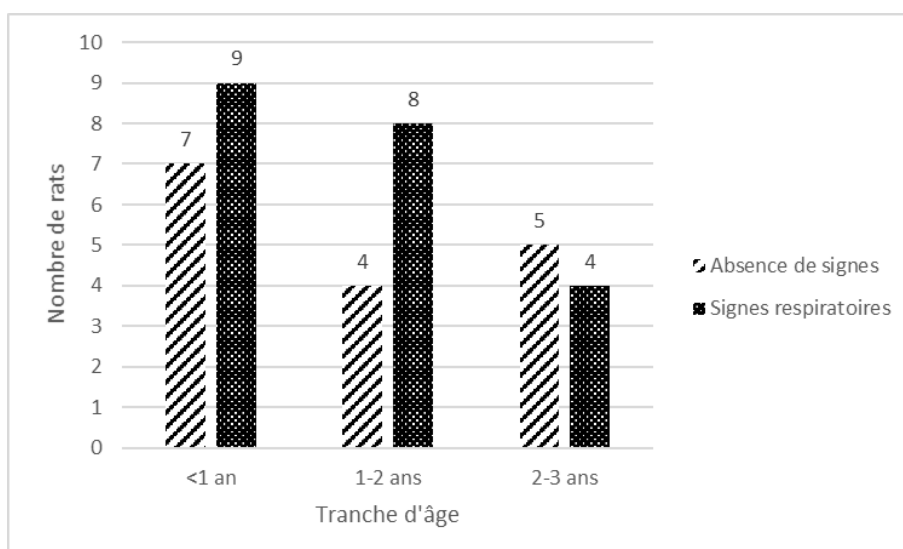


Figure 39 : Graphique de répartition de la population d'étude en fonction de la tranche d'âge et de la présence ou non de signes respiratoires

À la lecture de la Figure 39, on observe que la proportion de rats malades est de 67% chez les rats de 1 à 2 ans, de 56% chez ceux de moins d'un an et de seulement 44% chez les rats de plus de 2 ans. Bien que la simple analyse visuelle du graphique semble indiquer que ces différences ne sont pas suffisantes pour être significatives, un test de Fisher exact a été réalisé afin de s'en assurer. Effectivement, la p-value obtenue est de 0,74, témoignant d'une absence d'association significative entre âge et présence de signes respiratoires.

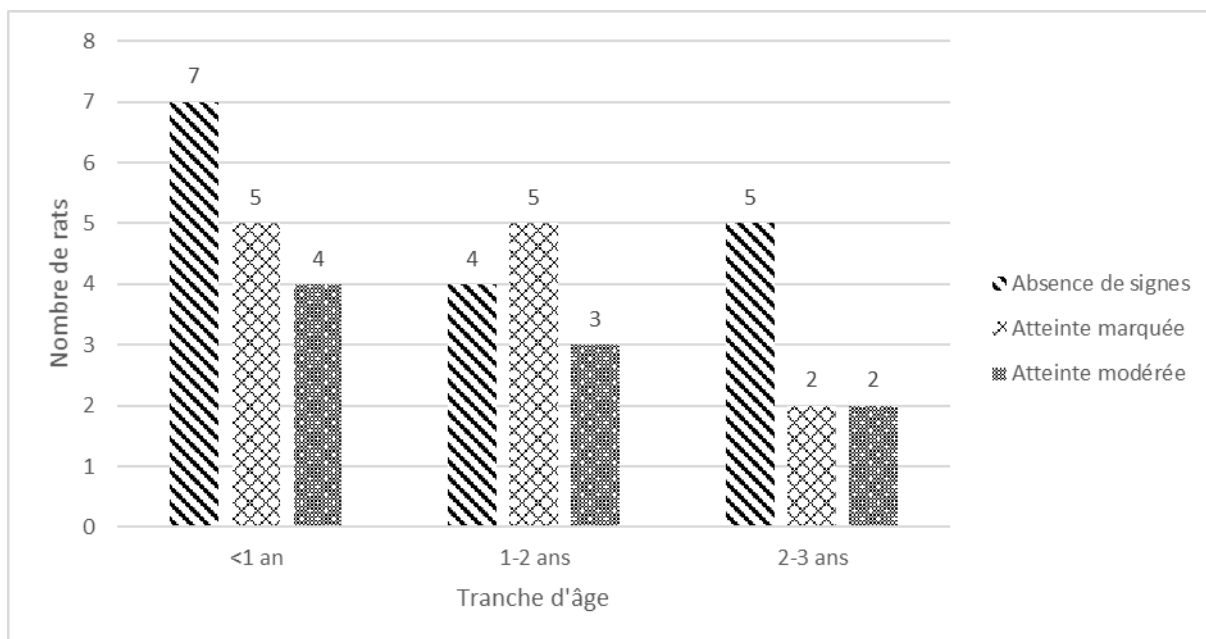


Figure 40 : Graphique de distribution de la population d'étude en fonction de la sévérité des signes cliniques et de la tranche d'âge

On note malgré tout sur la Figure 40 que pour les rats de 2-3 ans, 50% des individus malades présentent une atteinte marquée. Cette proportion est de 56% chez les rats de moins d'un an et de 63% chez ceux de 1 à 2 ans. Ces différences étant apparemment faible, il n'est pas possible de mettre en évidence de différences significatives en raison de la faible taille des échantillons. Néanmoins, il semblerait que les individus âgés sont moins affectés que les plus jeunes par les troubles respiratoires et que quel que soit l'âge d'un individu touché, les probabilités de développer des signes d'atteinte modérée et plus marquée soient les mêmes.

✓ Influence des conditions d'hébergement sur la symptomatologie

Sur ce plan, nous avons choisi de nous intéresser à la symptomatologie en fonction du type de litière proposée et de sa fréquence de nettoyage, puis en fonction de la présence ou non de congénères dans l'environnement.

- Influence de la litière

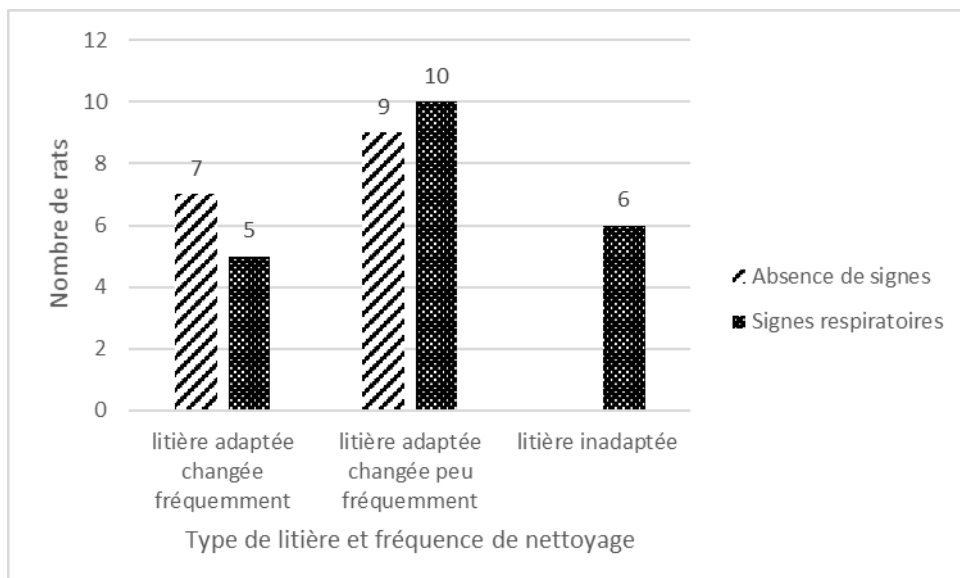


Figure 41 : Graphique d'analyse de la sévérité de la symptomatologie en fonction du type de litière et de sa fréquence de nettoyage

On étudie dans un premier temps sur la Figure 41 le rôle de la litière dans l'apparition de signes respiratoires. On remarque en premier lieu qu'aucun rat asymptomatique ne reçoit de litière inadaptée. Dans cette catégorie, les deux-tiers des individus présentent une atteinte modérée de type « rhinite ». Par ailleurs, 58% des individus recevant une litière adaptée changée fréquemment sont asymptomatiques contre seulement 47% des individus recevant une litière adaptée mais changée peu fréquemment.

. Enfin, chez les individus dont la litière adaptée est insuffisamment changée, 37% présentent une symptomatologie marquée alors que cette proportion tombe à 25% chez les individus recevant une litière adaptée changée fréquemment.

Pour ce graphique, un test de Fisher exact a été réalisé et révèle une p-value de 0,76. Ainsi, s'il semble visuellement que la qualité de la litière et la fréquence à laquelle elle est changée influencent l'expression clinique de *Mycoplasma pulmonis*, il n'est pour autant pas possible de confirmer statistiquement ce postulat.

En dépit de la p-value obtenue, il semble à la lecture de la Figure 41 qu'une litière inadaptée est associée à la survenue de signes respiratoires. Bien que le détail ne figure pas sur le graphique, les résultats indiquent que les signes présentés par les individus disposant d'une litière inadaptée sont plutôt modérés et de type « rhinite ». Ceci pourrait être en lien direct avec le caractère irritant de ces litières pour les voies

respiratoires. Par ailleurs, si l'utilisation d'une litière adaptée semble limiter ce type de symptomatologie, il n'en demeure pas moins qu'une fréquence de nettoyage d'au moins deux fois par semaine avec des produits adaptés et suffisamment rincés semble limiter les atteintes respiratoires plus marquées.

- Influence de la vie en communauté

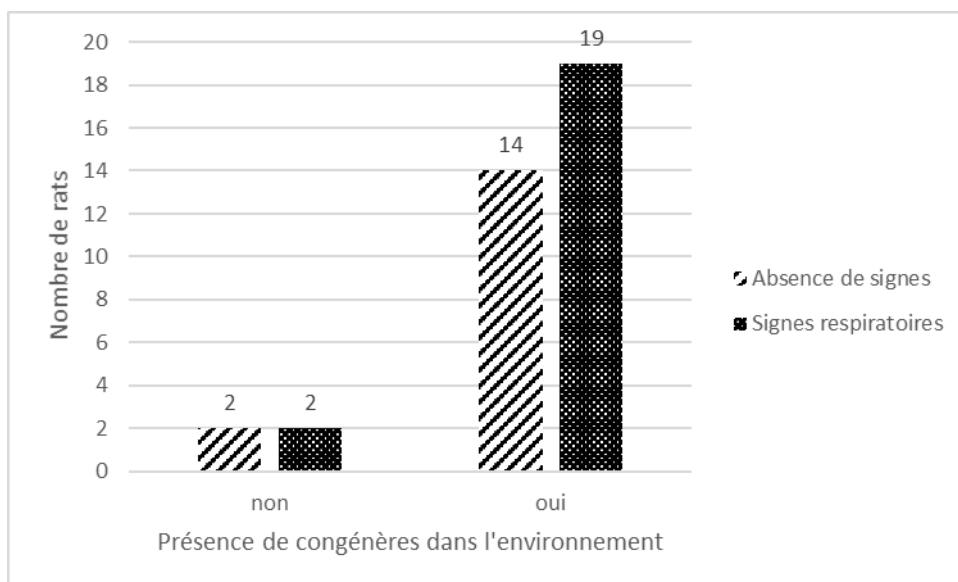


Figure 42 : Graphique d'analyse de la présence ou non de signes respiratoires en fonction de la présence ou non de congénères dans l'environnement

On note à première vue sur la Figure 42 que l'occurrence de survenue de signes respiratoires ne semble pas différer en fonction de la présence ou non de congénères dans l'environnement. La p-value, calculée à 0,99 au moyen d'un test de Fisher exact, confirme cette impression visuelle.

Ainsi, la présence de congénères dans l'environnement ne semble pas affecter la symptomatologie. Cependant, une éventuelle surpopulation dans l'environnement n'a ici pas été estimée et pourrait en revanche être responsable de l'apparition de signes cliniques respiratoires en raison du stress qu'elle provoque et du risque accru d'augmentation de la teneur en ammoniac de l'air ambiant.

- ✓ *Influence de la ration principale et de l'état d'embonpoint sur la sévérité des signes cliniques*

- Influence de la ration sur la sévérité des troubles respiratoires

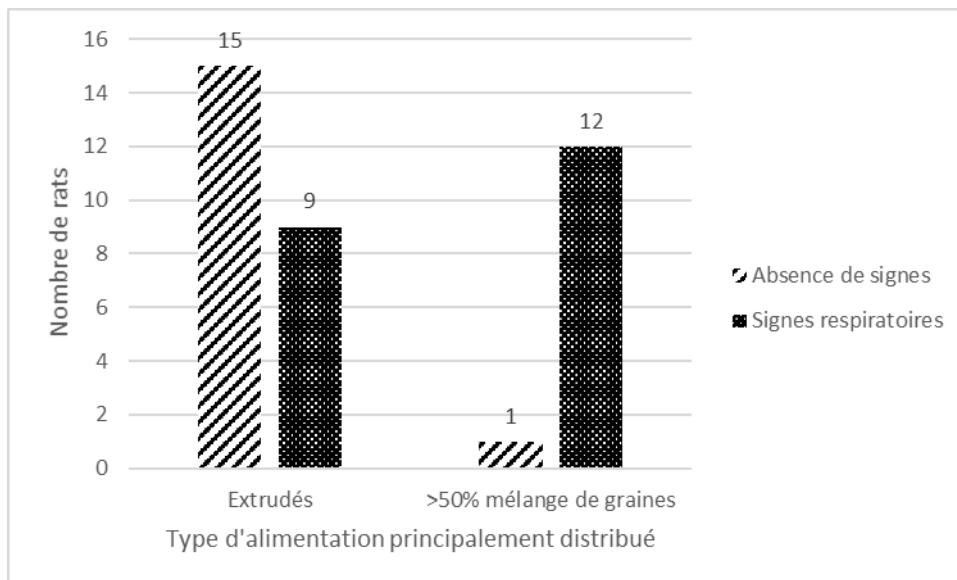


Figure 43 : Graphique d'analyse du rôle de l'aliment principal de la ration dans la sévérité de la symptomatologie

Il apparaît sur la Figure 43 que les individus symptomatiques ne représentent que 38% de la population recevant des extrudés exclusivement en guise d'alimentation principale contre 92% des individus étant alimentés avec au moins 50% de mélange de graines. A l'inverse, 94% des individus asymptomatiques reçoivent des extrudés exclusivement en guise d'aliment principal.

Il semble donc à la lecture de ce graphique que, comme cela a été évoqué dans la partie bibliographique, une alimentation en grande partie ou totalement composée de graines soit un facteur prédisposant à la présence de signes respiratoires dans notre population d'étude. Ce constat est confirmé par une p-value de 0,001 obtenue au moyen d'un test de khi 2, ici applicable en raison d'effectifs théoriques tous supérieurs à 5.

Inversement, si les extrudés semblent être une condition nécessaire à une bonne santé de l'arbre respiratoire dans notre population d'étude, il n'en demeure pas moins que 38% des individus principalement alimentés à partir d'extrudés présentent des signes cliniques respiratoires. Aussi, l'alimentation n'explique pas à elle seule la symptomatologie constatée mais y contribue.

Sur la base de ces données, nous pouvons avancer l'hypothèse dans notre étude que les signes cliniques des rats symptomatiques alimentés principalement à base de mélange de graines peuvent être imputés à une prolifération de *Mycoplasma pulmonis*.

- Influence de l'embonpoint sur la sévérité des signes cliniques

Une alimentation à base de graines prédisposant également à l'embonpoint en raison de la richesse en graisses de certaines de ces graines, nous nous sommes intéressés à une éventuelle corrélation entre la note d'état corporel des rats de l'étude et la sévérité des signes cliniques présentés.

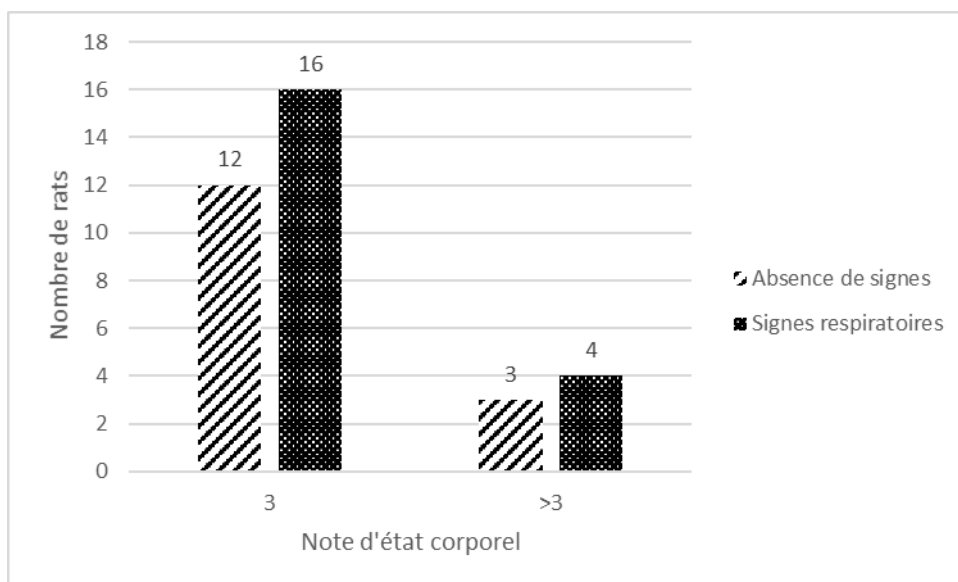


Figure 44 : Graphique d'analyse du rôle de l'embonpoint dans la sévérité des signes respiratoires

Sur la Figure 44, on s'intéresse spécifiquement aux individus dont la note d'état corporel est de 3 ou >3. Il apparaît que dans ces deux groupes, 57% des individus sont asymptomatiques et 43% présentent des signes cliniques. Il n'y a ainsi, au sein de notre population, aucune corrélation entre excès de masse corporelle et symptomatologie respiratoire.

- ✓ *Lien entre origine du rat et chronologie d'apparition de signes cliniques respiratoires*

Nous avons finalement souhaité évaluer la chronologie d'apparition des troubles respiratoires par rapport à l'origine des rats. En effet, le stress de l'adoption est un facteur reconnu de déclenchement de maladies telles que la mycoplasmosse. L'objectif de cette analyse est donc d'estimer de manière indirecte le rôle de l'origine des rats sur le déclenchement d'une affection respiratoire.

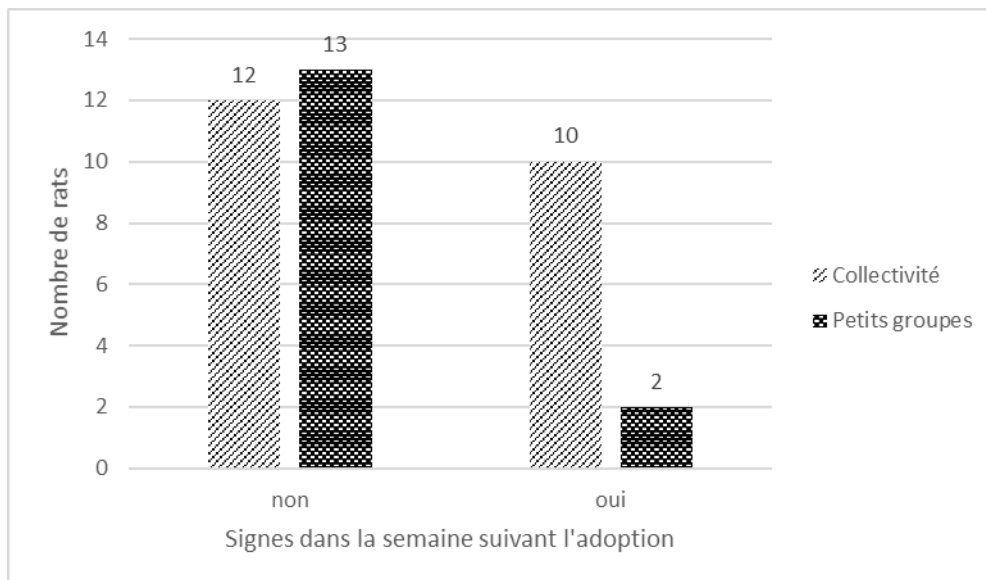


Figure 45 : Graphique d'analyse du moment d'apparition des troubles respiratoires par rapport à l'adoption en fonction de la provenance des rats

On note sur la Figure 45 que 32% des rats ont déclaré des signes respiratoires dans la semaine suivant leur adoption. Parmi eux, 83% proviennent de collectivité, à savoir d'élevage ou d'animalerie. Le groupe de rats n'ayant pas déclaré de signes respiratoires dans la semaine suivant l'adoption comprend à la fois les individus ayant montré des signes respiratoires plus tardifs et ceux restés asymptomatiques. On note que dans ce groupe, 48% des individus proviennent de collectivité et 52% de groupes plus restreints, soit de groupes d'associations ou de particuliers.

Il semble, à la lecture du graphique ci-dessus, que les individus déclarant des signes respiratoires dans la semaine suivant leur adoption sont plus souvent issus de collectivités que de petits groupes.

L'apparition de signes cliniques dans la semaine suivant l'adoption concorde avec l'expression d'une affection liée à des agents commensaux tels que *Mycoplasma pulmonis* et favorisée par le stress de l'adoption.

Nous pouvons donc supposer que le stress de l'adoption chez les rats issus de grands groupes est plus important et propice au déclenchement d'une symptomatologie respiratoire à *Mycoplasma pulmonis*. Ceci doit cependant être avancé avec précaution puisque près de la moitié des individus ne déclenchant pas de signes cliniques directement après leur adoption proviennent également de collectivité. Par ailleurs, la p-value obtenue par test de Fisher exact est de 0,76 et ne confirme donc pas l'hypothèse.

D. Discussion

Avec l'augmentation du nombre de rats de compagnie, les cliniciens sont de plus en plus confrontés à la gestion des affections respiratoires, chroniques ou non, chez ces myomorphes. Néanmoins, les moyens diagnostiques tels que la PCR ne sont pas encore largement disponibles, et les propriétaires de nouveaux animaux de compagnie ne sont pas toujours prêts à financer les frais d'analyses pour la recherche des agents infectieux. Notons en particulier, bien que ce ne soit pas l'objet de notre étude, que la recherche d'une grande partie des agents pathogènes présentés en première partie est indisponible pour les rats de compagnie. Le clinicien est donc amené à mettre en place des traitements probabilistes.

La gestion de maladies respiratoires murines nécessitant la concurrence d'un traitement médical adapté et la correction des conditions d'hébergement défectueuses, nous avons souhaité évaluer la prévalence de *Mycoplasma pulmonis*, principal agent de la maladie respiratoire chronique murine, au sein d'une population de rats de compagnie, et identifier les possibles facteurs impliqués dans l'expression et la sévérité des signes respiratoires.

Toutefois, cette étude ne porte que sur un faible échantillon de 37 individus, et les hypothèses ressortant des résultats seront à confirmer et préciser avec des populations plus vastes. De même, dans cette étude, seul le pathogène *Mycoplasma pulmonis* a été recherché. Étant entendu que la maladie respiratoire murine chronique est une affection impliquant souvent d'autres agents pathogènes, une nouvelle étude avec une recherche de la totalité de ces agents serait à conduire afin de préciser la prévalence des co-infections chez les rats domestiques et leurs conséquences sur la symptomatologie observée.

- Prévalence de *Mycoplasma pulmonis*

Nous avons montré sur la population de cette étude une prévalence de 100% avec *a minima* 43% de porteurs sains. Les résultats PCR ont révélé des nuances dans le degré d'intensité des bandes de migration. L'hypothèse que ces nuances soient directement liées à la charge bactérienne initiale chez le rat a été émise, mais aucune technique quantitative n'a été mise en place pour la confirmer. A notre connaissance

aucune technique de PCR quantitative pour la détection d'ADN de *Mycoplasma pulmonis* n'a été publiée.

- Influence des facteurs analysés sur l'expression clinique respiratoire
- ✓ *Influence des conditions d'hébergement sur l'expression clinique*

La qualité de la cage, mais aussi celle de la litière ainsi que la fréquence de nettoyage et les produits utilisés à cette fin ont déjà été identifiés dans la littérature scientifique comme des facteurs jouant un rôle sur l'expression clinique de *Mycoplasma pulmonis* chez les rats de laboratoire (Graham et Schoeb 2011).

L'intégralité des rats de notre étude étant hébergés dans le même type de cage avec grillage, ce facteur n'a pas pu être analysé. En revanche, nous avons identifié que le type de litière employée ainsi que de la fréquence de nettoyage de celle-ci pouvaient être a priori des facteurs associés à l'apparition de signes cliniques ainsi qu'à leur aggravation. Cette hypothèse, bien que non confirmée par nos analyses statistiques, est en adéquation avec ce qui est déjà décrit dans la littérature concernant le rat de laboratoire. Aussi, il est recommandé de mettre à disposition des rats une litière non poussiéreuse et non préparée à base de bois résineux. La seconde hypothèse ressortant de notre étude sur ce point est qu'une fréquence de nettoyage inférieure à deux fois par semaine pourrait augmenter les risques de développement de formes symptomatiques marquées, avec une association de plusieurs signes cliniques.

Si la présence ou non de congénères dans l'espace de vie ne ressort pas ici comme un facteur de déclenchement de signes cliniques, nous formulons néanmoins l'hypothèse qu'une forte densité de rats devrait être évitée pour limiter le stress et la saturation de l'air ambiant en ammoniac, irritant pour l'arbre respiratoire.

- ✓ *Influence de la ration alimentaire sur l'expression de signes cliniques*

Comme pour les conditions d'hébergement, le type d'aliment composant principalement la ration est également un facteur déjà bien connu agissant sur l'expression clinique de *Mycoplasma pulmonis*. En effet, dans les mélanges de graines, contrairement aux extrudés, chaque graine ne constitue pas un aliment complet. Toutes les graines n'ayant pas la même appétence, les plus grasses ont tendance à être préférées par les rats qui les consomment donc de manière privilégiée, délaissant les autres. Or, ces graines étant carencées en vitamines A et E, leur

consommation quotidienne au détriment des autres entraîne à moyen et long terme des carences en ces vitamines chez les rats, facilitant la fixation des mycoplasmes sur les épithéliums de l'arbre respiratoire (Quesenberry et Carpenter 2012; T. R. Schoeb, Kervin, et Lindsey 1985).

Nous retrouvons au sein de notre population d'étude une importante corrélation entre l'alimentation et l'expression clinique de *Mycoplasma pulmonis*. En effet, nous avons montré que plus de 90% des individus asymptomatiques de notre étude sont nourris avec des extrudés. Cependant, nous avons également mis en évidence qu'un pourcentage non négligeable d'individus nourris principalement avec des extrudés présentaient une symptomatologie respiratoire. Ceci est en accord avec la multiplicité des facteurs susceptibles de déclencher l'expression symptomatique.

Les deux facteurs que nous venons d'énoncer sont bien connus dans la littérature scientifique traitant des rats de laboratoire. Mais d'autres hypothèses concernant de potentiels facteurs de risque de développement de signes cliniques respiratoires ressortent de notre étude.

✓ *Influence de l'origine des rats sur l'expression de signes cliniques*

Bien que cela ne se confirme pas statistiquement, il semblerait que les individus issus de groupes conséquents soient plus à risque de développer des signes cliniques respiratoires dans la semaine suivant leur adoption.

Deux grandes hypothèses pourraient expliquer ceci :

- Les rats issus d'animalerie sont sujets à davantage de stress autour de la période d'adoption que les autres.
- Les rats issus d'animalerie sont porteurs d'une charge infectieuse plus importante que les autres, augmentant les risques d'apparition de signes respiratoires à la faveur du stress de l'adoption.

Aucune donnée recensée dans notre étude ne nous permet de trancher entre ces hypothèses. Par ailleurs, il faut nuancer cette hypothèse en notant que 48% des individus de notre étude n'ayant pas déclaré de signes respiratoires dans la semaine suivant leur adoption sont également issus de collectivité. Aussi, des facteurs individuels pourraient également entrer en jeu et participer au déclenchement précoce d'une telle symptomatologie.

✓ *Influence du sexe sur l'expression clinique*

Les résultats obtenus dans le cadre de notre étude laissent supposer que les femelles pourraient être moins concernées que les mâles par l'expression clinique de *Mycoplasma pulmonis*. Cependant, nos données statistiques ne nous permettent pas de conclure à ce propos.

✓ *Influence de l'âge sur l'expression clinique*

L'hypothèse ressortant de notre étude est que les rats les plus jeunes sont davantage concernés par des formes cliniques de *Mycoplasma pulmonis*. Néanmoins, comme pour le facteur « sexe », nos données statistiques ne nous permettent pas de conclure sur cet aspect.

- Limites de l'étude

✓ *Taille de la population*

La population étudiée, composée de 37 individus, n'est pas de taille suffisante pour permettre une analyse robuste de tous les facteurs étudiés. En effet, en raison des faibles effectifs théoriques pour chaque paramètre étudié, et ce malgré les différents regroupements de variables, la plupart des analyses statistiques n'ont pas pu se faire au moyen d'un test de khi deux mais d'un test de Fisher exact, moins puissant. Une étude sur une population de plus grande taille permettrait de vérifier les hypothèses ressortant de nos analyses.

L'une des raisons de cette faible taille de population est la réticence d'un certain nombre de propriétaires à faire anesthésier, même brièvement, leurs animaux.

De plus, l'étude a eu lieu au sein de la clinique NAC de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse. Aussi, l'inclusion d'un nouveau rat dans la population était dépendante du fait que les personnes en charge de la consultation pensent à la proposer aux propriétaires et aient le temps de réaliser les prélèvements.

Enfin, l'étude s'est en partie déroulée sur la période impactée par le Covid et le confinement de mars 2020. Cela a eu un impact sur le nombre de consultations à certaines périodes et ainsi sur les potentialités de recrutement.

✓ *Remplissage des fiches de renseignement*

Cette étape a également été affectée par le nombre important de personnes différentes exerçant à la clinique NAC. En effet, la plupart de ces fiches ont été remplies par des opérateurs différents, apportant divers degrés de précision aux informations renseignées. De surcroît, la multiplicité des intervenants ayant rempli les fiches de renseignement n'a pas permis d'obtenir une uniformisation dans le remplissage des réponses aux questions non binaires. Cette multiplicité rend également l'appréciation des données subjectives, telles que la note d'état corporel, beaucoup plus difficile et délicate à interpréter dans ce cas-là.

Les biais concernant le remplissage des fiches de renseignements s'appliquent de la même façon au remplissage des dossiers Clovis des rats. Aussi, certaines informations n'ont pas pu être trouvées pour l'ensemble des rats de l'échantillon.

✓ *Réalisation des prélèvements*

Bien que le protocole de prélèvement ait été standardisé au maximum en le rédigeant, en sédant les rats et en précisant le matériel à employer, nous n'avons pas pu nous affranchir du biais lié à l'opérateur.

En effet, les prélèvements n'ont pas systématiquement été réalisés par la même personne. Or, il est apparu lors de la mise en œuvre du protocole que l'étape d'introduction de la tubulure de cathéter dans les narines est opérateur-dépendant et conditionne à la fois le volume d'échantillon récupéré et la profondeur du prélèvement, et donc potentiellement la charge bactérienne de l'échantillon récupéré.

L'importance de ce biais s'est traduite par des échantillons de volumes différents.

✓ *Analyse PCR*

À nouveau, la principale limite de cette étape est le biais lié aux changements d'opérateur. En effet, toutes les PCR n'ont pas été réalisées par le même intervenant. Cela ne pose pas de souci majeur pour les étapes bénéficiant de points de contrôle.

Cependant, cette limite devient prépondérante à l'étape de lecture des résultats de l'électrophorèse. En effet, nous avons pris le parti de nuancer les résultats de la PCR en les divisant entre ceux faiblement positifs, et ceux positifs. Or, cette dichotomie a été réalisée selon l'appréciation subjective de la largeur de la bande de migration et

de son intensité. Il n'est ainsi pas exclu que deux opérateurs différents aient apprécié différemment ces indicateurs.

Une analyse quantitative aurait permis d'apprécier objectivement la charge bactérienne de chaque échantillon. Cependant, comme indiqué précédemment, la profondeur du site de prélèvement ainsi que la quantité d'échantillon récupéré ont largement été impactés par l'opérateur. Dès lors, une analyse par PCR quantitative n'aurait pas permis de conclure avec certitude sur la charge bactérienne de chaque individu.

✓ *Analyse statistique*

Nous nous sommes ici limités à des statistiques bivariées et à des tests de Fisher exact ou de khi 2. Or, la lecture des résultats laisse supposer que des analyses plus précises pourraient être réalisées à partir de statistiques multivariées réalisées sur une population de taille plus importante.

Par ailleurs, nous avons expliqué en première partie que la maladie respiratoire chronique est multifactorielle. Or, cette étude n'a porté que sur la recherche de *Mycoplasma pulmonis*, et non sur celle de la totalité des agents impliqués dans cette affection. Il faut donc garder à l'esprit que tous les signes observés ne sont pas nécessairement dus à *Mycoplasma pulmonis* seul.

Partie III. Conclusion

Nous avons montré au-travers de cette étude que les principaux facteurs prédisposant au développement d'une symptomatologie respiratoire à *Mycoplasma pulmonis* chez les rats de laboratoire semblent valables pour le rat de compagnie. Ces facteurs sont notamment une ration carencée en vitamines A et E, ou encore une litière inadaptée ou insuffisamment nettoyée responsable d'une charge anormale de l'air ambiant en ammoniac. Aussi, même si certaines hypothèses restent à confirmer sur de plus grandes populations, la prévention et la prise en charge de maladies respiratoires chez le rat domestique devraient inclure une vérification exhaustive des conditions de vie et d'entretien des individus et une correction si nécessaire de ces points.

Par ailleurs, dans cette étude, les rats issus de grandes collectivités semblent plus à risque de déclarer des signes respiratoires dans la semaine suivant leur adoption que les autres. Cette donnée, si elle se vérifie sur de plus grandes populations, devrait être explorée afin de préciser les raisons de ce phénomène.

Concernant la gestion médicale, nous avons montré que tous les rats de notre population, bien que tous positifs à *Mycoplasma pulmonis*, ne présentaient pas tous la même symptomatologie, ni la même réponse aux traitements de première intention. Compte tenu de la multimodalité de la maladie respiratoire chronique murine, une recherche des agents de co-infection de *Mycoplasma pulmonis* et la réalisation d'un antibiogramme devraient être envisagées en cas d'absence de réponse au traitement initial.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussigné, Guillaume LE LOCH, Enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Audrey LE FOLL**, intitulée « **Étiologie infectieuse des affections respiratoires chez le rat NAC** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 18/06/2021
Enseignant-chercheur de l'École Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Docteur Guillaume LE LOCH



Vu :
Le Président du jury
Professeur Christophe PASQUIER



Vu :
Le Directeur de l'École Nationale
Vétérinaire de Toulouse
M. Pierre SANS



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université Paul
Sabatier
Monsieur Jean-Marc BROTO
Par délegation, le Doyen de la faculté de
Médecine de Toulouse-Rangueil
M. Eric SERRANO



Mme Audrey LE FOLL
a été admise sur concours en 2016
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le 06/07/2020
a validé son année d'approfondissement le 19/06/2021
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Partie IV. Bibliographie

- Ackerman, J. I., J. G. Fox, et J. C. Murphy. 1984. « An Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of Antibodies to *Corynebacterium Kutscheri* in Experimentally Infected Rats ». *Laboratory Animal Science* 34 (1): 38-43.
- Amao, H., Y. Komukai, T. Akimoto, M. Sugiyama, K. W. Takahashi, T. Sawada, et M. Saito. 1995. « Natural and Subclinical *Corynebacterium Kutscheri* Infection in Rats ». *Laboratory Animal Science* 45 (1): 11-14.
- Amao, Hiromi, Toshio Akimoto, Yumi Komukai, Takuo Sawada, Manabu Saito, et Kazuaki W. Takahashi. 2002. « Detection of *Corynebacterium Kutscheri* from the Oral Cavity of Rats ». *Experimental Animals* 51 (1): 99-102. <https://doi.org/10.1538/expanim.51.99>.
- Baker, D. G. 1998. « Natural Pathogens of Laboratory Mice, Rats, and Rabbits and Their Effects on Research ». *Clinical Microbiology Reviews* 11 (2): 231-66.
- Barreto, Maria Lucia, Elmiro Rosendo do Nascimento, Carlos Augusto de Martino Campos, Maria da Graça Fichel do Nascimento, Gilberto Brasil Lignon, Marie Luce Flores Lira, et Ricardo G. Silva. 2002. « Detection of *Mycoplasma Pulmonis* in Laboratory Rats ». *Brazilian Journal of Microbiology* 33 (3): 260-64. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822002000300015>.
- Barthold, Griffey, et Percy. 2016. « Rat ». In *Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits, Fourth Edition*, 119-72. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118924051.ch02>.
- Benga, Laurentiu, Martin Sager, et Henrik Christensen. 2018. « From the [Pasteurella] Pneumotropica Complex to Rodentibacter Spp.: An Update on [Pasteurella] Pneumotropica ». *Veterinary Microbiology* 217 (avril): 121-34. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.03.011>.
- Bhatt, P. N., et R. O. Jacoby. 1985. « Epizootiological Observations of Natural and Experimental Infection with Sialodacryoadenitis Virus in Rats ». *Laboratory Animal Science* 35 (2): 129-34.
- Booth, Jennifer L., Todd M. Umstead, Sanmei Hu, Kevin F. Dybvig, Timothy K. Cooper, Ronald P. Wilson, et Zissis C. Chroneos. 2014. « Housing Conditions Modulate the Severity of *Mycoplasma Pulmonis* Infection in Mice Deficient in Class A Scavenger Receptor ». *Comparative Medicine* 64 (6): 424-39.
- Bowden, J. J., T. R. Schoeb, J. R. Lindsey, et D. M. McDonald. 1994. « Dexamethasone and Oxytetracycline Reverse the Potentiation of Neurogenic Inflammation in Airways of Rats with *Mycoplasma Pulmonis* Infection ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 150 (5 Pt 1): 1391-1401. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.150.5.7524980>.
- Broderson, J. R., J. R. Lindsey, et J. E. Crawford. 1976. « The Role of Environmental Ammonia in Respiratory Mycoplasmosis of Rats ». *The American Journal of Pathology* 85 (1): 115-30.
- Castleman, W. L., L. J. Brundage-Anguish, L. Kreitzer, et S. B. Neuenschwander. 1987. « Pathogenesis of Bronchiolitis and Pneumonia Induced in Neonatal and Weanling Rats by Parainfluenza (Sendai) Virus ». *The American Journal of Pathology* 129 (2): 277-86.
- Chawla, Saurabh, Sarita Jena, Balaji Venkatsan, Kuna Mahara, et Nilanjan Sahu. 2017. « Clinical, Pathological, and Molecular Investigation of *Mycoplasma Pulmonis*-Induced Murine Respiratory Mycoplasmosis in a Rat (*Rattus Norvegicus*) Colony ». *Veterinary World* 10 (11): 1378-82. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1378-1382>.

- Citti, C., et R. Rosengarten. 1997. « Mycoplasma Genetic Variation and Its Implication for Pathogenesis ». *Wiener Klinische Wochenschrift* 109 (14-15): 562-68.
- Daubenspeck, James M., Jeffrey R. Bolland, Wenyi Luo, Warren L. Simmons, et Kevin Dybvig. 2009. « Identification of Exopolysaccharide-Deficient Mutants of Mycoplasma Pulmonis ». *Molecular Microbiology* 72 (5): 1235-45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.06720.x>.
- Domenico, P., W. G. Johanson, et D. C. Straus. 1982. « Lobar Pneumonia in Rats Produced by Clinical Isolates of Klebsiella Pneumoniae ». *Infection and Immunity* 37 (1): 327-35. <https://doi.org/10.1128/IAI.37.1.327-335.1982>.
- Fouriez-Lablée, Virginie, Claire Vergneau-Grosset, Philip H. Kass, et Allison L. Zwingenberger. 2017. « COMPARISON BETWEEN THORACIC RADIOGRAPHIC FINDINGS AND POSTMORTEM DIAGNOSIS OF THORACIC DISEASES IN DYSPNEIC COMPANION RATS (RATTUS NORVEGICUS): Interpretation of Rat Thoracic Radiographs ». *Veterinary Radiology & Ultrasound* 58 (2): 133-43. <https://doi.org/10.1111/vru.12459>.
- Franklin, C. L., J. D. Pletz, L. K. Riley, B. A. Livingston, R. R. Hook, et C. L. Besch-Williford. 1999. « Detection of Cilia-Associated Respiratory (CAR) Bacillus in Nasal-Swab Specimens from Infected Rats by Use of Polymerase Chain Reaction ». *Laboratory Animal Science* 49 (1): 114-17.
- Ganaway, J. R., T. H. Spencer, T. D. Moore, et A. M. Allen. 1985. « Isolation, Propagation, and Characterization of a Newly Recognized Pathogen, Cilia-Associated Respiratory Bacillus of Rats, an Etiological Agent of Chronic Respiratory Disease ». *Infection and Immunity* 47 (2): 472-79. <https://doi.org/10.1128/IAI.47.2.472-479.1985>.
- Goto, K., R. Nozu, A. Takakura, S. Matsushita, et T. Itoh. 1995. « Detection of Cilia-Associated Respiratory Bacillus in Experimentally and Naturally Infected Mice and Rats by the Polymerase Chain Reaction ». *Experimental Animals* 44 (4): 333-36. <https://doi.org/10.1538/expanim.44.333>.
- Graham, Jennifer E., et Trenton R. Schoeb. 2011. « Mycoplasma Pulmonis in Rats ». *Journal of Exotic Pet Medicine, Clinical Rodent Medicine*, 20 (4): 270-76. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.07.004>.
- Hansen, Axel Kornerup, Dennis Sandris Nielsen, Lukasz Krych, et Camilla Hartmann Friis Hansen. 2019. « Bacterial Species to Be Considered in Quality Assurance of Mice and Rats ». *Laboratory Animals* 53 (3): 281-91. <https://doi.org/10.1177/0023677219834324>.
- Harkness, Turner, Wheler, et VandeWoude. 2010. *Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*. Fifth Edition. Wiley-Blackwell.
- Hayase, Y., K. Tobita, M. Kii, Y. Hakamada, et T. Arai. 1997. « Detection of Nucleoprotein Gene of Sendai Virus in the Lungs of Rats by Touchdown Nested Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction ». *Experimental Animals* 46 (4): 307-10. <https://doi.org/10.1538/expanim.46.307>.
- Hayashimoto, Nobuhito, Masahiko Yasuda, Masami Ueno, Kazuo Goto, et Akira Takakura. 2008. « Experimental Infection Studies of Pasteurella Pneumotropica and V-Factor Dependent Pasteurellaceae for F344-Rnu Rats ». *Experimental Animals* 57 (1): 57-63. <https://doi.org/10.1538/expanim.57.57>.
- Henderson, K. S., V. Dole, N. J. Parker, P. Momtsios, L. Banu, R. Brouillette, M. A. Simon, et al. 2012. « Pneumocystis Carinii Causes a Distinctive Interstitial Pneumonia in Immunocompetent Laboratory Rats That Had Been Attributed to "Rat Respiratory Virus" ». *Veterinary Pathology* 49 (3): 440-52. <https://doi.org/10.1177/0300985811432351>.

- Hong, S. T., Y. K. Park, J. Kim, D. H. Kim, et C. K. Yun. 1999. « Is Pneumocystis Carinii Vertically Transmitted to Neonatal Rats? » *The Korean Journal of Parasitology* 37 (3): 149-56. <https://doi.org/10.3347/kjp.1999.37.3.149>.
- Ike, Fumio, Mitsuo Sakamoto, Moriya Ohkuma, Ayako Kajita, Satoru Matsushita, et Toshiaki Kokubo. 2016. « Filobacterium rodentium gen. nov., sp. nov., a member of Filobacteriaceae fam. nov. within the phylum Bacteroidetes; includes a microaerobic filamentous bacterium isolated from specimens from diseased rodent respiratory tracts ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,. Microbiology Society,.
- Itoh, T., K. Kohyama, A. Takakura, T. Takenouchi, et N. Kagiya. 1987. « Naturally Occurring CAR Bacillus Infection in a Laboratory Rat Colony and Epizootiological Observations ». *Jikken Dobutsu. Experimental Animals* 36 (4): 387-93. https://doi.org/10.1538/expanim1978.36.4_387.
- Jackson et al. 1980. « Naturally acquired infections of Klebsiella pneumoniae in Wistar rats ». *Laboratory Animals* 14 (4): 357-61. <https://doi.org/10.1258/002367780781071210>.
- Kashuba, Corinna, Charlie Hsu, Aric Krogstad, et Craig Franklin. 2005. « Small Mammal Virology ». *The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice* 8 (1): 107-22. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2004.09.004>.
- Kontiokari, T., M. Renko, T. Kaijalainen, L. Kuisma, et M. Leinonen. 2000. « Comparison of Nasal Swab Culture, Quantitative Culture of Nasal Mucosal Tissue and PCR in Detecting Streptococcus Pneumoniae Carriage in Rats ». *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica* 108 (11): 734-38. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2000.d01-22.x>.
- Kuppeveld, F. J. van, W. J. Melchers, H. F. Willemse, J. Kissing, J. M. Galama, et J. T. van der Logt. 1993. « Detection of Mycoplasma Pulmonis in Experimentally Infected Laboratory Rats by 16S rRNA Amplification ». *Journal of Clinical Microbiology* 31 (3): 524-27. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.3.524-527.1993>.
- Lambert, L. C., H. Q. Trummell, A. Singh, G. H. Cassell, et R. J. Bridges. 1998. « Mycoplasma Pulmonis Inhibits Electrogenic Ion Transport across Murine Tracheal Epithelial Cell Monolayers ». *Infection and Immunity* 66 (1): 272-79. <https://doi.org/10.1128/IAI.66.1.272-279.1998>.
- Lindsey, J. R., et H. Cassell. 1973. « Experimental Mycoplasma Pulmonis Infection in Pathogen-Free Mice. Models for Studying Mycoplasmosis of the Respiratory Tract ». *The American Journal of Pathology* 72 (1): 63-90.
- Mayer, Jörg, et Thomas M. Donnelly, éd. 2013. *Clinical veterinary advisor. Birds and exotic pets*. St. Louis, Missouri: Elsevier/Saunders.
- McDonald, D. M., T. R. Schoeb, et J. R. Lindsey. 1991. « Mycoplasma Pulmonis Infections Cause Long-Lasting Potentiation of Neurogenic Inflammation in the Respiratory Tract of the Rat ». *The Journal of Clinical Investigation* 87 (3): 787-99. <https://doi.org/10.1172/JCI115082>.
- Minion, F. C., M. B. Brown, et G. H. Cassell. 1984. « Identification of Cross-Reactive Antigens between Mycoplasma Pulmonis and Mycoplasma Arthritis ». *Infection and Immunity* 43 (1): 115-21. <https://doi.org/10.1128/IAI.43.1.115-121.1984>.
- Parker, J. C., A. J. O'Beirne, et M. J. Collins. 1979. « Sensitivity of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Complement Fixation, and Hemagglutination Inhibition Serological Tests for Detection of Sendai Virus Antibody in Laboratory Mice ». *Journal of Clinical Microbiology* 9 (3): 444-47. <https://doi.org/10.1128/jcm.9.3.444-447.1979>.
- Piasecki, Tomasz, Klaudia Chrzastek, et Urszula Kasprzykowska. 2017. « Mycoplasma Pulmonis of Rodents as a Possible Human Pathogen ». *Vector*

- Borne and Zoonotic Diseases* (Larchmont, N.Y.) 17 (7): 475-77. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.2104>.
- Pritchett-Corning, Kathleen R., Janice Cosentino, et Charles B. Clifford. 2009. « Contemporary Prevalence of Infectious Agents in Laboratory Mice and Rats ». *Laboratory Animals* 43 (2): 165-73. <https://doi.org/10.1258/la.2008.008009>.
- Quesenberry, Katherine E., et James W. Carpenter, éd. 2012. *Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine and surgery*. 3rd ed. St. Louis, Mo: Elsevier/Saunders.
- Rosenberg, Helene F., et Joseph B. Domachowske. 2008. « Pneumonia Virus of Mice: Severe Respiratory Infection in a Natural Host ». *Immunology Letters* 118 (1): 6-12. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2008.03.013>.
- Rothenburger, J. L., C. G. Himsworth, C. B. Clifford, J. Ellis, P. M. Treuting, et F. A. Leighton. 2015. « Respiratory Pathology and Pathogens in Wild Urban Rats (*Rattus Norvegicus* and *Rattus Rattus*) ». *Veterinary Pathology* 52 (6): 1210-19. <https://doi.org/10.1177/0300985815593123>.
- Rottinghaus, A. A., S. V. Gibson, et J. E. Wagner. 1986. « Comparison of Serological Tests for Detection of Antibodies to Sendai Virus in Rats ». *Laboratory Animal Science* 36 (5): 496-98.
- Sanchez, S., K. Tyler, N. Rozengurt, et J. Lida. 1994. « Comparison of a PCR-Based Diagnostic Assay for *Mycoplasma Pulmonis* with Traditional Detection Techniques ». *Laboratory Animals* 28 (3): 249-56. <https://doi.org/10.1258/002367794780681570>.
- Schoeb, T. 2007. « Mycoplasma Pulmonis Other Murine Mycoplasmas, and Cilia-Associated Respiratory Bacillus ». In *The Mouse in Biomedical Research*, II:437-68. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012369454-6/50046-7>.
- Schoeb, T. R., M. K. Davidson, et J. R. Lindsey. 1982. « Intracage Ammonia Promotes Growth of Mycoplasma Pulmonis in the Respiratory Tract of Rats ». *Infection and Immunity* 38 (1): 212-17. <https://doi.org/10.1128/iai.38.1.212-217.1982>.
- Schoeb, T R, K Dybvig, K F Keisling, M K Davidson, et J K Davis. 1997. « Detection of Mycoplasma Pulmonis in Cilia-Associated Respiratory Bacillus Isolates and in Respiratory Tracts of Rats by Nested PCR ». *Journal of Clinical Microbiology* 35 (7): 1667-70. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.7.1667-1670.1997>.
- Schoeb, T. R., K. C. Kervin, et J. R. Lindsey. 1985. « Exacerbation of Murine Respiratory Mycoplasmosis in Gnotobiotic F344/N Rats by Sendai Virus Infection ». *Veterinary Pathology* 22 (3): 272-82. <https://doi.org/10.1177/030098588502200310>.
- Shaw, Brandon M., Warren L. Simmons, et Kevin Dybvig. 2012. « The Vsa Shield of Mycoplasma Pulmonis Is Antiphagocytic ». Édité par J. N. Weiser. *Infection and Immunity* 80 (2): 704-9. <https://doi.org/10.1128/IAI.06009-11>.
- Simmons, Warren L., Amy M. Denison, et Kevin Dybvig. 2004. « Resistance of *Mycoplasma Pulmonis* to Complement Lysis Is Dependent on the Number of Vsa Tandem Repeats: Shield Hypothesis ». *Infection and Immunity* 72 (12): 6846-51. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.12.6846-6851.2004>.
- Stadtländer, C. T., H. L. Watson, J. W. Simecka, et G. H. Cassell. 1991. « Cytopathic Effects of Mycoplasma Pulmonis in Vivo and in Vitro ». *Infection and Immunity* 59 (11): 4201-11. <https://doi.org/10.1128/iai.59.11.4201-4211.1991>.
- Tanaka, Miyuu, Mizuki Kuramochi, Satoshi Nakanishi, Mitsuru Kuwamura, et Takashi Kuramoto. 2018. « Rat Polyomavirus 2 Infection in a Colony of X-Linked Severe Combined Immunodeficiency Rats in Japan ». *The Journal of Veterinary Medical Science* 80 (9): 1400-1406. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0107>.
- Tashiro, M., Y. Yokogoshi, K. Tobita, J. T. Seto, R. Rott, et H. Kido. 1992. « Tryptase Clara, an Activating Protease for Sendai Virus in Rat Lungs, Is Involved in

- Pneumopathogenicity ». *Journal of Virology* 66 (12): 7211-16. <https://doi.org/10.1128/JVI.66.12.7211-7216.1992>.
- Taylor-Robinson, D., P. M. Furr, H. A. Davies, R. J. Manchee, C. Mouches, et J. M. Bove. 1981. « Mycoplasmal Adherence with Particular Reference to the Pathogenicity of *Mycoplasma Pulmonis* ». *Israel Journal of Medical Sciences* 17 (7): 599-603.
- Wagner, April M., Jessie K. Loganbill, et David G. Besselsen. 2003. « Detection of Sendai Virus and Pneumonia Virus of Mice by Use of Fluorogenic Nuclease Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction Analysis ». *Comparative Medicine* 53 (2): 173-77.
- Wang, R. F., W. Campbell, W. W. Cao, C. Summage, R. S. Steele, et C. E. Cerniglia. 1996. « Detection of *Pasteurella Pneumotropica* in Laboratory Mice and Rats by Polymerase Chain Reaction ». *Laboratory Animal Science* 46 (1): 81-85.
- Ward, G. E., R. Moffatt, et E. Olfert. 1978. « Abortion in Mice Associated with *Pasteurella Pneumotropica* ». *Journal of Clinical Microbiology* 8 (2): 177-80. <https://doi.org/10.1128/jcm.8.2.177-180.1978>.
- Yao, Li-Chin, Peter Baluk, Jennifer Feng, et Donald M. McDonald. 2010. « Steroid-Resistant Lymphatic Remodeling in Chronically Inflamed Mouse Airways ». *The American Journal of Pathology* 176 (3): 1525-41. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090909>.
- Yiwen, Chen, Wu Yueyue, Qin Lianmei, Zhu Cuiming, et You Xiaoxing. 2021. « Infection strategies of mycoplasmas: Unraveling the panoply of virulence factors ». *Virulence* 12 (1): 788-817. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1889813>.
- Yoneda, K., et P. D. Walzer. 1981. « Mechanism of Pulmonary Alveolar Injury in Experimental *Pneumocystis Carinii* Pneumonia in the Rat ». *British Journal of Experimental Pathology* 62 (4): 339-46.
- Yoo, D., Y. Pei, N. Christie, et M. Cooper. 2000. « Primary Structure of the Sialodacryoadenitis Virus Genome: Sequence of the Structural-Protein Region and Its Application for Differential Diagnosis ». *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 7 (4): 568-73. <https://doi.org/10.1128/CDLI.7.4.568-573.2000>.

Partie V. Annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignements



FICHE RENSEIGNEMENT PAR RAT



NUMERO CLOVIS : T ____ - _____

ANIMAL

Nom : _____

Age (date de naissance) : _____

Sexe : _____

Poids : _____

NEC : /5

Origine : Laboratoire / Animalerie / Particulier

ENVIRONNEMENT

Substrat : _____

Fréquence nettoyage : _____

Produit entretien : _____

Type alimentation : _____

Autres animaux / Contact : _____

Autres rats / Contact : _____

DOSSIER MEDICAL

Antécédent médical : _____

Traitement au cours des 3 derniers mois : _____

Autres rats avec antécédent médical : _____

(Source : Docteur vétérinaire Emma Monge)



ETUDE SUR LA MYCOPLASMOSE RESPIRATOIRE DU RAT DE COMPAGNIE -
CONSENTEMENT ECLAIRE

Une étude sur la mycoplasme respiratoire chez le rat de compagnie est actuellement en cours au sein de la clinique NAC et Faune Sauvage de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Pourquoi cette étude ?

Cette étude a pour objectif de déterminer la prévalence de la mycoplasme (*Mycoplasma pulmonis*) dans les affections respiratoires chez le rat ainsi que le potentiel portage asymptomatique chez le rat de cet agent.

Comment mon rat participe à l'étude ?

Un prélèvement par flush nasal est réalisé. Il s'agit de mettre un faible volume dans les narines de votre rat et de récupérer le liquide qui va ressortir immédiatement.

Ce prélèvement peut être réalisé sur des rats vigils, cependant, certains rats peuvent trop bouger pour procéder au prélèvement et une tranquillisation au masque à l'isoflurane (anesthésie gazeuse) de courte durée juste le temps du prélèvement. Le réveil est rapide.

La recherche de *Mycoplasma pulmonis* est réalisée par analyse PCR sur le liquide récupéré lors du rinçage nasal.

Pour avoir les résultats de l'analyse, merci de nous laisser votre mail : _____

Je soussigné(e) _____ accepte que mon rat
_____ (numéro de dossier clovis T____ - _____) participe à l'étude.

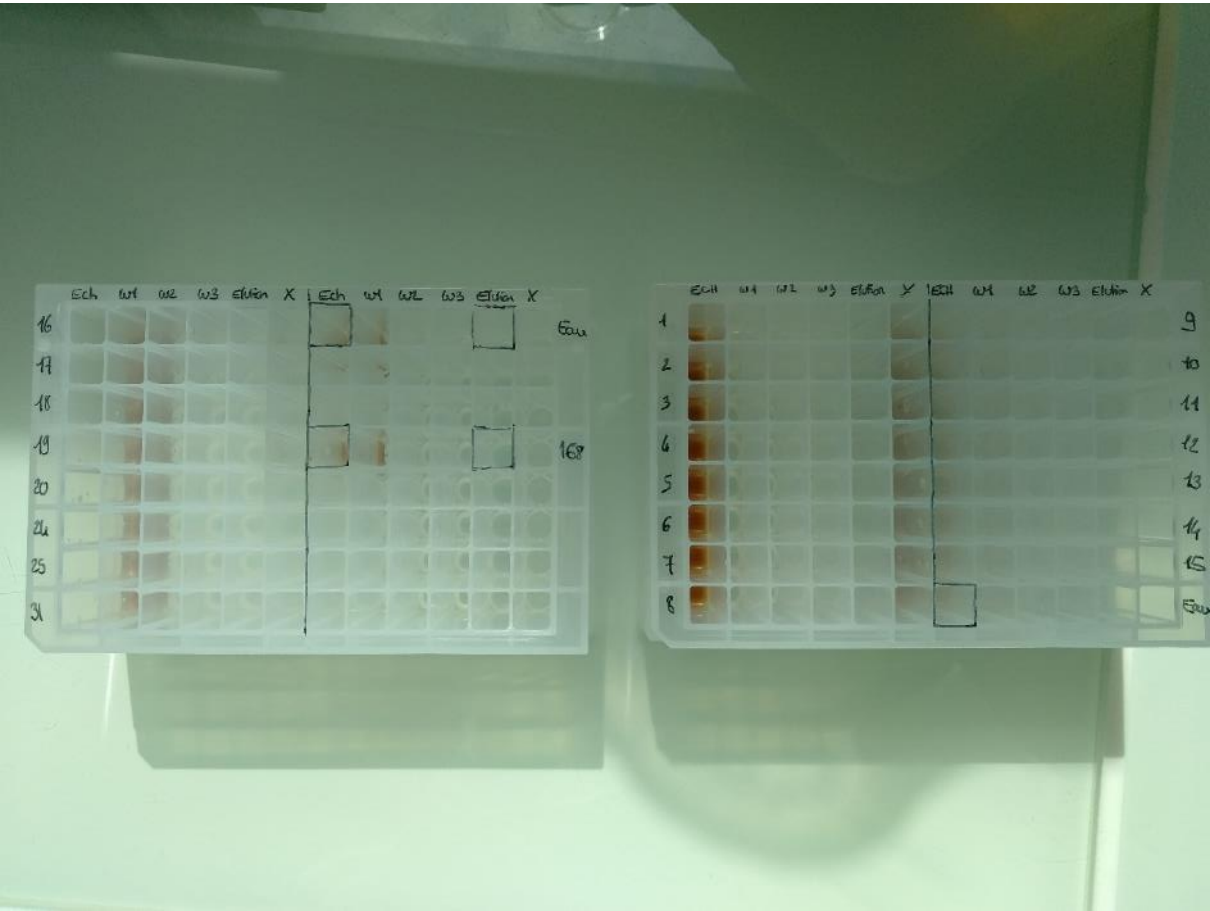
J'accepte – Je n'accepte pas (rayer la mention inutile) que mon rat soit tranquilisé si nécessaire pour la réalisation du prélèvement.

Date de réalisation : ____/____/____

Signature du propriétaire

Signature du clinicien procédant au prélèvement

Annexe 2 : Plaque de Deepwell avant son introduction dans le robot Ideal 32



(Source personnelle)

Annexe 3 : Tableaux de recensement des symptômes présentés par les rats ayant une atteinte respiratoire

Signe respiratoire	Rat concerné
Eternuement	1.1
Bruits respiratoires	1.1
Chromodacryorrhée	1.1
Bruits respiratoires	1.3
Bruits respiratoires	1.12
Abattement	1.12
Sifflements	1.12
Eternuement	1.14
Toux	1.14
Eternuement	1.15
Dyspnée	1.15
Bruits respiratoires	1.15
Eternuement	1.16
Eternuement	1.22
Bruits respiratoires	1.22
Sifflements	1.22
Eternuement	1.23
Bruits respiratoires	1.23
Eternuement	1.24
Eternuement	1.25
Eternuement	1.27
Jetage	1.27
Chromodacryorrhée	1.27
Eternuement	1.28
Eternuement	1.29
Eternuement	1.30
Eternuement	1.31
Bruits respiratoires	1.31
Eternuement	1.32
Eternuement	1.33
Jetage	1.33
Dyspnée	1.33
Bruits respiratoires	1.34
Eternuement	1.34
Abattement	1.34
Eternuement	1.35
Eternuement	1.36
Eternuement	1.37
Dyspnée	1.37
Bruits respiratoires	1.37

Symptômes	Nombre d'individus concernés
Eternuement	19
Bruits respiratoires	9
Dyspnée	3
Sifflements	2
Abattement	2
Chromodacryorrhée	2
Jetage	2
Toux	1
Total général	40

Annexe 4 : Tableau synthétique des résultats

Groupe	Rats	Age	Poids (g)	NEC	Provenance	Litière	Produit de nettoyage
Symptomatique	mâle	<1 an	>300		3 Animalerie	litière adaptée changée peu fréquemment	Ammonium quaternaire
Sain	mâle	<1 an	>300	>3	Animalerie	litière adaptée changée peu fréquemment	Ammonium quaternaire
Autre	mâle	2-3 ans	>300	<3	Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Autre	mâle	1-2 ans	>300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Autre	mâle	1-2 ans	>300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Autre	femelle	1-2 ans	>300		3 Particulier	litière adaptée changée fréquemment	vinaigre blanc
Autre	femelle	<1 an	<300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	savon
Autre	femelle	2-3 ans	>300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Autre	femelle	<1 an	<300	<3	Particulier	litière adaptée changée fréquemment	vinaigre blanc
Autre	mâle	2-3 ans	>300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Autre	femelle	2-3 ans	>300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Symptomatique	femelle	1-2 ans	>300		3 Particulier	litière adaptée changée fréquemment	savon
Autre	femelle	2-3 ans	>300		3 Association	litière adaptée changée peu fréquemment	eau
Symptomatique	femelle	2-3 ans	>300		3 Association	litière adaptée changée peu fréquemment	eau
Symptomatique	femelle	<1 an	<300		3 Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	vinaigre blanc
Autre	femelle	<1 an	>300	>3	Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	eau
Autre	femelle	<1 an	>300		3 Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	eau
Autre	femelle	<1 an	>300		3 Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	eau
Autre	femelle	<1 an	>300		3 Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	eau
Autre	femelle	1-2 ans	>300		3 Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	eau
Symptomatique	femelle	<1 an	>300		3 Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	eau
Symptomatique	femelle	1-2 ans	>300	>3	Animalerie	litière adaptée changée peu fréquemment	savon
Symptomatique	mâle	1-2 ans	>300	>3	Animalerie	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Symptomatique	femelle	2-3 ans	<300		3 Animalerie	litière inadaptée	eau
Symptomatique	femelle	2-3 ans	<300		3 Animalerie	litière inadaptée	eau
Autre	mâle	2-3 ans	>300	>3	Elevage	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Symptomatique	mâle	1-2 ans	>300	>3	Elevage	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Symptomatique	mâle	1-2 ans	>300	>3	Elevage	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Symptomatique	mâle	<1 an	<300		3 Animalerie	litière inadaptée	eau
Symptomatique	mâle	<1 an	<300		3 Animalerie	litière inadaptée	eau
Symptomatique	mâle	<1 an	>300		3 Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	savon
Symptomatique	mâle	<1 an	>300		3 Animalerie	litière adaptée changée fréquemment	savon
Symptomatique	femelle	<1 an	<300		3 Animalerie	litière inadaptée	savon
Symptomatique	femelle	1-2 ans	>300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Symptomatique	femelle	1-2 ans	<300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Symptomatique	femelle	1-2 ans	<300		3 Particulier	litière adaptée changée peu fréquemment	vinaigre blanc
Symptomatique	femelle	<1 an	<300		3 Animalerie	litière inadaptée	savon

Groupe	Alimentation	Congénères	Antécédents	Signes post adoption	type de cage	Chronicité	efficacité du	Résultat PCR	Symptomatologie
Symptomatique	Extrudés	oui	non	oui	grillagée	oui	non	positif	Signes respiratoires
Sain	Extrudés	oui	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	rhinite	non	grillagée	oui	modérée	positif	Signes respiratoires
Autre	Extrudés	non	non	non	grillagée			faiblement positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	non	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Symptomatique	Extrudés	oui	rhinite	oui	grillagée	oui	oui	faiblement positif	Signes respiratoires
Autre	Graines	oui	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Symptomatique	Graines	oui	rhinite	oui	grillagée	oui	non	faiblement positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés/ graines	oui	non	oui	grillagée	non	oui	positif	Signes respiratoires
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			faiblement positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			faiblement positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			faiblement positif	Absence de signes
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			faiblement positif	Absence de signes
Symptomatique	Extrudés	oui	rhinite	non	grillagée	non	oui		Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés/ graines	oui	non	non	grillagée	oui	modérée	positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés/ graines	oui	rhinite	non	grillagée	oui	modérée	positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés/ graines	oui	rhinite	oui	grillagée	oui	modérée	positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés/ graines	oui	rhinite	oui	grillagée	oui	modérée	faiblement positif	Signes respiratoires
Autre	Extrudés	oui	non	non	grillagée			positif	Absence de signes
Symptomatique	Extrudés	oui	non	non	grillagée	non	oui	positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés	oui	non	non	grillagée	non	oui	faiblement positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Graines	oui	non	oui	grillagée	non	oui	positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Graines	oui	non	oui	grillagée	oui	modérée	positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Graines	non	non	oui	grillagée	non		positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Graines	non	non	oui	grillagée	non		positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés/ graines	oui	non	oui	grillagée	non		positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés	oui	rhinite	non	grillagée	non		positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés	oui	rhinite	non	grillagée	non		positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Extrudés	oui	rhinite	non	grillagée	non		positif	Signes respiratoires
Symptomatique	Graines	oui	non	oui	grillagée	oui	non	positif	Signes respiratoires

Annexe 5 : tableau de présentation des résultats de PCR

Rat	Résultat PCR
1	Positif
2	Positif
3	Positif
4	Faiblement positif
5	Positif
6	Positif
7	Positif
8	Positif
9	Positif
10	Positif
11	Positif
12	Faiblement positif
13	Positif
14	Faiblement positif
15	Positif
16	Faiblement positif
17	Faiblement positif
18	Positif
19	Faiblement positif
20	Faiblement positif
21	
22	Positif
23	Positif
24	Positif
25	Faiblement positif
26	Positif
27	Positif
28	Faiblement positif
29	Positif
30	Positif
31	Positif
32	Positif
33	Positif
34	Positif
35	Positif
36	Positif
37	Positif

LE FOLL Audrey,
Pour le diplôme d'état de « Docteur Vétérinaire »

Etiologie infectieuse des affections respiratoires chez le Rat NAC

Mots clés :

- *Mycoplasma pulmonis*
- *Rattus rattus*
- PCR
- Rats domestiques
- Maladie Respiratoire Chronique Murine

Résumé :

Les affections respiratoires sont un motif extrêmement fréquent de consultation chez le rat de compagnie. Or, ces troubles sont souvent le résultat d'une association complexe de facteurs environnementaux et infectieux.

Dans cette étude basée sur une population de 37 individus, nous avons cherché à mesurer, en utilisant la PCR sur flush nasal, la prévalence du portage de *Mycoplasma pulmonis* et à comprendre les facteurs pouvant être à l'origine d'une expression symptomatique chez les rats domestiques.

Nous avons ainsi montré une prévalence de 100% au sein de notre population comprenant 57% d'individus symptomatiques à divers degrés. L'étude des facteurs environnementaux a montré le rôle d'une alimentation et d'une litière adaptées dans la limitation des risques de développement de signes cliniques. Les rats provenant d'animalerie apparaissent également dans cette étude comme plus exposés au déclenchement de signes respiratoires dans la semaine suivant leur adoption.

Infectious etiology of respiratory diseases in pet rats

Key words :

- *Mycoplasma pulmonis*
- *Rattus rattus*
- Pet rats
- PCR
- Chronic Murine Respiratory Disease

Abstract :

Respiratory diseases are quite common reasons for consultation in exotic pet rats. Most of the time, these disorders are the result of a complex combination of environmental and infectious factors.

In this study, based on a 37 rats population, we tried to assess the carriage prevalence of *Mycoplasma pulmonis* by using PCR on nasal flush samples. We also tried to understand the factors responsible for the onset of clinical respiratory signs in pet rats.

We have thus shown a 100% prevalence in our study population in which 57% of the rats were showing clinical signs. The study of environmental factors revealed the positive role of adequate nutrition and bedding conditions on the reduction of the risk to develop respiratory clinical signs. On the contrary, pet rats from pet shops appeared to be more exposed to the onset of respiratory signs during the week following their adoption.

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2021