

Connaissances sur la pathogénicité de *Mycoplasma bovis* et moyens de prévention contre une infection

Auteur : Brunin, Sébastien

Promoteur(s) : Mainil, Jacques

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2018-2019

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/7113>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

Connaissances sur la pathogénicité de *Mycoplasma bovis* et moyens de prévention contre une infections

Knowledge about the pathogenicity of *Mycoplasma bovis* and ways to prevent infection

Brunin Sébastien

Mainil Jacques

Docteur en médecine vétérinaire, Licencié en biologie moléculaire, Professeur

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade de Médecin vétérinaire

Année académique 2018/2019

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

Remerciements

Je tiens à remercier l'ensemble des professeurs que j'ai rencontré durant mon parcours et qui ont participé à ma formation.

Je remercie également ma famille et mes amis qui m'ont accompagnés durant toutes ces années d'études.

Je remercie mes 2 maîtres de stage, Philippe Peeters et Philippe Antoine, qui m'ont accueilli et permis d'entrevoir le métier de vétérinaire.

Je remercie mon promoteur, Jacques Mainil, qui m'a permis de réaliser mon travail sur un sujet qui m'interloquait.

Connaissances sur la pathogénicité de *Mycoplasma bovis* et moyens de prévention contre une infection

Objectif du travail

- S'intéresser aux facteurs impliqués dans la pathogénicité de *Mycoplasma bovis*.
- Se pencher sur les sources de contamination, les voies de transmission pour un élevage bovin.
- Identifier des mesures préventives au vu des possibilités de diagnostic et de contrôle disponibles.

Résumé

Mycoplasma bovis (*M. bovis*) est un agent pathogène émergent à travers le monde et pour lequel se manifeste une attention grandissante . En effet, il est impliqué dans plusieurs pathologies courantes qui affectent les bovins. *M. bovis* est responsable principalement de mammites, de bronchopneumonies et d'arthrites mais intervient également dans d'autres affections. Son impact réel sur l'économie bovine n'est pas connu mais il est vraisemblablement très important car il intervient dans des pathologies majeures. De plus, vu l'implication d'autres bactéries plus connues et plus facilement isolables , la participation réelle de *M. bovis* est fortement sous estimée.

Un autre problème lié à *Mycoplasma bovis* est sa faible réponse ainsi que l'émergence de résistance aux traitements antibiotiques les plus communément utilisés. Cette problématique entraîne une augmentation des taux de mortalités et le recours à des antibiotiques dont l'usage est contrôlé.

D'autre part, les mécanismes à la base de sa pathogénicité sont encore largement inconnus et demandent donc de s'y attarder afin de mieux les comprendre et pouvoir développer des mesures de contrôle et de prévention. Je me suis donc intéressé aux facteurs qui interviennent dans cette

pathogénicité. Par ailleurs, le rôle joué par *M. bovis* est encore sujet à discussion car pour certains *M. bovis* est considéré comme un agent primaire tandis que pour d'autres, c'est un agent compliquant.

Enfin , durant mon stage externe, j'ai pu constater les difficultés auxquelles un éleveur était confronté face aux conséquences sanitaires engendrées par *Mycoplasma bovis*. Je me suis attardé par conséquent aux facteurs de risque et aux moyens de prévention qu'il était possible de mettre en place pour minimiser les risques d'infecter et de transmettre cet agent pathogène à l'ensemble du troupeau.

Knowledge about pathogenicity of *Mycoplasma bovis* and ways to prevent infection

Aim of the work

- Focus on the factors involved in the pathogenicity of *Mycoplasma bovis*.
- Look at the sources of contamination, the routes of transmission for a cattle farm.
- Identify preventative measures in view of available diagnostic and control options.

Summary

Mycoplasma bovis (*M. bovis*) is an emerging pathogen around the world for which increasing attention is being paid. Indeed, he is involved in several common pathologies that affect cattle. *M. bovis* is mainly responsible for mastitis, bronchopneumonia and arthritis but is also involved in other disease. Its real impact on the cattle's economy is unknown but it is probably very important because it play in major pathologies. In addition, its involvement of other more well-known and easily isolatable bacteria, the real implication of *M. bovis* is greatly underestimated.

Another problem with *Mycoplasma bovis* is its poor response as well as the emergence of resistance to the most commonly used antibiotic treatments. This problem leads to an increase in mortality rates and the use of antibiotics whose use is controlled.

On the other hand, the mechanisms underlying its pathogenicity are still largely unknown and therefore need to be studied in order to better understand them and to be able to develop control and prevention measures. I was therefore interested in the factors involved in this pathogenicity. On the other hand, the role played by *M. bovis* is still subject to discussion because for some *M. bovis* is considered a primary agent while for others it is a complicating agent.

Finally, during my external internship, I could to see the difficulties a breeder was facing in the face of the health consequences caused by *Mycoplasma bovis*. I therefore focused on the risk factors and

the means of prevention that could be put in place to minimize the risk of infecting and transmitting this pathogen to the entire herd.

Table des matières

1. Mise en situation.....	8
2. Introduction.....	9
3. Mycoplasma bovis.....	9
1. Description.....	9
2. Pathogenèse.....	10
3. Diagnostic.....	15
1) Culture.....	16
2) ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).....	17
3) PCR.....	19
4. Traitement.....	19
5. Pathologies associées.....	21
1) Mammite.....	21
2) Pneumonie.....	23
3) Arthrite.....	25
4) Otite.....	25
6. Epidémiologie.....	26
7. Impact économique.....	30
8. Prévention.....	31
9. Conclusion.....	35
10. Bibliographie.....	36

Connaissances sur la pathogénicité de *Mycoplasma bovis* et moyens de prévention contre une infection

1. Mise en situation

Suite à la réalisation de mes stages externes en gros animaux, j'ai souhaité réaliser un travail sur *Mycoplasma bovis*. Durant ceux-ci, j'ai pu constater les difficultés d'une exploitation qui rencontrait d'énormes problèmes de santé à cause de cette bactérie.

Cette exploitation se situait dans la province du Hainaut. Elle réalisait l'élevage de bovins de race BBB et de porcs. Celle-ci réalisait entre 70 et 80 vêlages par an. Elle effectuait également l'engraissement de ses animaux.

L'éleveur était confronté depuis des mois au même schéma d'affection dans ses veaux. En effet, les veaux naissaient apparemment sains à la naissance et quelques jours plus tard développaient des abcès au niveau des boucles d'identification suivis d'otite purulente. Certains veaux présentaient suite à cela des troubles de l'équilibre et parfois des troubles nerveux. Ces veaux, pour certains, développaient de l'arthrite voire des polyarthrites et pour d'autres des bronchopneumonies. Parfois, des veaux présentaient l'ensemble de ces affections.

Bien entendu, différents traitements avaient été réalisés mais n'apportaient seulement que de faibles améliorations. Ils permettaient une réduction de l'évolution des pathologies et une diminution des symptômes mais les veaux étaient toujours très affectés. Les veaux qui survivaient avaient des retards de croissance notables et les conséquences étaient bien visibles chez les veaux plus âgés et les génisses présentes dans l'élevage qui avaient été touchées dans leurs jeunes âges.

Vu la situation, un audit avait été mené afin d'identifier les problèmes éventuels au niveau de l'élevage en vue d'éviter à nouveau pareille situation dans la prochaine saison de vêlage.

2. Introduction

Bien qu'il existe plus d'une multitude d'espèces de mycoplasmes, *Mycoplasma bovis* (*M.bovis*) est l'espèce qui est responsable de problèmes de santé important en élevage bovin. En effet, cette bactérie est à la base de pertes économiques considérables dans le secteur de l'élevage (Pfützner et Sachse, 1996). Les maladies dans lesquelles *M. bovis* est impliquée sont diverses. Elle est impliquée dans des maladies telles que les bronchopneumonies, les mammites, les arthrites et les otites principalement. Ces affections sont loin d'être spécifiques et compliquent par conséquent l'identification, le traitement et le contrôle de l'infection. On considère que la prévalence de *M. bovis* est d'ailleurs sous estimée comme d'autres bactéries plus facilement isolables sont souvent mises en évidence (Nicholas et Ayling, 2003). Par ailleurs, le statut exact de *M. bovis* n'est pas encore éludé mais il est admis que *M. bovis* peut être soit un agent primaire soit un agent compliquant.

Une autre source de difficulté face aux affections liées à *M. bovis* est la faible efficacité des traitements antibiotiques habituellement mis en place. Cela nécessite donc de recourir à des méthodes de prévention et de contrôle afin de gérer ce pathogène. Dans cette optique, *Mycoplasma bovis* a fait son apparition dans les kits achats de l'ARSIA depuis quelques années en Belgique.

3. *Mycoplasma bovis*

1. Description

Mycoplasma bovis fait partie d'une classe bactérienne appelée Mollicutes (Pfützner et Sachse, 1996). Cette classe tire son nom du fait que les bactéries qui la composent ont perdu leurs parois bactériennes. Elles sont par conséquent entourées d'une membrane plasmique complexe composée de 3 couches (Caswell et Archambault, 2008). *M. bovis* est caractérisée par une minuscule taille (0,15-0,8 µm), accompagné par un minuscule génome qui compte 600 à 1000 gènes (Salima, 2011). Elle détient de grandes capacités de déformation grâce à sa membrane (Caswell et Archambault, 2011). Par contre, sa capacité de survie est limitée dans l'environnement bien qu'on ait relevé la formation de biofilm chez certaines souches (Bürki et al., 2015).

Leurs capacités de biosynthèse est également restreintes, ce qui nécessite une association intime avec l'hôte pour obtenir les éléments nécessaires à sa survie et sa croissance.

M. bovis est incapable de fermenter le glucose ni d'hydrolyser l'arginine . Elle puise son énergie à partir d'acides organiques tels que le lactate ou le pyruvate (Miles et al., 1988, Nicholas et al., 2003).

M. bovis est bien adaptée aux surfaces recouvertes d'une muqueuse telles que la muqueuse respiratoire, urogénitale, gastro-intestinale, oculaire ou encore mammaire. La muqueuse respiratoire est le site de colonisation pour lequel *M. bovis* apparaît la mieux adaptée. Elle est capable de se maintenir à son niveau durant de longues périodes sans occasionner des signes cliniques (Maunsell et al., 2011).

2. Pathogénèse

Mycoplasma bovis est adapté pour vivre à la surface des muqueuses (Caswell et Archambault, 2008) comme énoncé plus haut et envahir les tissus adjacents ainsi que persister au niveau de ces sites. Le tropisme tissulaire de *M. bovis* est varié, il est capable de s'installer au niveau du parenchyme pulmonaire, mammaire, au niveau de l'épithélium trachéo-bronchique, des membranes synoviales ou des surfaces articulaires.

Dans le cas des pathologies respiratoires liées à *M. bovis*, le site primaire de colonisation semblerait être la muqueuse des tonsilles palatines et pharyngiennes des voies respiratoires supérieures (Maunsell et al., 2012) mais sans être accompagné d'une excrétion significative au niveau des sécrétions nasales. Cette colonisation du tractus respiratoire supérieur représente un facteur de risque de développement de maladies cliniques à l'échelle du troupeau mais aucune corrélation franche n'a été relevée à l'échelle de l'animal (Maunsell et al., 2011).

La pathogénicité d'une bactérie repose sur sa capacité d'adhésion, d'invasion et d'échappement aux défenses de l'organisme. *M. bovis* semble être pourvu de plusieurs facultés impliquées dans ces étapes. Actuellement, nous ne possédons que quelques éléments de piste quant aux systèmes impliqués dont est pourvu *M. bovis*.

L'étape d'adhésion est capitale pour permettre l'infection et semble s'appuyer sur plusieurs protéines qui sont responsables de l'attachement et la fusion de *M. bovis* à la membrane plasmique de la cellule hôte. Des interactions protéiques interviennent car le traitement avec des inhibiteurs de la trypsine diminue la capacité d'adhésion de *M. bovis* (Burki et al., 2015, Thomas et al., 2003, Burki et al., 2015). Cette étape est clé pour la survie de *M. bovis* qui possède des capacités de biosynthèse restreintes et dépend de son hôte pour les apports en acides aminés, en nucléotides et en lipides (2008, Nicholas et al., 2003, Maunsell et Archambault, 2008). L'étape d'adhésion serait également la température dépendant comme montré lors d'une étude in vitro pour la souche PG 45 qui adhérerait plus facilement à une température de 37°C. De plus, l'adhésion serait influencée par le type cellulaire entrepris et augmenterait selon le degré de virulence de la souche de *M. bovis* (Bürki et al., 2015). Ainsi, *M. bovis* peut s'adhérer à diverses cellules comme les neutrophiles et les macrophages. Il est capable aussi de s'installer à la surface de l'épithélium respiratoire et se multiplier à son niveau. *M. bovis* pénètre cet épithélium via les espaces intercellulaires où il bénéficie d'une certaine protection et peut atteindre par la suite la circulation sanguine (Peek et Divers, 2018).

Comme mentionné, plusieurs protéines semblent être impliquées dans le mécanisme d'adhésion de *M. bovis*. Chez quelques souches de *M. bovis*, les lipoprotéines VSP (Variable Surface Protein) seraient impliquées dans l'adhésion cellulaire (Maunsell et al., 2015, Thomas et al., 2003, Lysnyansky et al., 2001, Nicholas et al., 2003) en plus de ses propriétés antigéniques variables. D'autres protéines de surface ont montré être impliquées dans le processus d'adhésion de *M. bovis* comme la protéine pMB67 et P26 (Berhens et al., 1996). L'adhésion cellulaire pourrait être également facilitée par des protéines qui fixent le plasminogène dont notamment une enzyme glycolytique dénommée α -enolase qui pourrait intervenir aussi par son activité protéolytique dans les mécanismes d'invasion et de dissémination (Song et al., 2012). Deux autres protéines, la lipoprotéine P27 et la protéine tnrFO (méthylentetrahydrofolate-tRNA-(uracil-5-)-methyltransferase), interviendraient lors de cette étape par leurs capacités à fixer à la fibronectine présente dans la matrice extra-cellulaire et pourraient jouer également un rôle dans l'internalisation de la bactérie (Guo et al., 2017, Chen et al., 2018). L'enzyme NOX (NADH oxydase) a été identifiée lors d'une étude comme étant une protéine adhésive (Zhao et al., 2013, Guo et al., 2017). La capacité d'adhésion ne serait pas liée à un tropisme cellulaire particulier mais serait en relation avec le pouvoir pathogène de la souche (Thomas et al., 2003).

Par ailleurs, *Mycoplasma bovis* fait partie d'une population bactérienne très dynamique car elle serait capable de varier son profil antigénique (Rosengarten et al., 1994, Sachse et al., 2000, Bürki et al., 2015) comme d'autres espèces de mycoplasme. Cette capacité serait possible grâce aux lipoprotéines Vsp qui composent sa membrane. En effet, ces lipoprotéines peuvent modifier leurs surfaces antigéniques à haute fréquence ainsi que leurs tailles permettant à *M. bovis* de s'adapter aux conditions micro-environnementales (Rosengarten et al., 1994, Berhens et al., 1994, Maunsell et al., 2009). Ces mécanismes seraient responsables des capacités d'évasion vis-à-vis du système immunitaire de l'organisme hôte et participeraient au développement vers un état chronique des affections. Cette habilité repose sur 5 protéines Vsp dont l'encodage est réalisé à partir de 13 gènes «VSP» qui sont responsables de la variabilité antigénique de ces protéines de surface. Leurs expressions sont régulées par un système interrupteur ON-OFF (Ganzalez et al., 2003). Ces lipoprotéines sont basées sur la transcription de gènes organisés sous la forme de cluster chromosomal capable de générer une multitude de lipoprotéines Vsp basé sur des réarrangements intervenant à haute fréquence au sein des chromosomes (Lysnyansky et al., 1996). Des événements de mutation au cours desquelles des recombinaisons entre gènes, insertions et délétions se produisent lors de la multiplication de *M. bovis* et permettent d'aboutir à des modifications phénotypiques de ces protéines de surface. En plus, une co-expression de ces gènes a été observée entraînant à une couverture en mosaïque de la surface de *M. bovis* (Bürki et al., 2015). En revanche, l'hétérogénéité antigénique est indépendante de la zone géographique, du type d'affection, du site d'isolation et peut être retrouvée chez un même animal (Rosengarten et al., 1994). Néanmoins, cette faculté de varier l'expression de ses antigènes de surface semblerait expliquer en partie la différence de virulence et de tropisme tissulaire rencontrée entre les souches de *M. bovis* et fait partie des difficultés pour lesquelles il est difficile d'élaborer un vaccin. Il y aurait une hétérogénéité vraisemblablement au sein même d'une souche (Lysnyansky et al., 2001, Nicholas et al., 2003).

Mycoplasma bovis est capable d'envahir plusieurs types cellulaires (PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cell), macrophages, érythrocytes) (Bürgi et al., 2018) et indique la possession de moyens d'évasion vis-à-vis du système immunitaire. Cette capacité d'évasion semble reposer sur des mécanismes qui interfèrent avec ce système. La pathogénicité de *M. bovis* serait accentuée en partie suite à la réponse immunitaire inadéquate du système immunitaire à son encounter.

Ainsi, *M. bovis* est capable de survivre dans les vacuoles de phagocytose ce qui suppose une altération au niveau des étapes de cette dernière.

Il semblerait que *M. bovis* soit capable d'inhiber le burst oxydatif (Bürki et al., 2015) généré par les neutrophiles par interférence sur la signalitique des protéines kinases C.

M. bovis a montré présenter des propriétés pro- et anti-apoptotiques à l'encontre de différents types cellulaires (neutrophiles, lymphocytes, monocytes et macrophages) au cours de différentes études (T. Maina et al., 2019).

M. bovis détiendrait dans son arsenal aussi une toxine qui exacerberait la réponse inflammatoire. Cette toxine augmenterait la perméabilité des capillaires (Caswell et al., 2008, Porret-Blanc., 2017) et activerait le système du complément.

Mycoplasma bovis est capable de moduler la réponse immunitaire développée au moyen d'actions directes mais aussi indirectes (Maunsell et al., 2011) qui varient en fonction du type cellulaire.

M. bovis interagit avec le système immunitaire inné en promouvant la production de médiateurs immunitaires tels que les protéines inflammatoires (SAA, haptoglobine) (Dudek et al., 2013), les cytokines pro-inflammatoires, les interleukines (10, 12, 6, 8, 1 β) , de TNF- α , la lactoferrine, en inhibant la production de NO et augmentant le relâchement d'élastase. La présence de *M. bovis* réduit l'expression de certains marqueurs immunitaires (MHC2) impliqués dans la présentation antigène (Jimbo et al., 2017, Gondeira et al., 2018, Zbinden et al., 2015). *M. bovis* est capable d'inhiber la formation de NET (neutrophil extracellular traps) par les neutrophiles ou encore de digérer cette structure par le biais d'une enzyme nucléase (MnuA) en plus de l'action de l'interleukine 10 promue (Gondaira et al, 2017, Mitiku et al., 2018).

La production d'IFN- γ par les cellules T semble être aussi induite par *M. bovis*. De même, il serait capable de prévenir la prolifération des cellules PBMC sans altérer les fonctions (Van der Merwe et al., 2010). La réponse adaptative développée à l'encontre de *M. bovis* semblerait être biaisée vers une réponse de type TH2 (Vanden Bush et Rosenbush, 2003, Caswell et al.) moins efficace pour l'élimination de bactéries. La concentration des IgG1 serait plus élevée comparativement aux IgG2 qui sont à la base de processus d'opsonisation plus faible (Howard et Taylor, 1983, Hermeyer et al., 2012, Vanden Bush et Rosenbush, 2003) .

Une des caractéristiques de *Mycoplasma bovis* est son implication dans des pathologies multi-agents. On constate souvent une co-infection bactérienne dans les cas de pneumonie ou même les otites. *M. bovis* est en effet généralement associé à d'autres agents pathogènes tels que *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* et *Histophilus somni*, les virus BVD (Bovine Viral Diarrhea),

PI3 (Parainfluenza virus-3, BRSV (Bovine Respiratory Syncytial Virus). On évoque d'ailleurs un éventuel effet de synergie entre ces différents agents (Bürki et al., 2015).

Cependant, *M. bovis* semble être plus souvent en interaction avec d'autres bactéries. *M. bovis* est ainsi considéré soit comme un facteur prédisposant (Hermeyer et al., 2012) pour l'installation d'autres bactéries à la base des lésions ou bien comme un agent compliquant au niveau des infections initiées par d'autres bactéries (Bürki et al., 2015). L'association avec le virus BRSV ne semble pas augmenter la sévérité des signes cliniques ainsi que les lésions (Thomas et al., 1986). Quant à l'association avec le virus du BVDV où le rôle immunosuppresseur potentiel est évoqué (Shahriar et al., 2002), les données relatives sont contradictoires (Bürgi et al., 2018).

D'autre part, *M. bovis* stimulerait la réponse immunitaire par dérivation vers les macrophages, les cellules T et via le système du complément. *M. bovis* serait capable d'activer les macrophages et d'induire le recrutement excessif de neutrophiles et de lymphocytes au niveau du site d'infection (Maunsell et al., 2011). *M. bovis* semble également être capable de moduler la réponse immunitaire en contrôlant l'expression des récepteurs PD1. Cela aurait pour conséquence la diminution de la prolifération des cellules T ainsi que la diminution de l'activité cytotoxique (Suleman et al., 2018).

D'autres éléments participent à la pathogénicité de *M. bovis*. Ainsi, la production de peroxyde d'hydrogène a été relevée chez les mycoplasmes et serait variable entre les souches de *M. bovis* (Caswell et al., 2007). Ce produit entraîne la mort cellulaire, diminuerait la mobilité des cils et empêcherait la peroxydation des lipides membranaires.

Il a été noté aussi la production de ROS et de RNS qui seraient impliqués dans la genèse des lésions relevées au niveau des poumons.

L'adaptation de *M. bovis* au milieu aérobique pourrait être liée à la présence de l'enzyme NOX (NADH oxydase) qui réduirait l'oxygène en H₂O₂ ou en H₂O permettant ainsi en partie la détoxification du milieu (Zhao et al., 2017).

Enfin, *M. bovis* est incapable de persister longtemps en dehors de son hôte en raison de sa susceptibilité à la sécheresse. Néanmoins, il a montré être capable de survivre à 4°C sur des éponges durant 57 jours, dans le lait durant 54 jours, dans la paille 20 jours et dans le bois et l'eau pendant 17 jours (Pfützner et al., 1996). Par ailleurs, *M. bovis* ainsi que d'autres espèces de mycoplasmes seraient capables de former des biofilms et par conséquent d'augmenter leurs capacités de survie dans l'environnement et vis-à-vis des défenses immunitaires de l'hôte. En effet, la formation

de biofilm permet une meilleure résistance face à la sécheresse et la dessiccation. Cependant, il semblerait qu'il ait une différence de capacité entre souches quant à la formation des biofilms et serait en corrélation avec le profil Vsp exprimé. Il est avancé aussi une augmentation de la résistance face aux antibiotiques mais n'est pas vérifié en ce qui concerne *M. bovis* (McAuliffe et al., 2006). La formation de biofilm par *M. bovis* représente un moyen de persister chez l'organisme hôte mais par conséquent faire perdurer l'infection à l'échelle du troupeau.

Comme *M. bovis* ne dispose pas de paroi, il bénéficie d'une protection intrinsèque contre les antibiotiques dont le mécanisme d'action repose sur l'inhibition de la synthèse de celui-ci. Cette absence de paroi bactérienne entraîne que les composants habituellement reconnus par le système immunitaire pour les autres bactéries sont inexistantes et équipent *M. bovis* de facteurs de virulence propres (Zbinden et al., 2015).

Une autre particularité de *M. bovis* est sa spécificité d'hôte (Pfützner et al., 1996) ce qui signifie sa grande adaptation aux bovins. *M. bovis* compte une multitude de souches qui semble diverger entre les troupeaux et indiquerait une spécificité selon le troupeau (Aebi et al., 2012). Par ailleurs, la possibilité de transfert de gènes par recombinaison entre espèces de mycoplasme n'est pas exclue et pourrait participer à la pathogénicité de *M. bovis*.

3. Diagnostic

Les signes cliniques observés lors de pathologies liées à *M. bovis* sont loin d'être spécifiques, le prélèvement d'échantillons est donc primordial afin de déterminer l'implication de cette dernière.

La responsabilité de *M. bovis* doit être suspectée quand des analyses bactériologiques classiques reviennent négatives et qu'une inefficacité des traitements est observée. De même si plusieurs individus manifestent une ou plusieurs entités pathologiques en adéquation avec *M. bovis*, cela doit orienter vers la recherche de cette dernière. Un diagnostic rapide est nécessaire pour mettre en place des mesures efficaces contre *M. bovis* (Pfützner et al., 1996) comme peu de moyens de lutte sont à notre disposition.

Pour assurer les chances d'identifier *Mycoplasma bovis*, il faut effectuer des prélèvements. A ce propos, le choix se fait en fonction des systèmes atteints mais il a été montré que pour les affections

respiratoires inférieures, le lavage broncho-alvéolaire est plus approprié qu'un écouvillon nasal pour les pathogènes respiratoires (Thomas et al., 2003) car il est plus représentatif de la flore résidente et le risque de contamination est plus faible (Van Driessche et al., 2017). Il augmente les chances d'obtenir des cultures pures et d'éviter la contamination par d'autres agents mais cela reste peu fréquent car *Mycoplasma bovis* est souvent en association avec d'autres bactéries (Peek et al., 2018). Le recours à l'écouvillonnage nasal est plus indiqué pour l'évaluation du statut sanitaire d'un troupeau (Salima, 2011) Sur animal mort, il est possible de réaliser des analyses à partir de parenchyme pulmonaire, de la glande mammaire ou encore du liquide synovial. Il est primordial de respecter des mesures d'hygiène durant les prélèvements afin d'éviter toute contamination qui compliquerait la mise en évidence de *M. bovis*. Les prélèvements doivent être conservés au frais et protégés de la chaleur durant le transport. Ils doivent être conduits au laboratoire dans les 24 h ou alors ils doivent être conditionnés dans un milieu et réfrigéré (Caswell et al., 2008). Enfin, l'analyse des prélèvements doit être la plus rapide possible (Pfützner et al., 1996).

L'isolation de *M. bovis* à partir des poumons n'est pas souvent aisée et surtout en cas d'atteinte chronique à cause des traitements antibiotiques, de la contamination par d'autres bactéries (Adegboye et al., Nicholas et al.). Lors d'une étude qui s'est penchée sur l'effet de la durée de stockage et la température de décongélation du colostrum sur les chances de retrouver *M. bovis*, il est apparu que ces deux facteurs n'avaient que très peu d'influence (Gille et al., 2018).

Une approche économique pour identifier les animaux infectés après un test du lait de tank positif est de réaliser des pools d'échantillons de lait afin d'écarter les animaux susceptibles d'être porteurs et de les tester individuellement par la suite (Nicholas et al., 2016, Parker et al, 2017).

1) Culture

La culture était la méthode la plus commune pour la détection et l'identification des mycoplasmes.

Cette méthode présente une grande sensibilité et spécificité. Elle est intéressante dans le cadre d'un diagnostic individuel et peut servir pour la mise en place de mesures de contrôle. Malheureusement, elle demande un long délai d'attente pour obtenir le résultat à cause de la croissance lente de *Mycoplasma bovis*. En plus, cette technique peut résulter sur des faux négatifs suite à la contamination du prélèvement (Pfützner et al., 1996).

La culture de *M. bovis* demande l'utilisation de milieux spécifiques et très souvent enrichis en acides aminés (Parker et al., 2017) en raison de son incapacité de les synthétiser ainsi qu'une partie de ses acides gras. Le temps d'incubation est assez long car il nécessite environ 7 à 10 jours. L'aspect des colonies des mycoplasmes est celui d'un « œuf sur le plat ». Elle peut produire un film et des spots et donner une couleur orangée en fonction du milieu de culture (Caswell et al., 2008, Nicholas et al., 2003).

Le soucis avec cette méthode est que l'isolation de *M. bovis* peut être compromise à cause d'une contamination par une autre bactérie ou encore la réalisation d'un traitement antibiotique. Il faut également pour la détection que l'animal prélevé excrète *M. bovis* sous forme vivante. Cette méthode possède d'autres limites liées notamment à *M. bovis* qui ne peut pas proliférer dans le lait. De plus le choix des échantillons, le transport et le stockage sont essentiels pour minimiser la croissance d'autres bactéries, maximiser la viabilité de *M. bovis* et la croissance sur le milieu de culture. Si l'envoi au laboratoire a lieu dans les 2 jours, on peut garder les prélèvements à une température de 4 °C, au-delà il faut les congeler. A partir du lait de tank, la probabilité d'identifier un troupeau infecté est de 33 %. Pour augmenter les chances, il est recommandé de réaliser plusieurs échantillons sur plusieurs jours ou de réaliser des groupes (Parker et al., 2017).

Enfin, la culture peut résulter sur la croissance d'autres bactéries dont les colonies sont morphologiquement semblables et conclure à un résultat faussement positif. L'identification de l'espèce est donc nécessaire. Pour ce faire, il faut effectuer une identification après la culture pour prouver l'identité et par conséquent la pathogénicité du mycoplasme (Wisselink et al., 2019) car *M. dispar*, *M. argini* et *M. bovirhinis* peuvent être présents.

2) ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

Cette méthode peut fonctionner de 2 façons, soit la détection directe de la bactérie via ses antigènes soit la détection indirecte d'anticorps à l'encontre de *Mycoplasma bovis*. La technique la plus commune est l'indirecte. Elle peut être réalisée sur le lait ou sur sang et a l'avantage de présenter une grande sensibilité. Elle représente la méthode de choix pour réaliser un screening à l'échelle du troupeau et lors d'achat d'animaux (Pfützner et al., 1996). Elle est intéressante pour le suivi épidémiologique et plus adaptée aux animaux âgés car une interférence avec les anticorps maternels

est possible (Salima, 2011). Son intérêt est le plus grand dans les premières étapes d'une infection afin de d'écarter les animaux infectés (Nicholas et al. 2003).

Le problème lié à la méthode directe est la capacité de variation antigénique dont dispose *M. bovis* qui pourrait rendre cette méthode de détection inefficace ainsi que des réactions croisées avec *M. bovirhinis* (Ayling et al., Nicholas et al.).

La détection sérologique est une méthode intéressante car le niveau d'anticorps dans le sang est élevé durant plusieurs mois (environ 6mois). L'avantage de cette technique est que si un traitement a été mis en place, il n'affecte pas le résultat (Nicholas et al., 2015). C'est particulièrement utile quand des antibiotiques ont été utilisés comme ils peuvent interférer avec la croissance bactérienne (Caswell et Archambault, 2008, Nicholas et al., 2003, Parker et al., 2017). Cela indique également l'état invasif d'une infection comme un animal porteur séro-convertit rarement (Nicholas et al., 2003). Néanmoins, le résultat positif n'informe pas sur le moment d'exposition de l'animal à *M. bovis*.

La méthode ELISA est appropriée pour la détection via le lait des troupeaux infectés et l'identification du quartier concerné. Elle permet aussi la détection des vaches qui ont récemment développé une mammite à *M. bovis* (Byrne et al., 2000, Nicholas et al., 2003). En plus, cette méthode est la moins onéreuse à l'heure actuelle.

Une difficulté supplémentaire de l'utilisation de test ELISA sur le lait est qu'il ne permet pas de mettre en évidence une infection sans l'expression clinique préalable de mammites au sein du troupeau et nécessite quelques semaines (Pfützner et al., 1996) . En effet les vaches présentant une atteinte systémique ou encore une arthrite n'excrète presque pas beaucoup d'anticorps (Pertersen et al., 2018).

La muqueuse des tonsilles peut contenir *M. bovis* alors que celle des cornets nasaux ne l'est pas. Les tonsilles seraient donc un site de prélèvements à privilégier pour la détection de la bactérie (Maunsell et al, 2012).

Un test positif n'informe pas quand à la présence de *M. bovis* chez l'animal au moment du prélèvement et non plus sur le statut excréteur de l'animal. Se fier sur le seul test positif ELISA n'est pas une approche adéquate pour contrôler une infection et résulte souvent sur une surélimination.

Le recours au dépistage par technique ELISA doit se faire en complément d'autres méthodes de diagnostic telles que la culture et la PCR (Parker et al., 2017).

3) PCR

L'identification génétique par PCR est la méthode de diagnostic la plus pratique à l'heure actuelle. Plusieurs techniques existent et ciblent différents gènes. Néanmoins, ces différentes techniques montrent des performances comparables (Wisslink et al., 2019) . En effet, elle dispose d'une sensibilité et spécificité supérieure à la culture. Elle peut être effectuée sur différents types de prélèvement tels que le lait, les écouvillons nasaux, les lavages broncho-alvéolaires. En plus, la PCR est une méthode rapide de diagnostic comparé à la culture car elle ne demande pas d'isolation préalable pour l'identification (Timoonen et al., 2017). L'investigation de prélèvements de lait est plus difficile à cause de sa teneur élevée en protéines et d'inhibiteurs de PCR ce qui nécessite des manipulations au préalable (Pfützner et al., 1996). D'autre part, la viabilité de *M. bovis* n'est pas requise pour la détection par PCR.

Cependant, elle peut présenter une faible sensibilité en raison du mode d'excrétion intermittent qui peut survenir et de la difficulté d'obtenir le meilleur matériel de prélèvement pour appliquer cette technique (Petersen et al., 2017).

4. Traitement

L'absence de paroi bactérienne chez *Mycoplasma bovis* se répercute sur les choix de traitement. En effet, cela signifie que celle-ci bénéficie d'une protection structurelle contre les antibiotiques de la famille des β -lactamines. *M. bovis* bénéficie également d'une résistance intrinsèque aux antibiotiques de la famille des sulfonamidés car elle ne synthétise pas l'acide folique.

De plus, certains antibiotiques sont désignés efficaces contre *M. bovis* lors d'étude in vitro mais ne le sont pas du tout in vivo.

Les antibiotiques habituellement utilisés faces aux affections respiratoires et qui théoriquement ont une efficacité sont le florfénicol, les tétracyclines, les macrolides, la spectinomycine et les

fluoroquinolones (Lysnyansky et Ayling, 2016). Ils permettent généralement la réduction des symptômes clinique mais ne permettent pas l'élimination de l'infection (Nicholas et al., 2003).

Le problème qui se pose actuellement est l'émergence de résistance vis-à-vis de ces antibiotiques (Ayling et al., 2000, Nicholas et al., 2003). En effet, il a été relevé l'émergence de résistance vis-à-vis des classes d'antibiotiques utilisées à l'encontre de *M. bovis*. Au travers de plusieurs études, on constate une élévation de la MIC₅₀ pour l'ensemble des antibiotiques utilisés. L'apparition de ces résistances est causé par des points de mutations génétiques (Lysnyansky and Ayling, 2016). En Europe, *M. bovis* devient résistant au antibiotiques habituellement utilisés contre les mycoplasmoses (Sulyok et al., 2014). En plus, au sein d'un animal, des résistances différentes peuvent être constatées en fonction du site de prélèvement. Pour le mammites, une étude menée sur des échantillons de lait montre une résistance accrue face aux antibiotiques de la famille des macrolides. Par contre, la Belgique présente les valeurs MIC₅₀ les plus faibles nécessaires en fuoroquinolones (Barberio et al, 2015) mais le recours à cette famille requiert une justification au préalable à l'aide d'un antibiogramme.

D'autre part, la détermination des sensibilités antimicrobiennes pour *M. bovis* sont compliquées car elle requiert des méthodes dont les laboratoires ne disposent pas (S. Gasmi, 2011).

Les traitements sont fréquemment longs et inefficaces dans beaucoup de cas. Les veaux affectés par plusieurs atteintes montrent une réponse très faible aux traitements. Cependant, il est inutile d'instaurer des traitements en cas d'isolation unique de *Mycoplasma bovis* et lorsqu'il n'a pas de signes d'atteinte.

La tulathromycine s'est montrée efficace à l'encontre de *M. bovis* lorsque celui-ci est mis en œuvre 2-3 jours après inoculation. Elle a été d'ailleurs approuvée comme traitement des maladies associées à *M. bovis* aux USA (Maunsell et Donovan, 2009). Lors d'études réalisées en Europe, les fluoroquinolones sont apparues les plus efficaces contre *M. bovis* mais doit être réservé dans des situations sévères (Suylok et al., 2014). Dans le cadre des bronchopneumonies à *M. bovis*, un traitement anti-inflammatoire peut être bénéfique afin de limiter les effets délétères de celle-ci (Maunsell et Donovan, 2009).

Dans une étude, l'ajout de valnemuline dans le lait à partir de 4 jours jusqu'à l'âge de 3 semaines s'est soldé par une réduction des signes cliniques (Nicholas et Ayling, 2003).

5. Pathologies associées

Mycoplasma bovis est impliqué dans plusieurs types de pathologies. Les maladies associées à *Mycoplasma bovis* chez les veaux sont typiquement les bronchopneumonies, les otites moyennes et les arthrites ou une combinaison de ces atteintes. Chez les adultes, la pathologie majeure associée à *M. bovis* est la mammite.

La manifestation des affections chez les jeunes veaux est généralement entre 2 et 6 semaines mais peut survenir bien plus tôt. Le soucis lié à *M. bovis* est que les pathologies tendent à devenir chroniques et débilitantes suite à une absence de réponse aux traitements antibiotiques.

M. bovis a été isolé au départ de sérome postchirurgical (Gille et al., 2016) qui peuvent survenir notamment après césarienne.

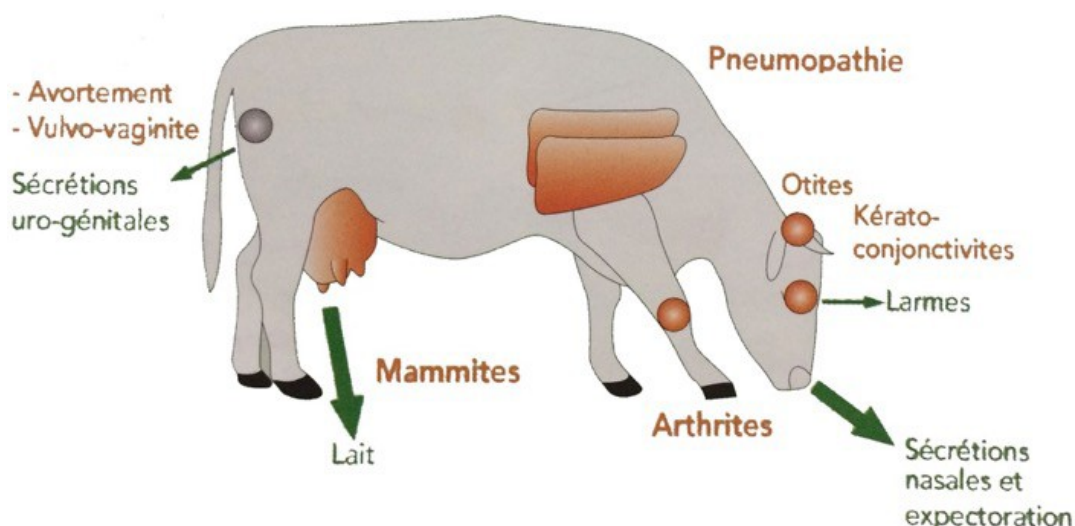


Illustration 1: Ensemble des affections induites par *M. bovis* (Citti, 2006)

1) Mammite

Les mammites à mycoplasmes ont été classées parmi les mammites contagieuses (Peek et al., 2018, Timonen et al., 2017). Elles sont à la base de pertes économiques importantes de par l'impact sur la santé et la diminution de la production laitière.

Les mammites se manifestent généralement sous la forme de mammites cliniques suite à l'infection et évoluent sous la forme d'infections chroniques par la suite (Peek et al., 2018). Une fois l'infection établie, les vaches développent des mammites chroniques ou intermittentes ou encore

des mammites subcliniques qui demandent une confirmation par culture. Une fois installée, la bactérie est excrétée dans le lait des vaches porteuses (Pfützner et al., 1996). Pour certains, *M. bovis* est souvent déjà présent dans un troupeau et se manifeste cliniquement lorsque l'opportunité se présente. On peut ainsi constater un faible taux de mammite clinique mais associé à une augmentation progressive du taux de cellule dans le lait (Fox et al., 2005). La transmission se réalise majoritairement de manière horizontale à partir d'animaux porteurs asymptomatiques.

Divers postulats existent à propos de l'apparition des mammites à *M. bovis*. Pour certains, *M. bovis* est souvent déjà présent au niveau des troupeaux laitiers et se manifeste lorsque les conditions sont rassemblées tandis que pour d'autres, les problèmes de mammites font leurs apparitions suite à l'introduction d'animaux dans l'exploitation. La contamination de vaches en lactation suffit alors à répandre l'infection dans le troupeau. Les vaches fraîchement vélées semblent plus dangereuses que celles situées en milieu de lactation et devraient subir un management différent. Une autre voie avancée est celle de la contamination par des équipements ou des travailleurs « infectés » (Peek et al., 2018).

En outre, la persistance de la bactérie est entretenue par des animaux cliniquement sains qui excrètent *M. bovis* dans le lait (Pfützner et al., 1996). La transmission se réaliserait majoritairement durant la période de traite (Timonen et al., 2017) suite à l'ouverture prolongée du canal du trayon. Plusieurs éléments peuvent contribuer à faciliter l'infection de la glande mammaire tels qu'une densité de population élevée, une alimentation non adéquate et de mauvaises conditions d'élevage. Les grands troupeaux seraient davantage exposés en raison du nombre élevé de bêtes et du modèle intensif de l'élevage. La transmission peut également se produire de manière iatrogène (Pfützner et al., 1996) lors des opérations relatives aux soins des trayons (Fox et al., 2005).

De plus, l'origine de l'infection de la glande mammaire pourrait résulter suite à la transmission d'une infection du système respiratoire ou du tractus génital ce qui remet en question le statut de maladie contagieuse de *M. bovis* qui englobe les mammites se transmettant durant la traite. Inversement, l'inoculation de mycoplasmes au niveau des trayons a montré que des mycoplasmes étaient présents dans le sang ainsi que d'autres organes par la suite. Cela suggère une transmission hématogène vers d'autres sites de l'organisme. D'autre part, l'infection d'un quartier peut également mener à l'infection des autres quartiers ce qui suppose une transmission soit par voie lymphatique ou hématogène en plus de celle lors de la traite (Pfützner et al., 1996).

Au niveau du tableau observé, les mammites peuvent entreprendre un seul quartier mais généralement concernent 2 voire plusieurs quartiers (Pfützner et al., 1996).

Les signes cliniques observés sont gonflement, chaleur et fermeté au niveau d'un quartier ou plusieurs. L'apparence du matériel sécrété varie en fonction du stade et peut évoluer sur plusieurs jours et prendre un aspect séreux avec des flocons, des grains de sables ou encore du pus (Peek et al., 2018). De la température peut-être associée ainsi qu'une diminution de l'appétit, la production laitière est fortement réduite ou très peu dans des cas subcliniques. Parfois, l'affection peut évoluer jusqu'à de l'agalactie. En parallèle, il peut être constaté la présence d'articulations douloureuses. Ces mammites répondent très peu aux traitements antibiotiques mis en place. Dans les cas aigus, la production laitière peut diminuer fortement et les vaches peinent à se rétablir durant le reste de la lactation. Les quartiers entrepris peuvent s'atrophier et compromettre les prochaines lactation (Pfützner et al., 1996). Dans le cas de mammites subcliniques, la production laitière est diminuée. Une étude menée par Timonen et al. a montré que la présence subclinique de *M. bovis* est corrélée avec une faible production laitière comparativement aux vaches non infectées. Par ailleurs, la quantité de cellule est plus élevée tandis que la concentration en matière grasse et en urée est plus faible. (Nicholas et al., 2016).

L'ensemble des classes d'âge peut être concerné par cette affection y compris les génisses (Fox et al., 2008) et il n'y pas d'influence du stade de lactation car les vaches tarées peuvent être touchées (Otter et al., 2015, Pfützner et al., 1996). La présence de *M. bovis* dans le lait ne serait pas associé avec les jours en lait et le nombre de vêlage (Timonen et al, 2017). Il semble qu'il y ait une différence de virulence entre les souches de *M. bovis*. Certaines seraient plus disposées à causer des mammites (Punyapornwithaya et al., 2010). Une action synergétique avec d'autres bactéries responsables de mammites est évoquée car dans des troupeaux infectés de manière chronique, *M. bovis* peut augmenter le taux de mammites par ces autres agents de mammites (Ghadersohi et al., 1999).

2) Pneumonie

Le complexe respiratoire bovin englobe de nombreux agents pathogènes dont *M. bovis* fait parti. Les bronchopneumonies en élevage bovin représentent un problème majeur et sont à l'origine de pertes économiques importantes. Plusieurs agents pathogènes sont impliqués, à savoir *Mannheimia*

haemolytica, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *BRSV*, *PI3*, *Histophilus somni* et *Mycoplasma bovis*. Les bactéries auxquelles *M. bovis* est le plus souvent associé sont *Pasteurella multocida* et *Histophilus somni* (Nicholas et al., 2015).

M. bovis possède une grande affinité pour les cellules épithéliales des voies respiratoires inférieures (Pfüzner et al.). Les broncho-pneumonies à *M. bovis* concernent principalement le jeune bétail mais peuvent atteindre aussi les adultes (Arcantgoli et al., 2008). Le statut du troupeau pour le mycoplasme représente un facteur de risque important pour le développement de maladies respiratoires s'il s'avère positif (Schibrowski et al., 2018). Il est admis que certains animaux peuvent porter *M. bovis* au niveau de leurs tractus respiratoire sans développer de maladies (Pfüzner et al., 1996). De par sa nature ubiquiste dans certains élevages, on pense que les mycoplasmes diminuent les mécanismes de défenses des hôtes à l'encontre des autres agents pathogènes ou deviennent délétères avec l'arrivée d'autres pathogènes (Peek et Divers, 2018).

Une étude menée au niveau d'un troupeau où *Mycoplasma bovis* et *Pasteurella multocida* avaient été identifiés au préalable a montré que presque la moitié des veaux excrétaient *M. bovis* au 5^{ème} jour et environ 90 % à 4 semaines (Stipkovits et al., 2001, Nicholas et al, 2003).

Mycoplasma bovis lorsqu'il est impliqué dans les bronchopneumonies augmente la sévérité et le taux de mortalité au sein d'un élevage. Par ailleurs, il est retrouvé tôt dans le développement des maladies respiratoires ce qui suppose un rôle d'initiateur (Arcantgoli et al., 2008). La séroconversion à l'encontre de *M. bovis* est d'ailleurs associée à une augmentation du taux de maladies respiratoires, une diminution du GQM et une augmentation de la quantité d'antibiotiques utilisées.

Tous les âges peuvent être touchés de bronchopneumonie à mycoplasmes autant en filière laitière qu'en filière viande. L'apparition des signes cliniques est la plus élevée vers 10-15 jours et sont similaires à ceux d'une bronchopneumonie induite par les autres pathogènes. Ainsi, ceux-ci sont non spécifiques, on peut dès lors relever de la fièvre, de la tachypnée, dyspnée, perte d'appétit, de la toux, du jetage muco-purulent, des bruits anormaux à l'auscultation. Chez les veaux survivants, un retard de croissance est constaté (Nicholas et al., 2003). Dans certains cas, on peut observer uniquement de la toux suite à un stress ou à des déplacements (Peek et al., 2018).

Les voies par lesquelles les bovins se contaminent sont les aérosols expulsés lors de toux ou l'air inspiré (Pfützner et al., 1996). La transmission aux veaux peut être augmentée par le don de colostrum et de lait infecté et non pasteurisé (Peek et al., 2018).

3) Arthrite

Mycoplasma bovis est également capable de provoquer des arthrites chez les veaux comme démontré dans une étude qui a inoculé la bactérie dans les poumons ou l'articulation ou encore par injection intraveineuse (Stalheim et al., 1975). Des cas d'arthrite à *M. bovis* sont également possibles chez les vaches. Les cas d'arthrite surviennent généralement quand *M. bovis* est présent de manière enzootique et que le niveau d'exposition est élevé (Pfützner et al., 1996).

L'incidence des arthrites seraient plus élevée chez les veaux âgés de 3 à 6 mois qui développent une bronchopneumonie ou tout du moins qui ont été touchés par un épisode de maladie respiratoire, on parle d'ailleurs de syndrome « pneumonie-arthrite » (Pfützner et al., 1996, Peek et al., 2018). Le taux de morbidité est fortement influencé par l'incidence des mammites et des pneumonies au sein de l'élevage. Néanmoins, elles peuvent se manifester sans qu'il n'y ait de mammites parce que *M. bovis* peut se localiser au niveau du tractus respiratoire (Pfützner et al., 1996).

Les arthrites dues à *M. bovis* seraient dues à une relocalisation par voie sanguine suite à une infection respiratoire ou de la glande mammaire.

Plusieurs articulations peuvent être touchées mais l'articulation la plus touchée serait celle du jarret comparativement aux autres étiologies. Les signes cliniques observés sont boiterie, température, gonflement de l'articulation, réduction de l'ingestion et inefficacité des traitements antibiotiques. À l'arthrocentèse, le liquide prélevé révèle un contenu riche en protéines et une grande quantité de neutrophiles mais sont bien conservés et non dégradés. Le matériel purulent est souvent caséux et non odorant (Peek et al., 2018).

4) Otite

Mycoplasma bovis est le principal agent responsable d'otite chez le veau. En effet, *M. bovis* semble être un pathogène primaire d'otite chez animaux âgés de moins d'1 an (Arcantgioli et al., 2012). L'infection de l'oreille moyenne se réalise par voie ascendante via la trompe d'eustache qui véhicule la bactérie à partir du nasopharynx (Maunsell et al., 2012, Peek et al.). La source de

contamination la plus probable est l'ingestion de colostrum ou de lait contenant *M. bovis* (Walz et al., 1997).

Les signes cliniques associés sont une perte d'appétit, de la fièvre, de l'apathie, de la douleur aux oreilles, de la paralysie faciale, port d'oreille bas. La tête est penchée du côté de l'oreille atteinte. De l'écoulement purulent peut-être aperçu dans certains cas suite à la rupture du tympan. On peut également observer de la dysphagie avec de l'alimentation qui coule à l'extérieur.

Le système vestibulo-cochléaire peut être atteint par l'infection de l'oreille interne entraînant une inclinaison de la tête, du nystagmus, une démarche chancelante, des chutes.

Au niveau de la bulle tympanique, *M. bovis* semble détenir une certaine protection vis-à-vis du système immunitaire de l'hôte d'après le nombre beaucoup plus élevé de *M. bovis* retrouvé par rapport à celui présent dans la trompe d'eustache (Maunsell et al., 2012)

6. Epidémiologie

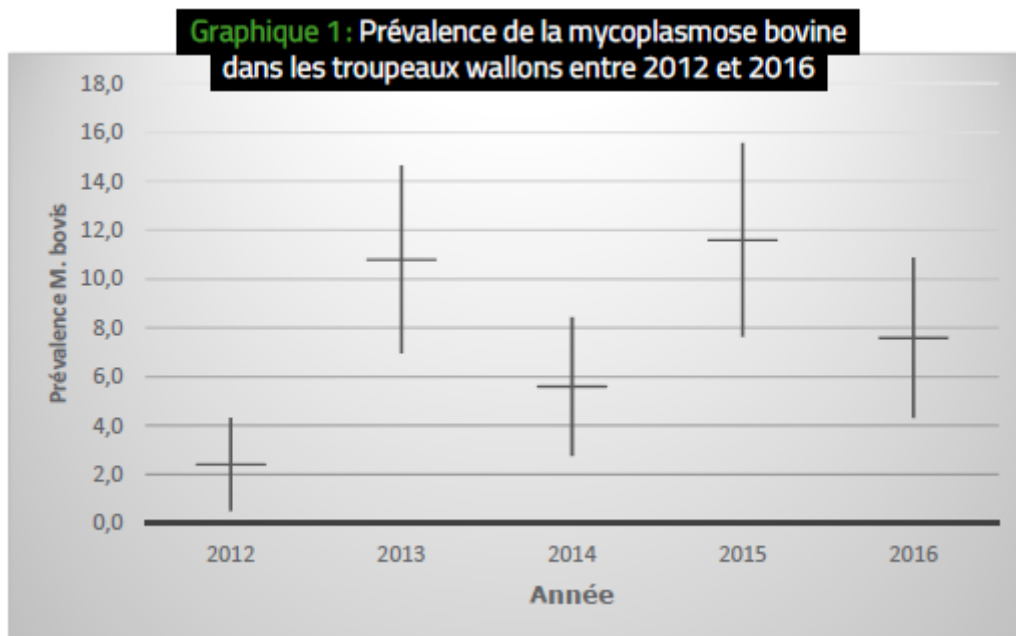
Mycoplasma bovis apparaît bien implanté au niveau mondial. *Mycoplasma bovis* n'est pas ubiquitaire mais est tout de même largement répandu au niveau des troupeaux présents dans une région infectée (Pfützner et al, 1996, Nicholas et al., 2003). La prévalence de *M. bovis* est inconnue car il n'existe pas de dépistage systématique obligatoire dans l'élevage bovin (Pfützner et al.) et peu de laboratoires recherchent régulièrement les mycoplasmes (Nicholas et al., 2003). Le fait que cette bactérie soit impliquée dans des maladies multifactorielles ne facilite pas les choses car il est difficile de déterminer la contribution exacte de *M. bovis* dans une affection.

En Europe, on estime que *M. bovis* serait responsable de 25 à 35 % des maladies respiratoires chez les veaux. En Belgique, la prévalence des troupeaux laitiers infectés par *M. bovis* est évaluée à 1,5 % (Passchyn et al., 2010, Timonen et al., 2016) mais plus récemment, la détection par méthode PCR a indiqué une prévalence de l'ordre de 7 % (Gille et al., 2018).

Pour les veaux, les données sont encore plus rares et datent de quelques dizaines d'années. Le portage nasal de ceux-ci est évalué à 34 % dans les élevages touchés et 6 % dans les élevages non touchés par les différentes maladies (Maunsell et al., 2009).

La prévalence de *M. bovis* est sans doute sous estimée comme d'autres bactéries sont isolées en premier lieu et font partie des recherches routinières des analyses laboratoires. (Nicholas et al., 2003).

L'ARSIA a analysé des échantillons de lait de tank en provenance de 250 troupeaux entre 2012 et 2016. Les résultats montrent une grande fluctuation entre les années et indiquent une prévalence comprise entre 2 et 12 % au niveau des troupeaux de la Wallonie. Une étude a également été menée sur des échantillons de sérum de bovins âgés de 12 à 24 mois qui ont montrés une prévalence de 28,67 % en 2012 et 36,67 % en 2016.



Source : Rapport annuel 2017 de l'ARSIA

Les sites de colonisation préférentielles sont les surfaces recouvertes d'une muqueuse et de ce fait les voies respiratoires supérieures sont majoritairement atteintes. Le second site de colonisation est la glande mammaire (Maunsell et al., 2011). Au vu de certaines études, il apparaît que dans un élevage infecté, les veaux peuvent être colonisés très tôt dans leurs vies (parfois à moins d'une semaine) et que le taux d'excrétion est maximal aux environs de 2 mois (Maunsell et al., 2009). Ces 2 sites représentent les 2 voies de dissémination majeures de la bactérie. Au sein d'un troupeau la transmission se réalise donc à partir des animaux infectés et peut se réaliser probablement de manière directe et/ou indirecte à partir de ces derniers. L'ingestion de lait infecté suffit pour l'établissement de la colonisation des voies supérieures (Maunsell et al., 2012). La transmission se réalise par conséquent à partir du lait et des aérosols issus du système respiratoire. D'autres voies de transmissions sont possibles comme les organes génitaux et le sperme. *M. bovis* est capable de survivre dans le sperme congelé durant des années et de conserver son pouvoir infectieux. Dès lors,

l'insémination artificielle peut être la source d'une infection d'un élevage (Haapala et al., 2018). Le recours à un taureau de reproduction semble un facteur important dans la dissémination de *M. bovis* (Gille et al., 2018). La transmission mécanique via le matériel de traite ou encore le trayeur est possible en ce qui concerne les mammites. L'infection de la mamelle se réalise par voie ascendante via le canal du trayon (Radaelli et al., 2011). Il est apparu également lors d'études de terrain que la transmission pouvait se réaliser de manière verticale de la mère au fœtus durant la gestation ou lors de la mise bas à partir des sécrétions vaginales (Pfützner et al., 1996)

Une des particularités de *M. bovis* est sa capacité de persister chez un individu sans générer des signes cliniques (Maunsell et al., 2011) et peut parfois apparaître comme faisant partie de la flore commensale des voies respiratoires (Lima et al., 2016). Le maintien d'une infection dans un troupeau n'est pas dépendant de l'expression clinique (Maunsell et al., 2011) Certains auteurs avancent que les maladies surviennent quand des conditions spécifiques sont rencontrées. Ces animaux qui sont infectés de façon latente jouent un rôle important dans la dissémination (Pfützner et al., 1996).

La sécrétion de *M. bovis* peut se réaliser selon 2 modes, à savoir, une sécrétion continue durant des mois ou alors une sécrétion intermittente durant des mois voire des années. Ainsi, les troupeaux restent infectés grâce au fait que les bovins porteurs excrètent la bactérie de manière intermittente durant plusieurs mois ou années ce qui permet le maintien de l'infection au sein de l'élevage (Pfützner et al., 1996).

Les animaux atteints cliniquement restent les plus gros excréteurs mais ce sont les animaux porteurs sains qui posent problème car ils compliquent la mise en place de système de contrôle et la mise en place d'un système de prévention. En outre, l'infection d'un troupeau indemne se réalise généralement par l'introduction d'un porteur sain (K. Murai et al., 2019) qui répand le pathogène. L'achat d'un taureau de saillie représente un risque notable pour un élevage. Ce constat souligne encore l'intérêt de réaliser une quarantaine à l'acquisition d'un nouvel animal. Une fois établie au niveau des différentes classes d'âge, il est très difficile d'éradiquer l'infection du troupeau (Nicholas et al., 2003). L'inverse est vrai également, les animaux introduits dans une exploitation infectée peuvent développer des mammites pour les vaches ou des arthrites chez les génisses (Nicholas et al., 2016).

Le type d'affection développée montre une relation avec le style d'élevage. Les élevages intensifs seraient davantage touchés par les mammites tandis que les plus petites structures seraient frappées par des bronchopneumonies ou des arthrites (Pfützner et al., 1996). L'impact du stress serait avéré car la prévalence de *M. bovis* augmenterait à la suite de transport prolongé ou lorsque la densité de population est trop élevée (Nicholas et al., 2003).

Les veaux et les jeunes bovins font partie des réservoirs de *M. bovis* et contribuent fortement à sa dissémination. Les veaux et le jeune bétail sont à la source d'une infection en chaîne (Pfützner et al.). Le mélange de veaux en provenance de différents endroits représente un facteur de risque non négligeable et la présence d'un seul veau infecté augmente le risque d'apparition de maladies associées à *M. bovis*.

De par son implication dans des maladies multifactorielles telles que les maladies respiratoires, il est clair que d'autres facteurs participent comme l'infection concomitante par d'autres virus et/ou bactéries, l'hôte ou encore les facteurs environnementaux (Nicholas et al., 2003). La sévérité des lésions augmenterait avec la présence d'autres agents pathogènes. Cependant, on tend à croire que *M. bovis* a un rôle à prédisposer aux infections bactériennes pathogènes en compromettant les défenses de l'hôte (Nicholas et Ayling, 2003). Une étude a montré que plus d'un tiers des poumons de veaux morts de pneumonie étaient infectés seulement par *M. bovis* tandis que les autres combinaient *M. bovis*, *Pasteurella multocida* et/ ou *Histophilus somni* (Buchvarova et al., 1989, Nicholas et al., 2003).

Dans le rapport annuel de l'ARSIA datant de 2017, *M. bovis* ressort être associé à d'autres bactéries dans 75 % des cas, et ces bactéries sont par ordre décroissant *Trueperella pyogenes*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*. La participation d'*Histophilus somni* n'est pas déterminée à cause des difficultés d'identification.

L'environnement peut être une source de contamination supplémentaire, l'air, la litière peuvent abriter ces mycoplasmes même si les capacités de survie de ces dernières sont faibles notamment à la sécheresse et la dissémination (Pfützner et al., 1996). Ainsi un animal peut se contaminer par contact avec un autre infecté ou encore à partir d'aliments ou de matériel infectés. Cependant, il est peu probable que ces voies soient des sources majoritaires de contamination (Nicholas et al., 2003).

L'environnement aurait également un impact sur le développement des maladies. L'humidité et la température influenceraient les capacités de colonisation et la sécrétion de *M. bovis*. L'excrétion de *M. bovis* a montré être influencée par la température extérieure et le niveau de stress. Elle serait augmentée à faible température et serait également à la hausse lors de changement brusque de température (Salima, 2011). La saison aurait d'ailleurs un effet sur la prévalence des cas d'infection à *M. bovis* qui serait plus élevée par temps froid et humide.

Il est apparu que la souche de *M. bovis* est spécifique d'un troupeau et montre des variations considérables entre les troupeaux. Un troupeau abrite une souche de *M. bovis* avec le même profil génétique. Par contre, l'idée qu'une souche particulière est à la base de la survenue d'une épidémie est réfutée (Aebi et al., 2015)

Avéré pour toutes les affections, le statut immunitaire de l'animal est primordial. La vulnérabilité et la sévérité des affections respiratoires est dépendante du transfert d'immunité passive via le colostrum. Bien que les immunoglobulines maternelles ne concèdent pas de protection vis-à-vis de *M. bovis*, on a montré une association entre le titre en anticorps et l'occurrence des pneumonies. De même, les veaux sont plus susceptibles aux infections car leurs systèmes immunitaires se trouvent en pleine maturation. La colonisation du tractus respiratoire inférieur se réalise dans les premières semaines de vie avec un pic à 1 mois (Maunsell et Donovan, 2009).

Un autre facteur de risque souvent énoncé est la taille du troupeau (Vähänikkilä et al., 2019, Murai et al., 2019). Les troupeaux dont la taille est supérieure à 500 sont plus vulnérables aux mammites à *M. bovis* (Nicholas et al., 2016). Il y aurait une corrélation entre la taille de celui-ci et la probabilité d'obtenir un tank à lait séropositif à *M. bovis*. Le développement de maladies respiratoires chez les veaux est également impacté par le nombre de bovins présents dans une exploitation. De plus, le flux d'animaux est généralement plus élevé que dans les plus petites exploitations.

7. Impact économique

Alors que *M. bovis* est à la base de 2 entités pathologiques majeures, à savoir les maladies broncho-respiratoires et les mammites, il existe très peu de données à propos des coûts économiques engendrés par celui-ci.

En Europe, on estime à environ 576 millions, les pertes subies à cause des maladies respiratoires dont probablement un quart à un tiers est du à *M. bovis* (Nicholas et al., 2003)

Les pertes sont engendrées par la réduction de la production laitière et la diminution de la croissance des animaux. En effet, le GQM (Gain Quotidien Moyen) des animaux affectés est plus faible et se répercute sur le poids de la carcasse à l'abattoir (Rosengarten et al., 1999).

Le travail supplémentaire demandé, les traitements sont à la base de coûts supplémentaires. Les mortalités et les autres mesures prises participent à la baisse des revenus.

Un problème associé aux maladies avec *M. bovis* est la tendance à évoluer vers un état chronique et débilitant qui demande des frais supplémentaires. L'absence de réponse aux traitements est également problématique.

L'âge au premier vêlage est plus élevé et la fertilité des femelles sont aussi impactés. D'autre part, le niveau de réforme est plus important dans les troupeaux infectés (Maunsell et Donovan, 2009)

8. Prévention

Au vu des nombreuses conséquences provoquées par *M. bovis* au sein de certains élevages et suite aux faibles moyens de lutte contre cette bactérie il est nécessaire de mettre en place des mesures de prévention. En effet, l'usage des antibiotiques montre une efficacité défailante au vu des particularités de *M. bovis* et de l'émergence de résistance à l'ensemble des classes antimicrobiennes. D'une part pour limiter la dissémination au sein d'un troupeau et d'autre part pour éviter la contamination de nouveaux troupeaux.

En ce qui concerne les mammites, il est recommandé comme pour tous les autres pathogènes de suivre des mesures sanitaires et d'hygiène lors de la traite (Byrne et al., 2000, Nicholas et al.). L'usage de gants par le trayeur est préconisé, les trayons doivent être trempés dans une solution à base d'iode après la traite. Le matériel de traite doit être désinfecté à l'aide de biocides à base d'acide peracétique ou de formol qui sont très efficaces à l'encontre de *Mycoplasma bovis*.

Comme les mammites répondent très peu aux traitements il est recommandé que les vaches malades et porteuses soient éliminées (Timonen et al., Nicholas et al., 2003). Si possible, il faut en premier lieu les séparer et les isoler du reste du troupeau.

Le point clé dans le contrôle des mammites à *M. bovis* est l'identification des animaux infectés et des animaux porteurs. Le recours à des méthodes de dépistage et de diagnostic est primordiale.

Cependant, il n'existe pas de test fiable pour déterminer le statut des animaux qui ne produisent pas de lait. Pour cause, il n'existe pas de sites d'échantillons idéales pour la détection des animaux porteurs latents ou atteints de manière sub-clinique. Les sites autres que le lait ne le sont d'ailleurs pas pour les vaches atteintes de mammites (Hazelton et al, 2018).

Le timing est également déterminant par rapport au moment de l'infection pour l'interprétation et la détection des cas subcliniques. Les difficultés sont liées au fait que la durée de séroconversion est évaluée à 2-3 semaines et que la durée du titre en anticorps n'est pas bien définie (environ 6 mois). La concentration en anticorps diminue généralement 2 mois après l'infection même chez les animaux touchés cliniquement (Petersen et al., 2018). Dès lors, il est inefficace de réaliser une analyse à un moment donné pour déterminer le statut d'un animal et par conséquent d'un troupeau (Hazelton et al, 2018).

Il a été montré que le taux d'anticorps circulants après infection est très variable entre individus et est très dynamique chez l'individu même. D'autre part, le taux en anticorps dans le lait est seulement élevé si les vaches ont développé une mammite.

L'emploi seul de la PCR sur le lait de tank n'est pas fiable pour savoir si un troupeau est infecté par *M. bovis* car cette méthode nécessite l'excrétion de la bactérie dans le lait. D'autre part, tous les animaux ne sont pas au même stade de production. La possibilité d'une excrétion intermittente est à prendre en considération et le lait produit par des vaches atteintes de mammites est généralement écarté (Parker et al., 2017). Le diagnostic sérologique, quant à lui, informe davantage sur le passé infectieux d'un cheptel que sur la présence d'une infection. En plus, selon la technique, il prend en compte les anticorps développés et non la bactérie ce qui permet de contourner la possible absence de *M. bovis*. Il en ressort également que les chances d'obtenir un résultat positif est plus élevé dans les 8 mois suivant une infection ou encore aux alentours des mises bas. Ainsi, la probabilité d'avoir un échantillon positif est plus grande lorsque les vêlages sont opérés toute l'année (Parker et al., 2017). Pour parvenir à déterminer si un troupeau est sain, il faut combiner les types de tests et réaliser ces derniers de manière séquentielle et sur différentes classes d'âge. Les test doivent combiner des analyses sérologiques et génétiques pour statuer sur un troupeau (Vähänikkilä et al, 2019).

A l'achat d'animaux, il est fortement conseillé d'appliquer une quarantaine et d'effectuer un test de dépistage pour *M. bovis*. Pourtant, l'opération d'un seul test à l'achat d'un animal n'est pas fiable au vu de l'existence de porteur asymptomatique et de la possibilité d'excrétion intermittente.

Au niveau de l'exploitation, il est conseillé pour diminuer le niveau infection de séparer les animaux malades pour éviter la transmission et le développement de maladies. Pour la conduite des veaux, l'action doit concerner les sources de contamination. Le mieux est de ne pas nourrir les veaux avec du lait issu de vaches infectées ou bien pasteuriser le lait pour minimiser l'infection des veaux. Le traitement du lait durant 1 heure à une température de 67,5 °C suffit pour éliminer *M. bovis* (Butler et al., 2000). La même démarche doit être instaurée pour le colostrum. Au contraire, la congélation et la durée ne permettent pas d'éliminer *M. bovis* du colostrum (Gille et al., 2018). Les veaux sains ne doivent pas être en contact direct et indirect avec les veaux infectés. Il est préférable également de ne pas mettre en contact les veaux avec les vaches laitières. Evoqué dans le rapport annuel 2017 de l'ARSIA, il semble que donner le lait de sa propre mère au veau et non d'un mélange diminue le risque de transmission de *M. bovis*. Le partage d'abreuvoirs entre différents enclos est à éviter pour limiter la transmission (Schibrowski et al., 2018).

La réforme des animaux porteurs est souvent présentée comme une des solutions pour être indemne de *M. bovis* au sein du troupeau. Cependant, des études montrent que la durée pour y parvenir n'est moindre (Nicholas et al., 2016).

En ce qui concerne les bronchopneumonies à *M. bovis* chez les veaux, il est conseillé de limiter les facteurs de stress préjudiciables pour l'ensemble des affections de l'appareil respiratoire et de vacciner contre les autres pathogènes respiratoires. Par ailleurs, il faut essayer d'assurer des bonnes conditions d'étable passant par une bonne qualité de l'air et d'ambiance d'étable pour les veaux comme préconisé pour l'ensemble des maladies respiratoires. La température, la densité de population, l'alimentation sont des éléments qui doivent être régulés (Aebi et al., 2015).

Vu les faibles défenses de *M. bovis* dans le milieu extérieur, une désinfection des équipements et des locaux est conseillée pour diminuer la pression infectieuse. La pratique d'une conduite « all in, all out » est avancée comme autre moyen de prévention pour minimiser la contamination entre animaux d'âges différents (Nicholas et al., 2003). Le logement individuel des veaux avant sevrage semble prévenir le niveau d'infection de ceux-ci (Peek et al., 2018). La présence de box de vêlage semble être un facteur protecteur contre la dissémination de *M. bovis* (Gille et al., 2018).

L'application d'un traitement préventif voir métaphylactique n'est pas recommandée mais dans certaines situations où le taux de morbidité et mortalité est élevé, il peut être justifié (Negatoma et

al. 1996, Nicholas et al, 2003). Des études ont montré qu'il peut contribuer à une diminution nette de l'incidence et la sévérité des symptômes respiratoires.

Dans une étude européenne, l'ajout de valnemuline à partir de 4 jours jusqu'à 3 semaines d'âge permet de limiter les cas de maladies associées à *M. bovis*.

La possibilité de transmission de *M. bovis* par le biais de l'insémination indique le besoin de réévaluer le type d'antibiotiques à utiliser pour traiter le sperme ou déterminer la contamination de la semence (V. Haapala et al., 2018)

Une possibilité de prévention serait le développement d'un vaccin mais aucun n'est disponible à l'heure actuelle et les essais ne montrent pas de résultats satisfaisants. Les raisons pour lesquelles il est difficile de mettre au point un vaccin est le fait qu'il n'existe pas de modèle animal représentatif d'une infection à *M. bovis* (Nicholas et al., 2015). D'autre part il existe des variations de virulence entre les souches ce qui entraîne des difficultés quant à la sélection d'une souche pour développer un vaccin.

9. Conclusion

Mycoplasma bovis est agent pathogène dont l'implication dans des pathologies majeures est bien avérée. En plus, il cause des maladies souvent chroniques. Il existe peu de moyens de lutte contre cette bactérie qui est responsable de pertes économiques considérables pour le secteur bovin. Par ailleurs, les traitements antibiotiques montrent une efficacité faible et sont confrontés à l'émergence de résistance.

Les mécanismes à la base de sa pathogénicité commencent à être identifiés mais beaucoup d'interrogations subsistent. Ainsi, de plus en plus d'éléments sont identifiés et sont susceptibles d'intervenir dans différentes étapes nécessaires à l'implantation de *M. bovis*. Ainsi, diverses protéines sont impliquées dans l'adhésion de *M. bovis* aux cellules de l'hôte. D'autre part, *M. bovis* semble être capable de moduler la réponse immunitaire par différentes stratégies qui ont des actions directes et indirectes sur cette dernière.

La prévention d'une infection au sein d'un troupeau est compliquée et doit reposer sur des pratiques de management qui concernent l'ensemble des classes d'âge et les différentes catégories d'animaux de production. D'autre part, elle doit se baser sur des outils de dépistage et de diagnostic. Cependant, la fiabilité de ces outils n'est pas maximale en raison de divers facteurs propres à eux et extérieurs qui peuvent interférer avec leurs efficacités. L'interprétation des résultats est donc délicate et difficile dans certaines situations et demande une démarche raisonnée.

Une solution serait de développer un vaccin mais son développement est difficile et demande de mieux connaître *M. bovis*.

10. Bibliographie

- Aebi, M., Bodmer, M., Frey, J., Pilo, P. 2012. Herd-specific strains of *Mycoplasma bovis* in outbreaks of mycoplasmal mastitis and pneumonia. *Veterinary Microbiology*, 157, 363–368.
- Aebi, M., van den Borne, B. H.P., Raemy, A., Steiner, A., Pilo, P., Bodmer, M. 2015. *Mycoplasma bovis* infections in Swiss dairy cattle: a clinical investigation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57 (1) :10. doi :10.1186/s13028-015-0099-x
- Arcantgoli, M.A., Duet, A., Meyer, G., Dernburg, A., Bézille, P., Poumarat, F., Le Grand, D. 2008. The rôle of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots. *The Veterinary Journal*, 177, 89-93.
- Barberio, A., Flaminio, B., De Vlieghe, S., Supré, K., Kromker, V., Cabarino, C., Arrigoni, N., Zanardi, G., Bertocchi, L., Gobbo, F., Catania, S., Moroni, O. 2016. Short communication: In vitro antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma bovis* isolates identified in milk from dairy cattle in Belgium, Germany, and Italy. *J. Dairy Sci.*, 99, 6578–6584.
- Behrens, A., Heller, M., Kirchhoff, H., Yogev, D., Rosengarten, A. 1994. A Family of Phase- and Size-Variant Membrane Surface Lipoprotein Antigens (Vsps) of *Mycoplasma bovis*. *INFECTION AND IMMUNITY*, 62, 11 : 5075-5084.
- Behrens, A., Poumarat, F., Le Grand, D., Heller, M., Rosengarten, R. 1996. A newly identified immunodominant membrane protein (pMB67) involved in *Mycoplasma bovis* surface antigenic variation. *Microbiology*, 142, 2463-2470.
- Bürki, N., Josi, C., Bürki, S., Schweizer, M., Pilo P. 2018. *Mycoplasma bovis* co-infection with bovine viral diarrhoea virus in bovine macrophages. *Vet Res*, 49 (1):2. doi: 10.1186/s13567-017-0499-1
- Bürki, S., Frey, J., Pilo, P. 2015. Virulence, persistence and dissemination of *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Microbiology*, 179, 15-22.
- Butler, J.A., Sickles, S.A., Johanns, C.J., Rosenbusch, R.F. 2000. Pasteurization of Discard *Mycoplasma* Mastitic Milk Used to Feed Calves: Thermal Effects on Various *Mycoplasma*. *J. Dairy Sci.*, 83, 2285–2288
- Byrne, W.J., Ball, H.J., Brice, N., McCormack, R, Baker, S.E., Ayling, R.D., Nicholas, R.A.J. 2000. Application of an indirect ELISA to milk samples to identify cows with *Mycoplasma bovis* mastitis. *The Veterinary Record*.
- Bürki, S., Frey, J., Pilo, P. 2015. Virulence and dissemination of *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Microbiology*, 179, 15-22.
- Caswell, J.L., Archambault, M. 2007. *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 161-186.
- Chen, X., Huang, J., Zhu, H., Guo, Y., Khan, F.A., Menghwar, H., Zhao, G., Guo, A. 2018. P27 (MBOV RS03440) is a novel fibronectin binding adhesin of *Mycoplasma bovis*, *International Journal of Medical Microbiology*. 308: 848-857.
- Detiffé, J. 2017. ARSIA asbl Rapport d'activité annuel 2017.
- Dima, K., 2016. Résistance aux antibiotiques chez *Mycoplasma bovis* : mécanismes moléculaires et évolution en France. (Thèse) Université de Lyon : Lyon, 132 p
- Dudek, K., Bednarek, D., Ayling, R.D., Szacawa, E. 2013. Immunomodulatory effect of *Mycoplasma bovis* in experimentally calves. *Bull. Vet. Inst. Palawy*, 57, 499-506.
- Fox, L.K., Muller, F.J., Wedam, M.L., Schneider, C.S., Biddle, M.K. 2008. Clinical *Mycoplasma bovis* mastitis in prepubertal heifers on 2 dairy herds. *Can. Vet. J.*, 49:1110–1112.
- Fox, L.K., Kirk, J.H., Britten, A. 2005. *Mycoplasma* Mastitis: A Review of Transmission and Control *J. Vet. Med.*, 52, 153–160.

Gagea, M.I., Bateman, K. G., Shanahan, R.A., van Dreumel, T., McEwen, B.J., Carman, S., Archambault, M., Caswell, J.L. 2006. Naturally occurring *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 18, 29–40.

Gasmi, S., 2011. Excrétion nasale et réponse sérologique à *Mycoplasma bovis* chez les génisses de remplacement de 0 à 7 mois d'âge dans 4 troupeaux laitiers au Québec : Étude de cohortes. (Mémoire, diplôme en sciences vétérinaires) Université de Montréal: Montréal, 114 p.

Ghadersohia, A., Hirsta, R.G., Forbes-Faulkener, J., Coelen, R.J. 1999. Preliminary studies on the prevalence of *Mycoplasma bovis* mastitis in dairy cattle in Australia. *Veterinary Microbiology*, 65, 185-194.

Gille, L., Boyen, F., Van Driessche, L., Valgaeren, B., Haesebrouck, F., Deprez, P., Pardon, B. 2018. Short communication: Effect of freezer storage time and thawing method on the recovery of *Mycoplasma bovis* from bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 101 (1) : 609-613.

Gille, L., Callens, J., Supré, K., Boyen, F., Haesebrouck, F., Van Driessche, L., van Leenen, K., Deprez, P., Pardon, B. 2018. Use of a breeding bull and absence of a calving pen as risk factors for the presence of *Mycoplasma bovis* in dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 101 (9) : 8284-8290.

Gille, L., Pilob, P., Valgaerena, B.R., Van Driessche, L., Van Looc, H., Bodmerd, M., Bürki, S., Boyene, F., Haesebrouck, F., Deprez, P., Pardon, B. 2016. A new predilection site of *Mycoplasma bovis*: Postsurgical seromas in beef cattle. *Veterinary Microbiology*, 186, 67–70.

Giovannini, S., Zanoni, M.G., Salogni, C., Cinotti, S., Alborali G.L. 2013. *Mycoplasma bovis* infection in respiratory disease of dairy calves less than one month old. *Research in Veterinary Science*, 95, 576–579.

Gondaira, S., Higuchi, H., Iwano, H., Nishi, K., Nebu, T., Nakajima, K., Nagahata, H. 2018. Innate immune response of bovine mammary epithelial cells to *Mycoplasma bovis*. *J. Vet. Sci*, 19(1), 79-87.

Gondaira, S., Higuchi, H., Iwano, H., Nakajima, K., Kawai, K., Hashiguchi, S., Konnai, S., Nagahata, H. 2015. Cytokine mRNA profiling and the proliferative response of bovine peripheral blood mononuclear cells to *Mycoplasma bovis*, *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 165 : 45-53.

Gondairaa, S., Higuchia, H., Nishia, K., Iwanob, H., Nagahataa, H. 2017. *Mycoplasma bovis* escapes bovine neutrophil extracellular traps. *Veterinary Microbiology*, 199, 68–73.

Gonzalez, R.N., Wilson, D.J. 2003. Mycoplasmal mastitis in dairy herds *Vet Clin Food Anim*, 19, 199–221.

Guo, Y., Zhu, H., Wang, J., Huang, J., Khan, F.A., Zhang, J., Guo, A., Chen, X. 2017. TrmFO, a Fibronectin-Binding Adhesin of *Mycoplasma bovis*. *Int. J. Mol. Sci.*, 18. doi: 10.3390/ijms18081732

Haapala, V., Pohjanvirta, T., Vähänikkilä, N., Halkilahti, J., Simonen, H., Pelkonen, S., Soveri, T., Simojoki, H., Autio, T. 2018. Semen as a source of *Mycoplasma bovis* mastitis in dairy herds. *Veterinary Microbiology*, 216, 60–66.

Hananeh, W.M., Al Momani, W.M., Ababneh M.M., Abutarbush, S.M. 2018 *Mycoplasma bovis* arthritis and pneumonia in calves in Jordan: An emerging disease. *Veterinary World*, 11(12): 1663-1668.

Hazelton, M.S., Sheehy, P.A., Bosward, K.L., Parker, A.M., Morton, J.M., Dwyer, C.J., Niven, P.G., House, J.K. 2017. Short communication : Shedding of *Mycoplasma bovis* and antibody responses in cows recently diagnosed with clinical infection. *J. Dairy Sci.*, 101, 584-589.

Hermeyer, K., Buchenau, I., Thomasmeyer, A., Baum, B., Sperser, J., Rosengarten, R., Hewicker-Trautwein, M. 2012. Chronic pneumonia in calves after experimental infection with *Mycoplasma bovis* strain 1067: Characterization of lung pathology, persistence of variable surface protein antigens and local immune response. *Acta Veterinaria Scandinavica* , 54:9. doi: 10.1186/1751-0147-54-9.

Houlihan, M.G., Veenstra, B., Christian, M.K., Nicholas, R., Ayling, R. 2007. Mastitis and arthritis in two dairy herds caused by *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Record*, 160, 126-127.

- Howard, C.J., Taylor, G. 1983. Interaction of Mycoplasmas and Phagocytes. THE YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE, 56, 643-648.
- Jimbo, S., Suleman, M., Maina, T., Prysliak T., Mulongo, M., Perez-Casal J. 2017. Effect of Mycoplasma bovis on Bovine Neutrophils. Veterinary Immunology and Immunopathology. 188 : 27-33.
- Josi, C., Bürki, S., Stojiljkovic, A., Wellnitz, O., Stoffel, M.H., Pilo, P. 2018. Bovine Epithelial in vitro Infection Models for Mycoplasma bovis. Front. Cell. Infect. Microbiol., 8, 329. doi: 10.3389/fcimb.2018.00329.
- Justice-Allen, A., Trujillo, J., Corbett, R., Harding, R., Goodell, G., Wilson, D. 2010. Survival and replication of Mycoplasma species in recycled bedding sand and association with mastitis on dairy farms in Utah. Journal of Dairy Science, 93 (1) : 192-202.
- Langford, E.V. 1977. Mycoplasma agalactiae Subsp. bovis in Pneumonia and Arthritis of the Bovine. Can. J. comp. Med., 41 : 89-94.
- Lysnyansky, I., Ayling, R.D. 2016. Mycoplasma bovis : Mechanisms of Resistance and Trends in Antimicrobial Susceptibility. Front. Microbiol., 7:595. doi: 10.3389/fmicb.2016.00595.
- Lysnyansky, I., Rosengarten R., Yogev, D. 1996. Phenotypic Switching of Variable Surface Lipoproteins in Mycoplasma bovis Involves High-Frequency Chromosomal Rearrangements. JOURNAL OF BACTERIOLOG, 5395–5401.
- Maina, T., Prysliak, T., Perez-Casal, J. 2019. Mycoplasma bovis delay in apoptosis of macrophages is accompanied by increased expression of anti-apoptotic genes, reduced cytochrome C translocation and inhibition of DNA fragmentation. Veterinary Immunology and Immunopathology, 208, 16-24.
- Mahmood, F., Khan, A., Hussain, R., Khan, I.A., Abbas, R.Z., Ali, H.M., Younus, M. 2017. Patho-bacteriological investigation of an outbreak of Mycoplasma bovis infection in calves – Emerging health assault. Microbial Pathogenesis. 107 : 404-408.
- Maunsell, F.P., Woolums, A.R., Francoz, D., Rosenbuch, R.F., Step, D.L., Wilson, D.J., Janzen, E.D., 2011. Mycoplasma bovis in cattle. J. Vet. Intern. Med. 25, 772-783.
- Mausell, F.P., Donovan, G.A. 2009. Mycoplasma bovis in young cattle. Vet. Clin. Food Aim. 25:139-177.
- Maunsell, F., Brown, M.B., Powe, J., Ivey, J., Woolard, M., Love, W., Simecka, J.W. 2012. Oral inoculation of young dairy calves with Mycoplasma bovis results in colonization of tonsils, development of otitis media and local immunity. Plos one, 7 (9). doi: 10.1371/journal.pone.0044523.
- McAuliffe, L., Ellis, R.J., Miles, K., Ayling, R.D., Nicholas, R.A.J. 2006. Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. Microbiology, 152, 913–922.
- van der Merwe, J., Prysliak, T., Perz-Casal, J. 2010. In vasion of bovine peripheral blood mononuclear cells and erythrocytes by Mycoplasma bovis. Infection and immunity, 78, 4570-4578.
- Mitiku, F., Hartley, C.A., Sansom, F.M., Coombe, J.E., Mansell, P.M., Beggs, D.S., Browning, J.F. 2018. The majore membrane nuclease MnuA degrades neutropilic extracellular traps induced by Mycoplasma bovis. Veterinary Microbiology, 218, 13-19.
- Murai, K., Higuchi, H. 2019. Prevalence and risk factors of Mycoplasma bovis infection in dairy farms innorthern Japan Research in Veterinary Science, 123, 29–31.
- Nicholas, R.A.J., Ayling, R.D. 2003. Mycoplasma bovis : disease, diagnostic, and control. Research in Veterinary Science, 74, 105-112.
- Nicholas, R.A.J. 2011. Bovine mycoplasmosis: silent and deadly. Veterinary Record, 168, 459-462.

- Nicholas, R.A.J., Fox, L.K., Lysnyansky, I. 2016. Mycoplasma mastitis in cattle: to cull or not to cull, *The Veterinary Journal*. 216 : 142-147.
- Otter, A., Wright, T., Leonard, D., Richardson, M., Ayling, R. 2015. Mycoplasma bovis mastitis in dry dairy cows. *Veterinary record*. 177 : 601-602
- Parker, A.M., Sheehy, P.A., Hazelton, M.S., Bosward, K.L., House, J.K. 2018. A review of mycoplasma diagnostics in cattle. *J. Vet. Intern. Med.*, 32, 1241–1252.
- Parker, A.M., House, J.K., Hazelton, M.S., Bosward, K.L., Morton, J.M., Sheehy, P.A. 2017. Bulk tank milk antibody ELISA as a biosecurity tool for detecting dairy herds with past exposure to Mycoplasma bovis. *Journal of Dairy Science*, 100 (10) : 8296-8307.
- Passchyn, P., Piepers, S., De Meulemeester, L., Boyen, F., Haesebrouck, F., De Vliegher, S. 2012. Between-herd prevalence of Mycoplasma bovis in bulk milk in Flanders, Belgium. *Research in Veterinary Science*, 92, 219–220.
- Petersen, M.B., Pedersen, J., Holm, D.L., Denwood, M., Nielsen, L.R. 2018. A longitudinal observational study of the dynamics of Mycoplasma bovis antibodies in naturally exposed and diseased dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 101, 7383–7396.
- Peek, S.F., Divers. 2018. *Rhebum's disease of dairy cattle*. 3rd Edition. Elsevier. 704p
- Pfützner, H., Sachse, K. 1996. Mycoplasma bovis as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 15 (4), 1477-1494.
- Porret-Blanc, C., 2017. *ÉPIDÉMIOLOGIE DE MYCOPLASMA BOVIS EN ÉLEVAGE ALLAITANT : MISE AU POINT D'UN PROTOCOLE D'ENQUÊTE*. (Thèse) Université Claude-Bernard : Lyon, 79 p
- Punyapornwithaya, V., Fox, L.K., Hancock, D.D., Gay, J.M., Alldredge, J.R. 2010. Association between an outbreak strain causing mycoplasma bovis mastitis and its asymptomatic carriage in the herd : A case study from Idaho, USA. *Preventive Veterinary Medicine*, 93, 66–70.
- Radaelli, E., Castiglioni, V., Losa, M., Benedetti, V., Piccinini, R., Nicholas, R.A.J., Scanziani, E., Luini, M. 2011. Outbreak of bovine clinical mastitis caused by Mycoplasma bovis in a North Italian herd. *Research in Veterinary Science*, 91, 251–253.
- Ridley, A., Hateley, G. 2018. Mycoplasma bovis investigations in cattle. *Veterinary record*. 183:256-258.
- Rosengarten, R., Berhens, A., Stetefeld, A., Heller, M., Ahrens, M., Sachse, K., Yogev, D., Kirchhoff, K. 1994. Antigen Heterogeneity among Isolates of Mycoplasma bovis Is Generated by High-Frequency Variation of Diverse Membrane Surface Proteins. *INFECTION AND IMMUNITY*, 62, 11, 5066-5074.
- Sachse, K., Helbig, J.H., Lysnyansky, I., Grajetzki, C., Müller, W., Jacobs, E., Yogev, D. 2000. Epitope Mapping of Immunogenic and Adhesive Structures in Repetitive Domains of Mycoplasma bovis Variable Surface Lipoproteins *INFECTION AND IMMUNITY*, 68, 2, 680–687.
- Schibrowski, M.L., Gibson, J.S., Hay, K.E., Mahony, T.J., Barnes, T.S. 2018. Mycoplasma bovis and bovine respiratory disease: a risk factor study in Australian feeder cattle, *Preventive Veterinary Medicine*.
- Shahriar, F.M., Clark, E.G., Janzen, E., West, K., Wobeser, G. 2002. Coinfection with bovine viral diarrhoea virus and Mycoplasma bovis in feedlot cattle with chronic pneumonia. *Can. Vet. J.*, 43, 863–868.
- Simon F. Peek, Thomas J. Divers, 2018. *Rebum's Disease of dairy cattle*. Elsevier. 3rd édition. Saunders, 704 pp
- Song Z., LI, Y., Liu Y., Xin, J., Zou, X., Wenjing, S. 2012. a-Enolase, an Adhesion-Related Factor of Mycoplasma bovis. *PLoS ONE*, 2012, 7(6). doi:10.1371/journal.pone.0038836.g002.

- Stalheim, O.H.V., Page, L.A. 1975. Naturally Occurring and Experimentally Induced Mycoplasmal Arthritis of Cattle *Journal of clinical microbiology*, 165-168.
- Sulyok, K.M., Kreizinger, Z., Fekete, L., Hrivnák, V., Magyar, T., Jánosi, S., Schweitzer, N., Turcsányi, I., Makrai, L., Erdélyi K., Gyuranecz, M. 2014. Antibiotic susceptibility profiles of *Mycoplasma bovis* strains isolated from cattle in Hungary Central Europe *BMC Veterinary Research*, 10 : 256. doi: 10.1186/s12917-014-0256-x
- Tenk, M., 2005. Examination of *Mycoplasma bovis* infection in cattle. (Thèse) Université de Budapest: Budapest, 70 p
- Thomas, L.H., Howard, C.J., Stott, E.J., Parsons, K.R. 1986. *Mycoplasma bovis* Infection in Gnotobiotic Calves and Combined Infection with Respiratory Syncytial Virus. *Vet. Pathol.*, 23:571-578.
- Thomas, A., Sachse, K., Farnir, F., Dizier, I., Mainil, J., Linden, A. 2003. Adherence of *Mycoplasma bovis* to bovine bronchial epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*, 34, 141–148.
- Thomas, A., Sachse, K., Dizier, I., Grajetzki, C., Farnir, F., Mainil, J., Linden, A. 2003. Adherence to various host cell lines of *Mycoplasma bovis* strains differing in pathogenic and cultural features *Veterinary Microbiology*, 91, 101–113.
- Thomas, A., Mainil, J., Linden, A. 2003. *Mycoplasma bovis* : synthèse des connaissances actuelles *Ann. Méd. Vét.*, 147, 23-39.
- Timonen, A.A.E., Katholm, J., Petersen, A., Mötus, K., Kalmus, P. 2017. Within-herd prevalence of intramammary infection caused by *Mycoplasma bovis* and associations between cow udder health, milk yield, and composition. *J. Dairy Sci.* 100, 6554–6561.
- Vähänikkilä, N., Pohjanvirta, T., Haapala, V., Simojoki, H., Soveri, T., Browning, G.F., Pelkonen, S., Wawegama, N.K., Autio, T. 2019. Characterisation of the course of *Mycoplasma bovis* infection in naturally infected dairy herds. *Veterinary Microbiology*, 231, 107-115.
- Vanden Bush, T.J., Rosenbusch, R.F. 2003. Characterization of the immune response to *Mycoplasma bovis* lung infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94, 23–33.
- Van Driessche, L., Valgaeren, B.R., Gille, L., Boyen, F., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., Deprez, P., Pardon, B. 2017. A Deep Nasopharyngeal Swab Versus Nonendoscopic Bronchoalveolar Lavage for Isolation of Bacterial Pathogens from Preweaned Calves With Respiratory Disease. *J. Vet. Intern. Med.*, 31:946–953.
- Walz, P.H., Mullaney, T.P., Render, J.A., Walker, R.D., Mosser, T., Baker, J.C. 1997. Otitis media in preweaned Holstein dairy calves in Michigan due to *Mycoplasma bovis*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 9, 250-254.
- Wisselink, H.J., Smid, B., Plater, J., Ridley, A., Andersson, A-M., Aspán, A., Pohjanvirta, T., Vähänikkilä, N., Larsen, H., Högberg, J., Colin, A., Tardy, F. 2019. A European interlaboratory trial to evaluate the performance of different PCR methods for *Mycoplasma bovis* diagnosis. *BMC Veterinary Research*, 15:86. doi: 10.1186/s12917-019-1819-7
- Zbinden, C., Pilo, P., Frey, J., Bruckmaiera, R.M., Wellnitz, O. 2015. The immune response of bovine mammary epithelial cells to live or heat-inactivated *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Microbiology*, 179, 336–340.
- Zhao, G., Zhang, H., Chen, X., Zhu, X., Guo, Y., He, C., Khan, F.A., Chen, Y., Hu, C., Chen, H., Guo, A. 2017. *Mycoplasma bovis* NADH oxidase functions as both a NADH oxidizing and O₂ reducing enzyme and an adhesin. *Scientific Reports*. 7(1):44. doi: 10.1038/s41598-017-00121.