



**Matthieu  
Martineau**

Après l'obtention de mon master de microbiologie en juin 2020, j'ai démarré mon doctorat en octobre avec l'envie de devenir enseignant-chercheur. Fasciné par ce qui est atypique, j'avais naturellement postulé à une thèse concernant les mycoplasmes.

[matthieu.martineau@laboratoire-labeo.fr](mailto:matthieu.martineau@laboratoire-labeo.fr)

### Partenaire(s)



### Financier(s)



Fonds Éperon



## Les mycoplasmes dans les pathologies respiratoires équines

Matthieu Martineau<sup>1,2,3</sup>, Sophie Castagnet<sup>1,2</sup>, Éléna Kokabi<sup>1,2</sup>, Agnès Tricot<sup>3</sup>, Maryne Jay<sup>3</sup>, Florence Tardy<sup>3</sup>, Albertine Léon-Seck<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>LABÉO, Pôle Recherche, Développement et Innovation

<sup>2</sup>Normandie Univ, UNICAEN, UNIROUEN, Inserm UMR 1311 DYNAMICURE

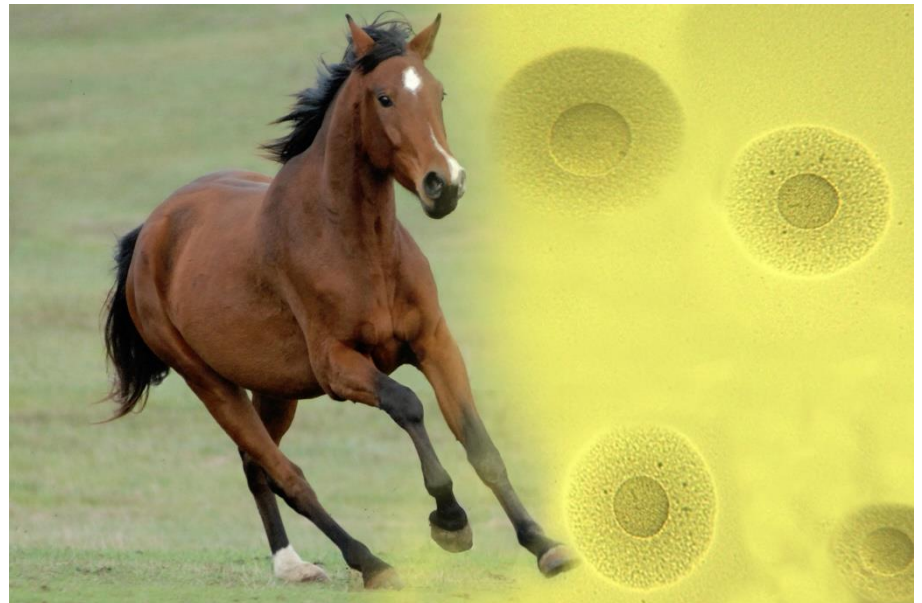
<sup>3</sup>Université de Lyon, UMR Mycoplasmoses animales, VetAgro Sup, Anses, laboratoire de Lyon

### Type de présentation : présentation orale – projet de recherche

#### Ce qu'il faut retenir :

Des bactéries du genre *Mycoplasma* sont détectées par PCR dans 15% des prélèvements respiratoires reçus pour diagnostic à LABÉO. Leur implication dans les troubles cliniques observés est méconnue. Le projet MYCOPAB a pour but de préciser la prévalence des espèces mycoplasmiques et leur rôle éventuel en clinique.

Nos résultats confirment une prévalence moyenne de 18% de mycoplasmes dans notre population d'étude. Cette prévalence est supérieure dans les liquides trachéaux par rapport aux lavages broncho-alvéolaires. L'espèce *M. equirhinis* est majoritairement détectée et isolée.



© Projet MYCOPAB, Laboratoire LABÉO

## 1 Contexte et objectifs

Les maladies respiratoires sont la deuxième cause de contre-performance chez le cheval de course et la source de pertes économiques importantes pour la filière équine (1). Lors d'une suspicion d'infection respiratoire chez un cheval, le vétérinaire peut pratiquer un lavage trachéal (LT) et/ou un lavage broncho-alvéolaire (LBA) et les adresser à un laboratoire pour analyses cytologiques et/ou identifications des micro-organismes (virus comme bactéries) présents. Entre 2016 et 2019, les bactéries du genre *Mycoplasma* ont été détectées par PCR dans 15% des prélèvements respiratoires équins analysés à LABÉO en routine. Les mycoplasmes pourraient contribuer aux infections respiratoires et aux baisses de performance chez le cheval porteur mais ce rôle reste encore incertain (2,3).

## 2 Méthode

La population dite « diagnostic » correspond aux chevaux du cheptel français pour lesquels au moins un prélèvement respiratoire a été envoyé pour analyse à LABÉO en 2020 et 2021 (n=1 376). Les résultats obtenus sur cette population sont comparés à ceux d'une population « témoin » (réputée asymptomatique) constituée de 52 juments du plateau technique IFCE du Pin (LT et LBA réalisés entre le 30 juin et le 2 juillet 2021).

Deux méthodes de détection (PCR et culture) sont mises en place après enrichissement du prélèvement initial dans deux bouillons distincts, à 37°C et sous une atmosphère à 5% de CO<sub>2</sub>.

L'ADN (Acide DésoxiriboNucléique) est extrait du premier bouillon après trois à sept jours d'incubation puis analysé à l'aide d'une PCR temps-réel (rtPCR) duplex ciblant le gène codant pour l'ARNr 16S (Acide RiboNucléique ribosomal) des bactéries du genre *Mycoplasma spp.* et le gène Tuf de l'espèce *Mycoplasma felis*.

Le second bouillon est observé chaque jour. Dès apparition d'un trouble ou changement de pH, ou après trois jours en l'absence de modification d'aspect, le bouillon est repiqué en bouillon et sur gélose, en goutte roulante. En cas de contamination du bouillon d'origine, celui-ci est filtré avant d'être repiqué. Un prélèvement est considéré positif en culture lorsque des colonies mycoplasmaïques caractéristiques (en « œuf sur le plat ») sont observées sur gélose. Les souches isolées sont repiquées en bouillon puis conservées à -80°C.

Les extraits d'ADNs positifs en rtPCR (issus du premier bouillon) et ceux extraits des souches isolées (du second bouillon) sont amplifiés et séquencés par la technologie Sanger à l'aide d'amorces universelles ciblant le 16S bactérien pour identification d'espèce. En cas d'échec, les extraits d'ADN sont analysés par deux PCR spécifiques des espèces *M. equirhinis* et *M. pulmonis* respectivement.

## 3 Résultats

### 3.1 PCR et culture

#### 3.1.1 Prévalence globale

La figure 1 regroupe les résultats obtenus par PCR et culture pour les prélèvements de 1 428 chevaux, représentant l'association des populations « diagnostic » et « témoin ».

Figure 1. Diagramme de Venn des résultats d'analyse par PCR et culture des prélèvements de la population « diagnostic » et « témoin ».

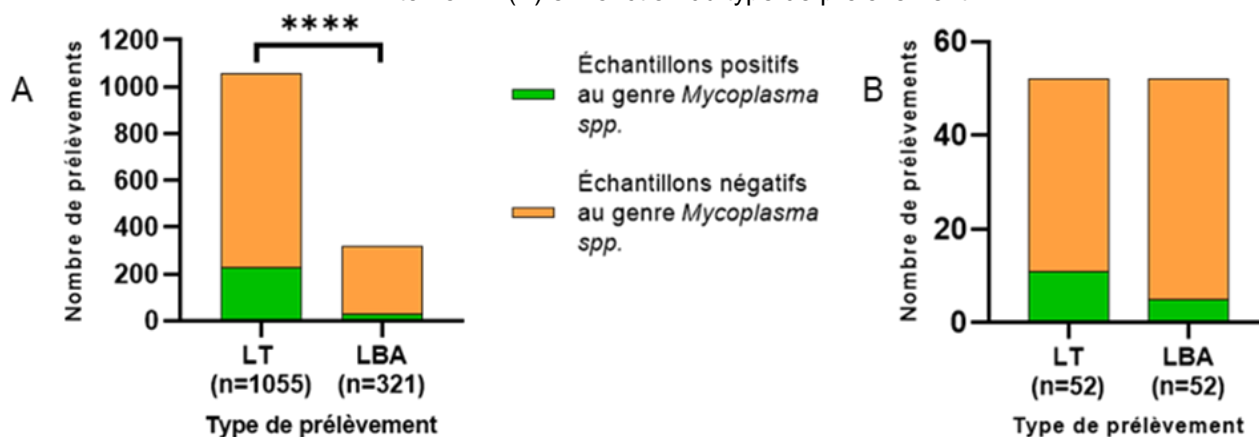


Au total, 266 chevaux sont positifs par au moins une des deux méthodes utilisées : 149 uniquement en PCR, 103 par PCR et culture et 14 uniquement par culture. La prévalence des mycoplasmes est donc de 18,6% (266/1428). Cette prévalence est identique dans la population « diagnostic » (18,5%) et légèrement supérieure dans la population témoin (21,1%).

### 3.1.2 Prévalence en fonction de la nature du prélèvement

La population « diagnostic » est constituée de 1 055 LT (incluant les aspirations trachéales) et 321 LBA, alors que la population « témoin » est composée de 52 LT et 52 LBA. La prévalence des mycoplasmes dans chaque population en fonction de la nature des prélèvements est représentée dans la figure 2.

Figure 2. Résultats de la détection des mycoplasmes dans la population « diagnostic » (A) et la population « témoin » (B) en fonction du type de prélèvement



LT = Lavages Trachéaux, LBA = Lavages Broncho-Alvéolaires. La positivité est définie lorsque l'une ou l'autre des analyses, PCR ou culture, est positive. \*\*\*\* = différence significative de positivité entre les types de prélèvements (p-value < 0,001 obtenue par le test du Chi<sup>2</sup>).

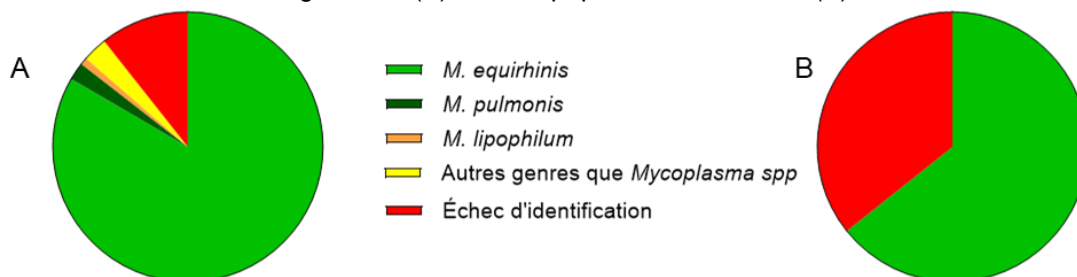
La prévalence des mycoplasmes dans la population « diagnostic » est de 21,4% dans les LT (226/1055) et de 9% dans les LBA (29/321). Pour la population « témoin », les prévalences sont de 21,1% (11/52) et 9,6% (5/52) dans les LT et LBA respectivement. Ainsi, la prévalence des mycoplasmes dans les LT est largement supérieure à celle des LBA quelle que soit la population étudiée.

## 3.2 Identification

### 3.2.1 A partir des extraits d'ADN

A ce jour, sur les 242 extraits d'ADN positifs de la population « diagnostic », 235 échantillons sont séquencés et l'espèce *M. equirhinis* est identifiée dans 83% (n=196) des cas, *M. pulmonis* dans 2% (n=5) et *M. lipophilum* dans 1% (n=2). Sept extraits d'ADN sont identifiés comme appartenant à un autre genre que *Mycoplasma spp* (3%) et 25 extraits restent en échec d'identification (11%). *M. felis* a été identifié à l'aide de la sonde ciblant le gène Tuf de la rt-PCR dans quatre extraits d'ADN. Pour la population « témoin », sur les 14 extraits ADNs positifs en PCR, *M. equirhinis* est identifiée dans neuf extraits (64%) alors que les autres n'ont pas pu être identifiés. L'ensemble des identifications par séquençage pour les deux populations sont représentées en figure 3.

Figure 3. Diagrammes circulaires représentant les identifications à partir des extraits ADN de la population « diagnostic » (A) et de la population « témoin » (B).



### 3.2.2 A partir des souches isolées

Sur les 98 souches isolées de la population « diagnostic », 96 ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *M. equirhinis*, une à l'espèce *M. felis* et la dernière n'a pas pu être identifiée pour le moment. Les 11 souches isolées de la population « témoin » ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *M. equirhinis*.

## 4 Conclusions et applications pratiques

La prévalence des mycoplasmes en 2020 et 2021 (18,6%) est légèrement supérieure aux observations des années précédentes (~15% par an entre 2016 et 2019). Cela s'explique sans aucun doute par l'amélioration méthodologique apportée par la combinaison de la culture et de la PCR dans ce projet. La détection des mycoplasmes est significativement supérieure dans les LT par rapport aux LBA. *M. equirhinis* est l'espèce mycoplasmatique majoritairement retrouvée dans le tractus respiratoire des chevaux en France en situation clinique comme dans une population estimée asymptomatique. Afin de confronter ces prévalences au statut clinique du cheval, un score clinique est en cours d'attribution pour chaque cheval avec des commémoratifs cliniques complets disponibles. Ce score prendra en compte les signes cliniques caractéristiques des affections respiratoires équinées : toux, jetage nasal, dyspnée, mucus trachéal, bruits respiratoires et l'hyperthermie. La prévalence des mycoplasmes, liée aux scores cliniques permettra de déterminer le rôle éventuel de ces bactéries et donc de légitimer ou non leur prise en compte dans le contrôle des infections respiratoires équinées.

## 5 Pour en savoir plus

- (1) Wood, JLN et al. inflammatory airway disease, nasal discharge and respiratory infections in young British racehorses. *Equine Vet. J.* 37:236–242 (2010).
- (2) Carman, S. et al. Infectious Agents in Acute Respiratory Disease in Horses in Ontario. *J. Vet. Diag. Invest.* 9, 17–23 (1997).
- (3) Uchida-Fujii, E. et al. High prevalence of *Mycoplasma equirhinis* in Thoroughbred horses with respiratory symptoms in autumn 2018. *J. Vet. Med. Sci.* 83, 1907–1912 (2021).

## En partenariat avec :

