

Table des matières

Liste des tableaux	19
Liste des figures	21
Introduction	23
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	25
1- Caractéristiques des mycoplasmes caprins	29
1.1- Taxonomie	29
1.2- Caractères morphologiques, culturels et biochimiques	30
1.2.1- Morphologie et structure interne	30
1.2.2- Caractères culturels	30
1.2.3- Caractères biochimiques	32
1.2.3.1- Différenciation au sein du taxon <i>Mycoplasmataceae</i>	32
1.2.3.2- Différenciation des espèces de mycoplasmes par les tests biochimiques	33
1.3- Structure antigénique et pouvoir immunogène	34
1.3.1- Structure antigénique	34
1.3.2- Pouvoir immunogène	35
1.4- Pouvoir pathogène	35
1.4.1- Pouvoir d'adhésion	36
1.4.2- Effets cytopathique et toxique	36
1.4.3- Pouvoir invasif	37
1.5- Résistance	37
2- Epidémiologie	38
2.1- Epidémiologie descriptive	38
2.2- Epidémiologie analytique	40
2.2.1- Voies d'excrétion des mycoplasmes	40
2.2.1.1- Excrétion consécutive à une maladie clinique	40
2.2.1.2- Portage des mycoplasmes	41

2.2.2- Mécanismes de contamination	41
2.2.2.1- Voies de pénétration	41
2.2.2.1.1- Voie orale	41
2.2.2.1.2- Voie respiratoire	42
2.2.2.1.3- Voie mammaire	42
2.2.2.1.4- Voie oculaire	43
2.2.2.1.5- Voie génitale	43
2.2.2.1.6- Autres voies	43
2.2.2.2- Modalités de transmission	44
2.2.2.2.1- Transmission verticale	44
2.2.2.2.2- Transmission horizontale	44
2.2.3- Facteurs de susceptibilité	45
2.2.3.1- Facteurs liés à l'animal	45
2.2.3.1.1- Espèces	45
2.2.3.1.2- Age	45
2.2.3.1.3- Sexe et stade physiologique	45
2.2.3.1.4- Statut immunitaire	46
2.2.3.2- Facteurs liés au milieu	46
2.2.3.2.1- Facteurs zootechniques	46
2.2.3.2.2- Facteurs climatiques	46
3- Etude clinique des mycoplasmoses	46
3.1- Pathogénie	46
3.2- Atteintes majeures	47
3.2.1- Atteinte respiratoire	47
3.2.1.1- Symptômes	47
3.2.1.2- Lésions	48
3.2.2- Atteinte mammaire	48
3.2.2.1- Symptômes	48
3.2.2.2- Lésions	48
3.2.3- Atteinte articulaire	49
3.2.3.1- Symptômes	49
3.2.3.2- Lésions	49
3.3- Atteintes mineures	50

3.3.1- Atteinte oculaire	50
3.3.2- Atteinte génitale	50
3.4- Diagnostic différentiel	51
4- Outils diagnostiques	54
4.1- Diagnostic bactériologique	54
4.1.1- Prélèvements	54
4.1.2- Isolement	54
4.1.3- Identification	56
4.1.3.1- Morphologie	56
4.1.3.2- Tests biochimiques	56
4.1.3.3- Inhibition de croissance	56
4.1.3.4- Immuno-adsorption sur filtre (MF dot)	57
4.1.3.5- L'immunofluorescence	57
4.1.4- Limites du diagnostic bactériologique	57
4.2- Diagnostic sérologique	58
4.2.1- Réaction de fixation du complément	58
4.2.2- Technique ELISA	58
4.2.2.1- Principe	59
4.2.2.1.1- Préparation des microplaques	59
4.2.2.1.1.1- Fixation des anticorps	59
4.2.2.1.1.2- Révélation des immun-complexes	59
4.2.2.1.2- Lecture et résultats	60
4.2.2.2- Validité et interprétation des résultats	60
4.3- Nouveaux outils	61
4.3.1- La PCR	61
4.3.1.1- Principe	61
4.3.1.2- Résultats obtenus	62
4.3.2- Le Western-blot	62
5- Méthodes de luttés	62
5.1- Traitements	62
5.2- Prophylaxie	63
5.2.1- Prophylaxie médicale	63

5.2.1.1- Vaccins inactivés	64
5.2.1.2- Vaccins vivants atténués	65
5.2.2- Prophylaxie sanitaire	65
5.2.2.1- Au sein d'un troupeau	65
5.2.2.1.1- Réduction des sources de mycoplasmes	66
5.2.2.1.2- Limitation de la transmission au sein du troupeau	66
5.2.2.2- Au sein d'une région	67
5.2.2.2.1- Détection des élevages infectés	67
5.2.2.2.2- Mesures de prophylaxie sanitaire mises en place	68
5.2.2.2.3- Contrôle à l'achat	69
5.2.2.3- Au niveau international	69
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	71
1- Matériels et méthodes	73
1.1- Lieu et durée des prélèvements	73
1.2- Les cheptels	74
1.3- Les animaux	75
1.4- Les prélèvements	75
1.4.1- Prélèvements de lait	76
1.4.1.1- Réalisation du prélèvement	76
1.4.1.2- Stockage des prélèvements	76
1.4.2- Prélèvement de sang	76
1.4.2.1- Réalisation du prélèvement	76
1.4.2.2- Stockage des prélèvements	76
1.5- Réalisation des analyses	77
1.5.1- Les analyses bactériologiques	77
1.5.2- Les analyses sérologiques	77
1.6- Analyses des résultats	78
1.6.1- Analyses statistiques des résultats	78
1.6.1.1- Présentation des tests statistiques utilisés	78
1.6.1.2- Calcul des paramètres de validité d'un test	78
1.6.2- Classification des cheptels	80

2.3.2- Analyse factorielle du test bactériologique	113
2.3.2.1- <i>M. agalactiae</i>	113
2.3.2.2- <i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> LC	113
2.3.2.3- <i>M. putrefaciens</i>	114
2.3.2.4- <i>M. capricolum capricolum</i>	115
2.3.3- Bilan	115
3- Discussion	116
3.1- Le protocole	116
3.1.1- Echantillonnage	116
3.1.1.1- Les élevages	116
3.1.1.2- Les animaux	117
3.1.2- Les outils de diagnostic	117
3.1.2.1- La bactériologie	117
3.1.2.2- Le test ELISA	118
3.2- Les résultats	119
3.2.1- Analyse descriptive	119
3.2.1.1- Les résultats bactériologiques	119
3.2.1.1.1- Bilan	119
3.2.1.1.2- Relation lait de tank et lait individuel	120
3.2.1.2- Les résultats sérologiques	120
3.2.2- Mise au point d'un indice sérologique pour les cheptels	121
3.2.2.1- Choix de l'indice	121
3.2.2.2- Statut sérologique des troupeaux	121
3.2.3- Comparaison des méthodes sérologique et bactériologique pour le diagnostic des mycoplasmoses	122
Conclusion	123
Bibliographie	125
Annexes	139

Liste des tableaux

Tableau I : Principaux mycoplasmes à l'origine de maladies chez les animaux domestiques et l'homme.

Tableau II : Caractéristiques biochimiques des principaux mycoplasmes retrouvés chez les caprins.

Tableau III : Diagnostic différentiel des mycoplasmoses caprines.

Tableau IV : Récapitulatif de la pathogénie et des symptômes des mycoplasmes des petits ruminants.

Tableau V : Composition du milieu de culture spécifique des mycoplasmes.

Tableau VI : Principe du calcul des différents indices sérologiques pour les troupeaux.

Tableau VII : Mesures vis-à-vis des déplacements et du commerce des animaux en Pyrénées-Atlantiques.

Tableau VIII : Résultats d'un test de dépistage

Tableau IX : Principe de calcul des différents indices sérologiques utilisés.

Tableau X : Résultats bactériologiques des 38 élevages.

Tableau XI : Proportion de troupeaux atteints mise en évidence avec la bactériologie au sein de l'échantillon et de la population.

Tableau XII : Répartition des différentes espèces de mycoplasmes au sein de l'échantillon et de la population.

Tableau XIII : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. agalactiae*.

Tableau XIV : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC.

Tableau XV : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. putrefaciens*.

Tableau XVI : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. capricolum capricolum*.

Tableau XVII : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. agalactiae* en fonction du statut bactériologique des troupeaux.

Tableau XVIII : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC en fonction du statut bactériologique des troupeaux.

Tableau XIX : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. putrefaciens* en fonction du statut bactériologique des troupeaux.

Tableau XX : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. capricolum capricolum* en fonction du statut bactériologique des troupeaux.

Tableau XXI : Nombres de sérologies positives selon les trois indices.

Tableau XXII : Résultats de validité des différents indices calculés.

Tableau XXIII : Indice maximal parmi les quatre espèces de mycoplasmes et espèce concernée.

Tableau XXIV : Proportion de troupeaux atteints mise en évidence avec la sérologie au sein de l'échantillon et de la population.

Tableau XXV : Répartition des prévalences obtenue par la sérologie des différentes espèces de mycoplasmes au sein de l'échantillon et de la population.

Tableau XXVI : Résumé des principaux résultats bactériologiques et sérologiques.

Tableau XXVII : Résultats de l'échantillon pour *M. agalactiae*.

Tableau XXVIII : Résultats de l'échantillon pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC.

Tableau XXIX : Résultats de l'échantillon pour *M. putrefaciens*.

Tableau XXX : Résultats de l'échantillon pour *M. capricolum capricolum*.

Tableau XXXI : Résultats de l'échantillon pour *M. agalactiae*.

Tableau XXXII : Résultats de l'échantillon pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC.

Tableau XXXIII : Résultats de l'échantillon pour *M. putrefaciens*.

Tableau XXXIV : Résultats de l'échantillon pour *M. capricolum capricolum*.

Liste des figures

Figure 1 : Structure des mycoplasmes en microscopie électronique (G x 68.000).

Figure 2 : Photographie de colonies de *Acholeplasma laidlawii* au microscope (G x 50) montrant l'aspect typique en « œuf sur le plat ».

Figure 3 : Différenciation des genres de *Mycoplasmataceae* isolés chez les animaux.

Figure 4 : Répartition mondiale des mycoplasmoses caprines.

Figure 5: Répartition géographique des mycoplasmoses en France.

Figure 6 : Détail de la zone de collecte centrée sur la laiterie située à Rians.

Figure 7 : Histogramme de répartition des titres sérologiques pour *M. agalactiae* des animaux de l'échantillon.

Figure 8 : Histogramme de répartition des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC des animaux de l'échantillon.

Figure 9 : Histogramme de répartition des titres sérologiques pour *M. putrefaciens* des animaux de l'échantillon.

Figure 10 : Histogramme de répartition des titres sérologiques pour *M. capricolum capricolum* des animaux de l'échantillon.

Figure 11 : Répartition des titres sérologiques pour *M. agalactiae* en fonction du statut bactériologique des troupeaux.

Figure 12 : Répartition des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC en fonction du statut bactériologique des troupeaux.

Figure 13 : Répartition des titres sérologiques pour *M. putrefaciens* en fonction du statut bactériologique des troupeaux.

Figure 14 : Répartition des titres sérologiques pour *M. capricolum capricolum* en fonction du statut bactériologique des troupeaux.

Figure 15 : Répartition des troupeaux selon le pourcentage d'animaux positifs avec les critères de l'indice 1.

Figure 16 : Répartition des troupeaux selon le pourcentage d'animaux positifs avec les critères de l'indice 2.

Figure 17 : Répartition des troupeaux selon le pourcentage d'animaux positifs avec les critères de l'indice 3.

Figure 18 : Répartition des troupeaux selon les critères de l'indice 1.

Figure 19 : Répartition des troupeaux selon les critères de l'indice 2.

Figure 20 : Répartition des troupeaux selon les critères de l'indice 3.



Introduction

Les mycoplasmoses caprines (avec entre autres le syndrome d'agalactie contagieuse), bien que connaissant aujourd'hui une répartition mondiale très large, sont particulièrement développées dans le bassin méditerranéen. En France, seules les Pyrénées-Atlantiques et la Savoie constituent des régions d'enzootie à *Mycoplasma agalactiae*. Les autres espèces de mycoplasmes retrouvées chez les caprins (*Mycoplasma capricolum capricolum*, *Mycoplasma putrefaciens*, *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* Large Colony (LC)) ne sont à l'origine que de cas sporadiques dont la fréquence augmente de plus en plus.

Ces différentes espèces de mycoplasmes provoquent des symptômes semblables, mais le tropisme de chaque espèce est plus ou moins marqué pour certains organes et la fréquence des symptômes observés varie d'une espèce à l'autre. Globalement, les organes cibles sont le plus fréquemment les mamelles, les articulations et les poumons. La gravité des symptômes est variable et cette infection peut engendrer de grandes pertes économiques dans les élevages touchés (chute de production laitière, non-valeur économique de certains animaux atteints...).

La région Centre est la troisième région de France pour le nombre d'exploitations caprines et la seconde en matière de production laitière. Contrairement à la région Poitou-Charentes, elle est composée majoritairement d'élevages fermiers et elle regroupe sur ses 5 départements des appellations d'origine contrôlée très réputées : le crottin de Chavignol, le Selles-sur-Cher, le Sainte-Maure-de-Touraine, le Valençay et le Pouligny-Saint-Pierre. Aucune étude ni aucune prophylaxie sanitaire vis-à-vis des mycoplasmoses caprines n'existent jusqu'à présent dans cette région.

L'AFSSA site de Niort en collaboration avec la laiterie Tribalat (située en plein cœur de la zone du crottin de Chavignol), a décidé de réaliser un bilan de la situation de la région Centre, et plus particulièrement de la zone de collecte de la laiterie, vis-à-vis des mycoplasmoses caprines. L'objectif de notre travail était donc d'étudier le degré d'infection de la zone et d'établir un indice sérologique représentatif du degré d'infection qui puisse aussi être utilisable dans le cadre d'une prophylaxie sanitaire. De plus, nous avons cherché à comparer l'efficacité des méthodes sérologiques et bactériologiques pour le dépistage des mycoplasmoses caprines.

La première partie de ce travail sera consacrée à une étude bibliographique concernant les quatre principales espèces de mycoplasmes caprins. La deuxième partie présentera notre étude expérimentale visant à étudier la prévalence des mycoplasmoses caprines dans la région Centre et à comparer deux techniques de dépistage.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Une centaine d'espèces de mycoplasmes qui peuvent affecter de nombreuses espèces animales et végétales ont été identifiées jusqu'à présent (voir tableau I). Il existe une certaine spécificité d'hôte mais non étroite. Même si le tropisme tissulaire des mycoplasmes est très varié, ils sont principalement retrouvés au niveau des muqueuses respiratoires, génitales et oculaires.

Cinq espèces majeures de mycoplasmes sont retrouvées chez les caprins et sont à l'origine de deux des plus importantes mycoplasmoses animales : *Mycoplasma capricolum capripneumoniae* à l'origine de la pleuropneumonie contagieuse caprine en régions tropicales, *Mycoplasma agalactiae* (*M. agalactiae*), *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* Large Colony (*M. mycoides* subsp. *mycoides* LC ou *MmmLC*), *Mycoplasma putrefaciens* (*M. putrefaciens*) et *Mycoplasma capricolum capricolum* (*M. capricolum capricolum* ou *Mcc*) responsables entre autres de l'agalactie contagieuse des petits ruminants.

Ce sont ces quatre dernières espèces qui vont plus particulièrement nous intéresser ici et notamment les différents outils existants pour leur diagnostic.

Ainsi seront abordés successivement les caractéristiques des mycoplasmoses engendrées par ces espèces ainsi que leurs diagnostics de laboratoire.

Tableau I : Principaux mycoplasmes à l'origine de maladies chez les animaux domestiques et l'homme (QUINN *et al.*, 1994 ; BEBEAR *et al.*, 1996)

Espèces (souches de référence)	Maladie ou symptômes
CAPRINS <i>M. capricolum capripneumoniae</i>	Pleuropneumonie contagieuse caprine
OVINS ET CAPRINS <i>M. agalactiae</i> <i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> LC <i>M. putrefaciens</i> <i>M. capricolum capricolum</i> <i>M. conjunctivae</i> <i>M. ovipneumoniae</i> <i>M. Arginini</i>	Mammite, arthrite, pleuropneumonie, septicémie, kératite Mammite, arthrite, pleuropneumonie, septicémie, kératite Mammite, arthrite, pleuropneumonie, septicémie, kératite Mammite, arthrite, pleuropneumonie, septicémie, kératite Conjonctivite Pneumonie Kératoconjonctivite, pleuropneumonie
BOVINS <i>M. californicum</i> <i>M. canadense</i> <i>M. bovis</i> <i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> SC <i>M. bovis genitalium</i> <i>M. dispar</i> <i>U. diversum</i>	Mammite Mammite Mammite, arthrite, pneumonie, infection génitale, avortements Pleuropneumonie contagieuse bovine Vaginite, arthrite, mammite, vésiculite séminale Pneumonie (veaux) Mortalité embryonnaire, avortement, infection génitale, kératoconjonctivite, broncho-pneumonie
CHEVAUX <i>M. felis</i>	Pleurésie
PORCS <i>M. hyorhinis</i> <i>M. hyosynoviae</i> <i>M. hyopneumoniae</i> <i>M. suis</i>	Arthrite chronique progressive et polysérosité sur des porcs de 3 à 10 semaines Polyarthrite mycoplasmique sur des porcs de 1 à 2 ans Pneumonie enzootique du porc Eperythrozoonose
VOLAILLE <i>M. gallisepticum</i> <i>M. synoviae</i> <i>M. meleagridis</i> <i>M. iowae</i> <i>M. anati</i>	Poulet : maladie respiratoire chronique Dindon : sinusite infectieuse Poulet et dindon : synovite infectieuse Dindon : sacculite et bursite des jeunes oiseaux Dindon : sacculite, défaut de croissance et déformation des membres. Parfois mortalité embryonnaire Canard : sinusite
CHIENS <i>M. cynos</i> <i>M. canis</i>	Pneumonie (incluse dans le complexe toux de chenil) Cystite, prostatite, épидидymite
CHATS <i>M. felis</i> <i>M. haemofelis</i> (ou <i>H. felis</i>)	Conjonctivite Anémie et accélération du processus myeloprolifératif chez les FeIV +
HOMME <i>M. pneumoniae</i> <i>M. hominis</i> <i>M. genitalium</i> <i>U. urealyticum</i>	Trachéo-bronchite, pneumonie atypique primitive, arthrites Endométrites, vaginites, salpingites, chorioamnionites, poussées fébriles post-partum Urétrite, , arthrites Urétrite, épидидymites, arthrites

M : Mycoplasma, U : Ureoplasma, H : Haemobartonella

1- Caractéristiques des mycoplasmes caprins

1.1- Taxonomie

De par leur petite taille (environ 0,5 μm de diamètre) et leur morphologie très variable, les mycoplasmes ont longtemps posé des problèmes aux bactériologistes essayant de les classer. A présent, ils sont considérés comme de petites bactéries dépourvues de paroi rigide, fragiles et extracellulaires appartenant à la classe des Mollicutes (POUMARAT *et al.*, 1996-1997). Il existe six genres au sein de cette classe, le genre *Mycoplasma* comprenant le plus d'espèces. Les Mollicutes, en dehors de leur absence de paroi, ont également la particularité de posséder un petit génome (de 620 à 780 kb) pauvre en guanine et en cystéine (WEISBURG *et al.*, 1989).

Les essais de subdivision du genre *Mycoplasma* ont longtemps été basés sur une approche immunologique ou sur l'examen de la composition de l'ADN. Mais ces approches furent insuffisantes pour étudier la phylogénétique des différentes espèces et ce manque a pu être pallié par l'analyse des séquences d'ARNr 16S. WEISBURG *et al.* (1989) ont ainsi mis en évidence cinq groupes et les quatre espèces de mycoplasmes de notre étude sont réparties en deux classes phylogénétiques différentes :

- *M. agalactiae* appartient au groupe *hominis*.
- *M. putrefaciens*, *M. capricolum capricolum* et *M. mycoides* subsp *mycoides* LC appartiennent au groupe *mycoides*. Le groupe *mycoides* peut ensuite être divisé en deux sous groupes : d'un côté les espèces *mycoides* (*M. mycoides* subsp. *mycoides* LC) et de l'autre, les espèces *capricolum* (THIAUCOURT *et al.*, 2000).

De plus, leur étude a permis également de montrer que *M. agalactiae* est plus proche phylogénétiquement de certains mycoplasmes bovins (*M. bovis californicum* et *M. bovis genitalium*) que des autres mycoplasmes caprins de notre étude.

Enfin, des études récentes sur les séquençages d'ADN ont légèrement modifié la classification bactérienne intégrant les bactéries *Haemobartonella* sp. et *Eperythrozoon* sp. au sein du genre *Mycoplasma* (MESSICK *et al.*, 2002 cité par Euzeby dans son site du dictionnaire de bactériologie vétérinaire, mis à jour le 17 octobre 2003).

1.2- Caractères morphologiques, culturels et biochimiques

1.2.1- Morphologie et structure interne

Les mycoplasmes sont les plus petits organismes vivants capables de s'auto-reproduire sans avoir recours aux cellules de l'hôte et sont donc bien des bactéries et non des virus.

De par l'absence de paroi rigide, ils peuvent revêtir des formes très variées selon les conditions du milieu (sphères « cocoïdes », éléments ramifiés, étoiles, anneaux, chapelets...), peuvent traverser des filtres biologiques de porosité 0,4 μm , voir 0,2 μm lorsqu'ils se déforment, sont très sensibles à la lyse mais insensibles aux substances antimicrobiennes qui dégradent ou inhibent la synthèse des peptidoglycanes de la paroi (bêta-lactamines) (POUMARAT *et al.*, 1996-1997).

Le cytoplasme est entouré d'une membrane cellulaire caractéristique des procaryotes et constituée de lipides amphotères et de protéines. Les études microscopiques de sections fines des mycoplasmes ont révélé que ces cellules sont construites autour de trois organites essentiels : la membrane cellulaire, les ribosomes et le génome caractéristique des procaryotes (voir figure 1).

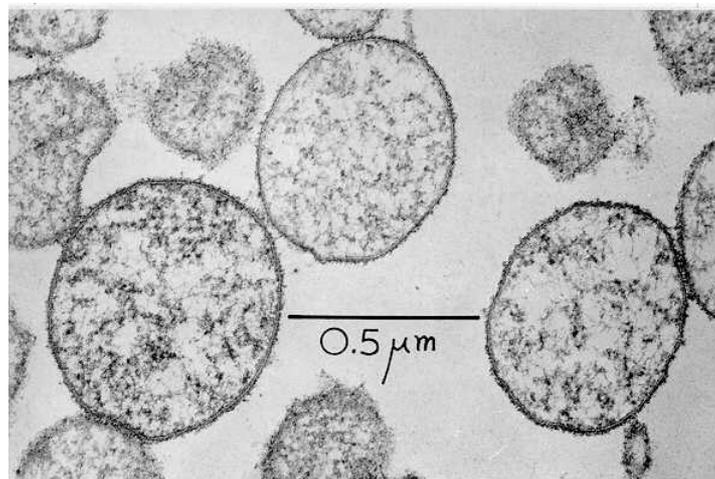


Figure 1 : Structure des mycoplasmes en microscopie électronique (G x 68.000) (RAZIN)

1.2.2- Caractères culturels

Le génome, pouvant aller de 600 Kb à 1300 Kb, est le plus petit des génomes des procaryotes et représente en moyenne moins d'un cinquième du génome d'*Escherichia coli*.

Cette petite taille limite les capacités de biosynthèse des mycoplasmes et leur culture requiert donc des milieux de composition spécifique. Il faut, entre autres, ajouter du sérum (apport d'acide gras) et du cholestérol, nécessaires à l'élaboration de la membrane. Cette dépendance vis-à-vis des stéroïdes est spécifique chez les Mollicutes aux mycoplasmes, aux uréaplasmes, aux spiroplasmes et aux acholéplasmes (POUMARAT *et al.*, 1996-1997 ; TULLY, 1983).

Lorsque les mycoplasmes sont cultivés sur une gélose, les colonies sont petites (50 à 500 µm de diamètre) et présentent une forme caractéristique en « œuf sur le plat » (voir figure 2) divisée en une zone centrale opaque, granuleuse enchâssée dans la gélose et une épaisse zone périphérique translucide. Mais cette caractéristique est commune à tous les *Mycoplasmataceae* et pour pouvoir aller plus loin dans l'identification il faut passer par des tests biochimiques (RAZIN, 1983).

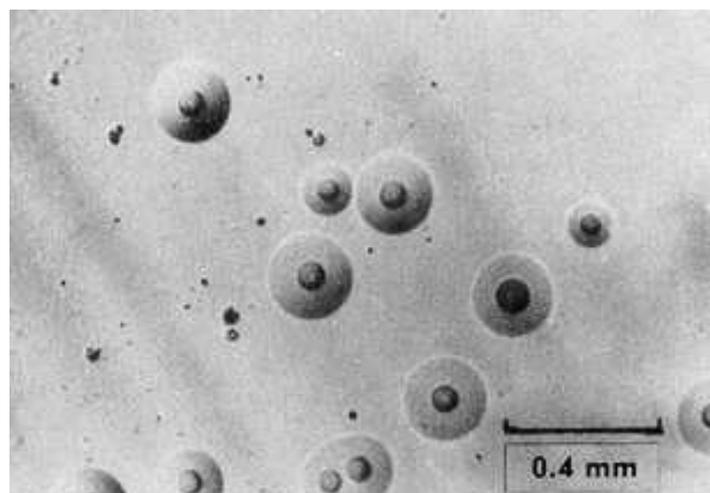


Figure 2 : Photographie de colonies de *Acholeplasma laidlawii* au microscope (G x 50) montrant l'aspect typique en « œuf sur le plat » (RAZIN et OLIVER, 1961)

La plupart des mycoplasmes sont des bactéries anaérobies facultatives ; toutefois, les cultures primaires poussent plus rapidement sous atmosphère humide à 5% de CO₂ (conditions préconisées pour un premier isolement). Le pH initial du milieu de culture devrait être stabilisé à des valeurs différentes selon le pouvoir de fermentation de la souche (soit entre 6,0-6,5 et 8,0). Enfin, la température optimum de croissance est de 36-37 °C pour la plupart des mycoplasmes.

1.2.3- Caractères biochimiques

1.2.3.1- Différenciation au sein du taxon *Mycoplasmataceae*

Les différents genres de *Mycoplasmataceae* isolés chez les animaux peuvent être différenciés grâce aux tests de sensibilité à la digitonine et de la digestion à l'urée. Les résultats des différents genres vis-à-vis de ces tests sont détaillés sur la figure 3. En pratique, au laboratoire, seul le test à la digitonine est réalisé.

Ce dernier test est réalisé en plaçant des disques de papier saturé à 1,5 % de digitonine sur le milieu de croissance avec les colonies à tester. Les zones d'inhibition de croissance autour du disque indiquent si la souche est sensible à la digitonine (la souche est sensible si la zone d'inhibition est supérieure à 2 mm) (TULLY, 1983).

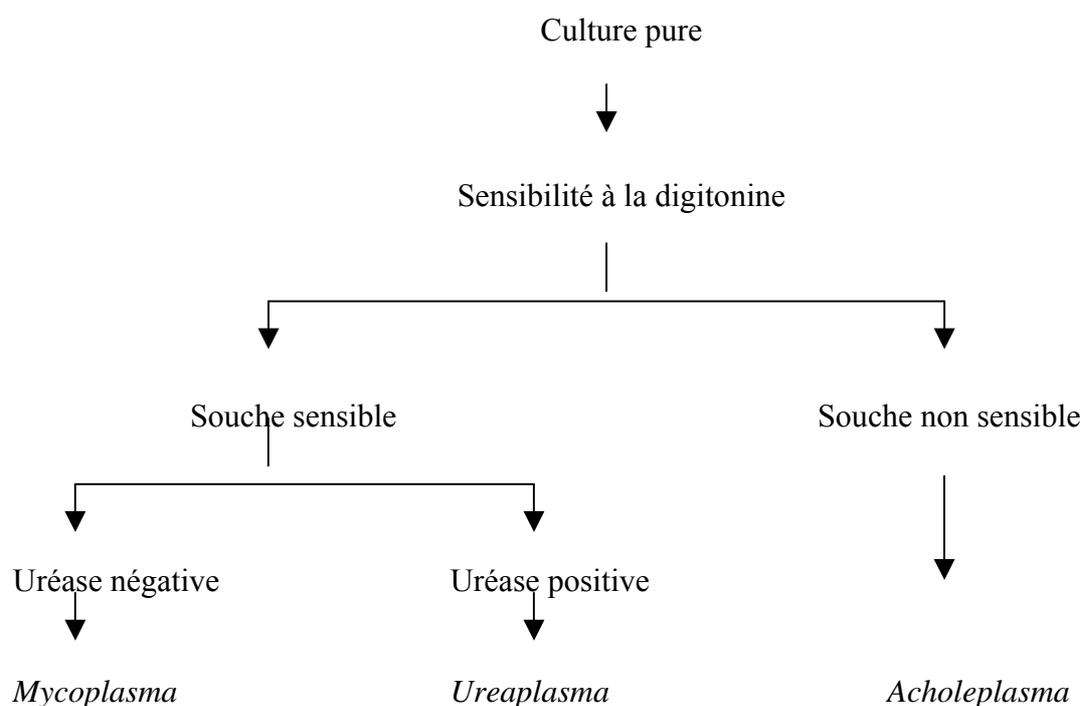


Figure 3 : Différenciation des genres de *Mycoplasmataceae* isolés chez les animaux (QUINN *et al.*, 1994)

Pour conclure, l'aspect des colonies et le test à la digitonine permettent d'aboutir chez les animaux au diagnostic de mycoplasmoses. D'autres tests sont alors nécessaires pour identifier l'espèce de mycoplasme.

1.2.3.2- Différenciation des espèces de mycoplasmes par les tests biochimiques

Il existe de nombreux tests biochimiques permettant de distinguer les différentes espèces de mycoplasmes, mais dans la pratique courante, seul quatre tests sont réalisés par les laboratoires : la formation de « films and spots », l'utilisation du glucose, de l'arginine, la recherche de la phosphatase.

La formation de « films and spots » correspond à l'apparition de formations cristallines, sous forme de taches ou de films autour des colonies, en milieu solide. On peut également observer un plissement de la gélose qui lui donne un aspect étoilé. Cette caractéristique est visible au bout de 4 jours sur les géloses et correspond à l'action d'une lipase sécrétée par le germe qui hydrolyse les lipides du milieu de culture. Au sein des mycoplasmes qui nous intéressent, seuls *M. putrefaciens* et *M. agalactiae* possèdent ce caractère.

Le test d'utilisation du glucose met en évidence la capacité de certains mycoplasmes à oxyder le glucose contenu dans le milieu de culture grâce à la présence d'une glucose oxydase. Il s'agit d'un test colorimétrique qui utilise la capacité du rouge de phénol à virer du rouge au jaune lors de l'acidification du milieu. Au sein des mycoplasmes qui nous intéressent, seuls *M. putrefaciens*, *M. capricolum* et *M. mycoides* possèdent ce caractère (RAZIN et CIRILLO, 1983).

Le test de réduction de l'arginine met en évidence la présence d'arginine décarboxylase. Tout comme le test précédent, il s'agit d'un test colorimétrique utilisant la capacité du rouge de phénol, à virer du rouge au mauve lors de l'alcalinisation du milieu de croissance. Au sein des mycoplasmes qui nous intéressent, seul *M. capricolum* peut parfois répondre positivement à ce test (BARILE, 1983).

La recherche de phosphatase s'effectue sur des cultures âgées d'au moins sept jours. La boîte de Pétri est inondée avec de la soude à 5 N et le résultat est positif si la phénolphthaleine du milieu (présente sous forme de diphosphate de sodium) vire au violet. Les quatre espèces de mycoplasmes nous intéressant possèdent ce caractère (BRADBURY, 1983).

Tous les résultats des différents mycoplasmes vis-à-vis de ces tests sont exposés dans le tableau II.

Tableau II : Caractéristiques biochimiques des principaux mycoplasmes retrouvés chez les caprins (ERNO *et al.*, 1978)

Mycoplasme	Test				
	Formation de film et spot	Glucose	Arginine	Phosphatase	Digestion du sérum
<i>M. agalactiae</i>	+	-	-	+	-
<i>Mcc</i>	-	+	+/-	+	+
<i>MmmLC</i>	-	+	-	+/-	+
<i>M. putrefaciens</i>	+	+	-	+	-

1.3- Structure antigénique et pouvoir immunogène

1.3.1- Structure antigénique

Malgré leur matériel génétique restreint, les mycoplasmes possèdent des mécanismes complexes leur permettant de changer les protéines de surface et d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. En effet, l'existence d'un système antigénique hypervariable (SAHs) a pu être démontrée chez une dizaine d'espèces de mycoplasmes dont *M. agalactiae* et est suspectée chez les autres espèces. Il peut globalement être divisé en deux classes : les lipoprotéines et les protéines non liées aux lipides. Il s'agit de protéines très immunogènes, majoritaires à la surface de la membrane et directement exposées à l'interface hôte-microorganisme. Les caractéristiques de variabilité des SAHs au sein de l'hôte, en cours d'infection, et leur rôle exact sont encore très mal connus. Ces variations ont pu être montrées *in vitro* (LEVISOHN *et al.*, 1995 ; DROESSE *et al.*, 1995 ; SOLSONA *et al.*, 1996).

Les mycoplasmes possèdent plusieurs possibilités pour modifier ces antigènes de surface : familles multigéniques, répétition de morceaux d'ADN, réarrangement, inversion dans l'ADN. Ces diverses modalités sont étroitement liées. En effet, les réarrangements de brins d'ADN contrôlent souvent les familles multigéniques alors que les séquences répétées facilitent le réarrangement de l'ADN dans les régions homologues et sont responsables de la différence de taille des protéines de surface (RUFFIN, 2001).

1.3.2- Pouvoir immunogène

A cause de leur système de variabilité antigénique, les mycoplasmes sont peu immunogènes et la réponse immunitaire induite est souvent inefficace. D'autres hypothèses ont été avancées. En effet, la membrane des mycoplasmes serait capable d'adsorber et de présenter des protéines sériques, particulièrement des IgG, et le germe pourrait, là encore, échapper à la réponse immunitaire.

Des essais expérimentaux sur la réponse immunitaire engendrée lors d'inoculation par différentes voies de *M. agalactiae* ont montré que les animaux inoculés par voie intramammaire présentent une augmentation importante du taux d'anticorps et semblent ne manifester que des signes cliniques légers alors que les animaux inoculés par voie sous-cutanée présentent des signes cliniques sévères et leur taux d'anticorps n'est pas suffisant pour les protéger contre ces signes (HASSO et AL-OMRAN, 1994). D'autres essais sur l'inoculation expérimentale par voie intramammaire de différentes souches plus ou moins pathogènes de *M. agalactiae* ont été menés sur des brebis. Ils ont mis en évidence que le taux d'anticorps est plus élevé sur les animaux inoculés avec des souches peu pathogènes alors que certaines brebis inoculées avec des souches très pathogènes peuvent ne développer aucun anticorps (SANCHIS *et al.*, 2000).

Néanmoins, lors d'une réinfection expérimentale ultérieure (un an après la première) sur des animaux inoculés à chaque fois par voie intramammaire avec *M. capricolum*, ces derniers présentent des signes cliniques moins sévères, plus courts et la quantité de mycoplasmes excrétée dans le lait est plus faible (BROOKS *et al.*, 1981).

Les mycoplasmes peuvent également générer une réponse immunitaire de l'hôte en activant les lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules phagocytaires mononucléées. Certains composants bactériens peuvent agir en tant que super-antigène, stimuler les cellules présentatrices des antigènes et activer les lymphocytes T de façon oligoclonale. Enfin, tous les mycoplasmes peuvent activer les macrophages et peuvent induire la production de cytokines (RAZIN et JACOBS, 1992 cités par RUFFIN, 2001).

1.4- Pouvoir pathogène

Les mécanismes complexes du pouvoir pathogène de certains mycoplasmes (notamment ceux retrouvés chez l'homme) ne sont que partiellement connus.

Malheureusement, peu d'études portent sur les mycoplasmes retrouvés chez les caprins et nous nous baserons donc sur les résultats trouvés avec les autres espèces de mycoplasmes.

Il semble que deux grands types de mécanismes interviennent dans la pathogénie des infections à mycoplasme :

- Des lésions directes provoquées de diverses manières par le micro-organisme.
- Des lésions indirectes dues à des mécanismes immuno-pathologiques.

1.4.1- Pouvoir d'adhésion

La plupart des mycoplasmes des animaux et de l'homme sont retrouvés adhérant à la surface de cellules épithéliales. Les mycoplasmes pathogènes possèdent des protéines spécifiques d'adhésion : les adhésines. Par exemple, *M. pneumoniae* possède un système complexe d'adhésines (majeures et accessoires). Cette adhérence utilise des récepteurs cellulaires appelés des sialoglycoconjugués (KRAUSE, 1996 ; RAZIN, 1985).

1.4.2- Effets cytopathique et toxinique

L'effet cytopathique touche essentiellement les cellules épithéliales. Par exemple, il a été décrit que *M. pneumoniae* pouvait adhérer aux cellules du tractus respiratoire et être ainsi à l'origine d'un arrêt du mouvement ciliaire et de la production de peroxydes et superoxydes provoquant des lésions d'oxydation sur les cellules (BEBEAR *et al.*, 1996).

De plus, certains mycoplasmes ont la particularité de produire des substances organotropes pouvant intervenir dans leur pouvoir pathogène. Par exemple, un polysaccharide endothéliocytopathique a été découvert chez *M. bovis*. Son rôle dans le pouvoir pathogène est encore mal connu, mais des vaches inoculées uniquement avec cette toxine polysaccharidique par voie intramammaire développent une mammite éosinophilique (GEARY *et al.*, 1981). Etant donné la proximité de *M. bovis* et de *M. agalactiae* sur les plans lésionnel, biochimique, immunologique et génomique (BOCKISCH *et al.*, 1991), il est probable que *M. agalactiae* possède lui aussi une toxine semblable. D'autres substances ont également pu être isolées, telles que des toxines neuroactives chez *M. neurolyticum* et *M. gallisepticum* et une galactane pneumotrope chez *M. mycoides* subsp. *mycoides* (MATTSON *et al.*, 1994).

1.4.3- Pouvoir invasif

Peu d'études ont réellement été menées sur le pouvoir invasif des mycoplasmes responsables du syndrome d'agalactie contagieuse. Néanmoins, les seuls éléments dont nous disposons sont que les voies d'inoculation les plus efficaces pour la dissémination du germe sont par ordre décroissant : la voie sous-cutanée, la voie galactophore, la voie intra-veineuse, la voie orale et enfin la voie respiratoire (BERGONIER, 1992 ; HASSO *et al.*, 1993 ; FOGGIE *et al.*, 1991 ; HASSO *et al.*, 1991).

Seules des études sur certains mycoplasmes humains (*M. penetrans*, *M. fermentans*, *M. genitalium*) ont permis de mettre en évidence que ces espèces pénétraient à l'intérieur des cellules épithéliales et s'y multipliaient lentement. Cette observation expliquerait la longue persistance des mycoplasmes et le caractère chronique des infections (BEBEAR *et al.*, 1996).

1.5- Résistance

Bien que dépourvus de paroi, les mycoplasmes sont assez peu sensibles aux variations de pression osmotique et aux variations de températures, en particulier si les conditions de pH et d'apport en nutriments sont idéales (SMITH, 1971). Ils peuvent en revanche être sensibles aux effets des radiations UV et X.

Les caractères de résistance spécifiques à chacun des mycoplasmes ne sont pas connus avec précision. Il semblerait que *M. agalactiae* puisse survivre longtemps dans les fèces, l'eau et la litière, mais aucune valeur chiffrée n'existe. Par contre, le germe peut survivre 4 mois à 8°C et 9 mois à -10°C/-20°C dans le lait d'animaux infectés (ZAVAGLI, 1951).

La résistance de *M. bovis* est mieux connue. Le temps de survie sur des supports inorganiques varie de 1 à 8 jours alors que le temps de survie dans du fumier est voisin de 37 jours (237 jours au maximum) (JASPER, 1981).

Par contre, les mycoplasmes sont tués lors de la thermisation du lait (30 minutes à 56°C) et cette mesure peut être proposée aux éleveurs pour limiter la transmission aux jeunes (LAMBERT, 1987).

2- Epidémiologie

2.1- Epidémiologie descriptive

Les mycoplasmoses caprines (avec entre autres le syndrome agalactie contagieuse) connaissent aujourd'hui une répartition mondiale très large (voir figure 4). Elles sont décrites dans au moins cinquante cinq pays répartis sur les cinq continents. Le bassin méditerranéen, au sens large, est la zone où la maladie est la plus anciennement décrite (description de l'agalactie contagieuse par BRUSASCO en 1871) et est particulièrement touchée. La répartition des différentes espèces de mycoplasmes semble avoir été modifiée depuis le début des années 1970 et la fréquence des infections à *M. mycoides* subsp. *mycoides* et *M. capricolum* semble augmenter dans certaines régions du globe, y compris en France.



Figure 4 : Répartition mondiale des mycoplasmoses caprines (BERGONIER et POUMARAT, 1996)

A l'échelon mondial, *M. agalactiae* constitue probablement la dominante étiologique chez les ovins, tandis que les caprins sont principalement infectés par *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC et *M. agalactiae*, mais l'incidence réelle des affections à *M. capricolum* et à *M. putrefaciens* reste encore à préciser (BERGONIER et POUMARAT, 1996).

En France (figure 5), seules les Pyrénées-Atlantiques et la Savoie constituent des régions d'enzootie à *M. agalactiae* probablement anciennes, où l'infection est actuellement circonscrite à quelques vallées et quelques estives. Des foyers sporadiques sont par ailleurs régulièrement observés dans des zones très diverses des régions d'élevages ovins ou caprins. *M. putrefaciens* a également été isolé dans plusieurs troupeaux malades et son importance semble augmenter (BERGONIER *et al.*, 1996-1997).

Des études similaires à la nôtre ont déjà été effectuées dans les Deux-Sèvres, en Savoie et en Haute-Savoie. Dans les Deux-Sèvres, il a été montré qu'environ 23 % des élevages excrétaient des mycoplasmes dans le lait et que l'espèce dominante de mycoplasme retrouvée par bactériologie était *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC, puis *M. putrefaciens*, *M. capricolum capricolum* et enfin *M. agalactiae* (PICHOT, 2001). Des études sérologiques réalisées en Savoie ont montré que la distribution des titres sérologiques était très étendue avec néanmoins un pic de sérums compris entre 0 et 30 U (HUGON, 1991) ce qui tendait à montrer que ce département était infecté par *M. agalactiae*. En ce qui concerne le département des Deux-Sèvres, la distribution des titres sérologiques est peu étendue pour *M. capricolum capricolum* et *M. agalactiae* suggérant que le département est peu infecté par ces deux mycoplasmes. En revanche, elle est beaucoup plus étalée pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC et *M. putrefaciens* suggérant que le département est nettement plus contaminé par ces deux mycoplasmes.

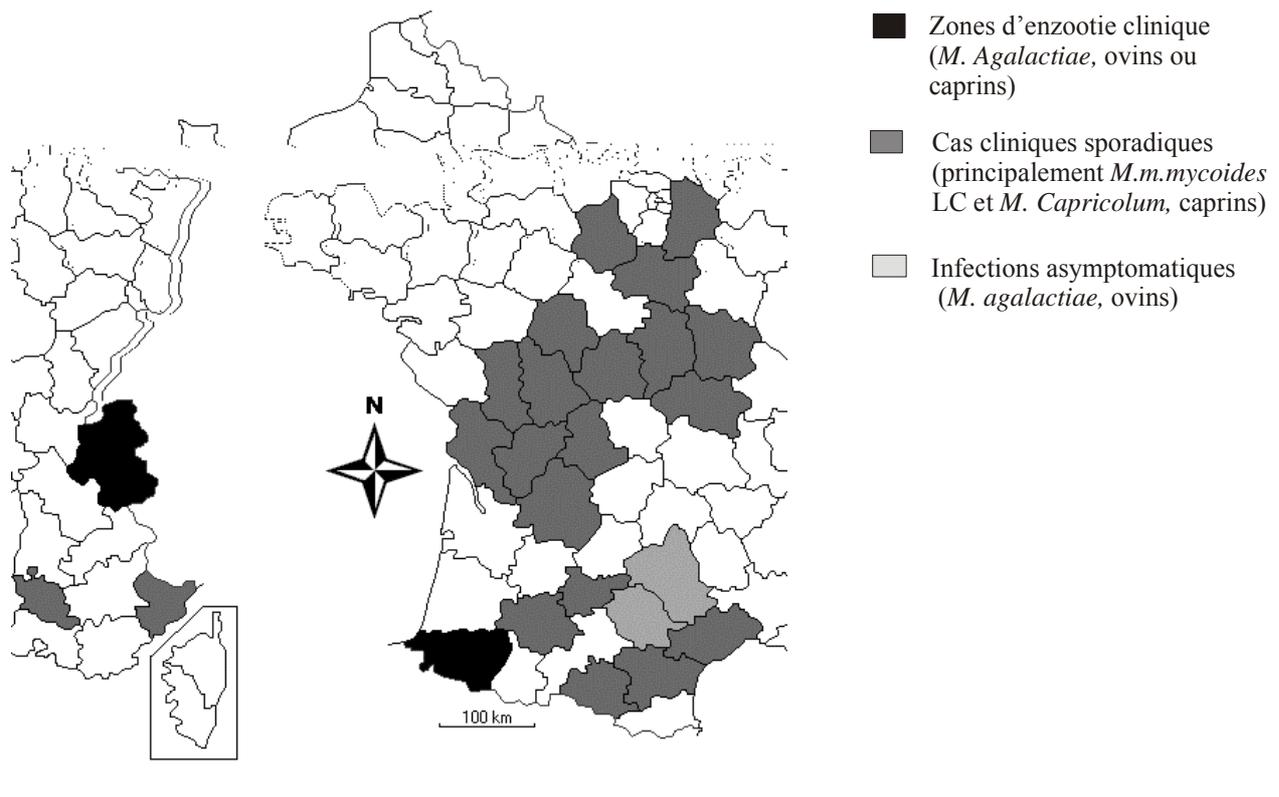


Figure 5: Répartition géographique des mycoplasmoses en France (BERGONIER et al., 1996-1997)

2.2- Epidémiologie analytique

2.2.1- Voies d'excrétion des mycoplasmes

2.2.1.1- Excrétion consécutive à une maladie clinique

Chez les animaux atteints d'agalactie contagieuse, la principale voie d'excrétion des mycoplasmes semble être la voie galactophore (HASSO *et al.*, 1993). L'excrétion débute avant les signes cliniques, augmente dans les premières semaines et peut atteindre des pics de 10^8 mycoplasmes par ml (LAMBERT, 1987). Lors d'une atteinte pulmonaire, les sécrétions respiratoires peuvent aussi être une voie d'excrétion (THIAUCOURT et BOLSKE, 1996).

Lorsque l'infestation est massive, des mycoplasmes peuvent être retrouvés dans les liquides lacrymal et nasal (SANCHIS *et al.*, 1998), mais aussi dans les fèces et l'urine (DA MASSA *et al.*, 1983 et 1986). Enfin, certains auteurs ont isolé *M. capricolum* du sperme de taureau (BREARD et POUMARAT, 1988).

Après un épisode clinique, les mycoplasmes peuvent rester en latence dans les nœuds lymphatiques (notamment les rétro-mammaires) pendant plus d'une année et ces animaux sont susceptibles de réexcréter les mycoplasmes lors de la lactation suivante et de contaminer les autres animaux (BERGONIER, 1992).

2.2.1.2- Portage des mycoplasmes

Le conduit auditif externe des chèvres peut être l'habitat de nombreuses espèces de mycoplasmes, dont les quatre espèces de mycoplasmes responsables de l'agalactie contagieuse, dans l'ordre de fréquence décroissant suivant : *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC, *M. capricolum*, *M. putrefaciens* et *M. agalactiae*. Lors d'un épisode clinique, le mycoplasme retrouvé dans l'oreille est souvent le même que celui isolé dans les organes (GIL *et al.*, 1999 ; HAZELL *et al.*, 1985) et certains auteurs pensent que la colonisation de l'oreille peut faire suite à une bactériémie ou qu'elle peut se faire par l'intermédiaire de petits acariens auriculaires hématophages (*Psoroptes cuniculi* et *Railletia caprae*) hébergeant ces mêmes mycoplasmes (DA MASSA *et al.*, 1987 ; DA MASSA et BROOKS, 1991).

Certaines études ont d'ailleurs montré que l'écouvillon auriculaire pouvait être le prélèvement de choix pour réaliser un isolement de mycoplasmes sur un animal apparemment sain (DA MASSA, 1990).

2.2.2- Mécanismes de contamination

2.2.2.1- Voies de pénétration

Les trois premières voies présentées sont les principales voies de contamination des animaux dans les conditions naturelles. Les autres voies ne sont que des voies secondaires.

2.2.2.1.1- Voie orale

Lors d'un épisode d'agalactie contagieuse, les chevreaux sous la mère font partie des animaux les plus contaminés, conséquence d'une invasion par les germes présents dans le colostrum ou le lait (DA MASSA *et al.*, 1987).

Expérimentalement, des chevreaux ou des agneaux nourris avec du lait ou du colostrum infectés par *M. capricolum* ou *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC sont rapidement malades et peuvent mourir (TAOUDI *et al.*, 1987).

A l'inverse, les adultes non gravides inoculés oralement ne développent qu'une infection asymptomatique caractérisée par des selles teintées de sang durant deux semaines et un testicule de taille augmentée chez le bouc. Chez ces animaux, le mycoplasme a pu être isolé dans les échantillons de fèces, de sang et de liquide nasal sur les animaux vivants, et à partir du sang et du testicule à l'autopsie (HASSO *et al.*, 1993 et 1994).

2.2.2.1.2- Voie respiratoire

L'importance réelle de cette voie de contamination est difficile à évaluer dans les conditions naturelles. Il semble que les animaux peuvent se contaminer par cette voie lors de contact étroit ou lors de la tétée chez les jeunes, à l'origine de la formation de gouttelettes de lait contaminé que les animaux inhalent.

De plus, des essais d'inoculation de *M. capricolum* et *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC par voie trans-trachéale provoquent, en outre, de graves symptômes respiratoires (TAOUDI *et al.*, 1987 ; NAYAK et BHOWMIK, 1991 ; OJO, 1976 ; ROSENDAL, 1983, RODRIGUEZ *et al.*, 1999).

2.2.2.1.3- Voie mammaire

La voie mammaire peut être considérée comme la principale voie de contamination chez les femelles traites. En effet, la pression microbienne exercée sur les sphincters des trayons lors de la traite mécanique conduit à des infections ascendantes. Ce phénomène est amplifié par les erreurs de techniques de traite, un mauvais fonctionnement ou un problème de nettoyage de la machine à traire (traite humide ou phénomène d'impact) (DA MASSA *et al.*, 1987 et 1992 ; KINDE *et al.*, 1984 ; MERCIER *et al.*, 2000).

La contamination par voie diathélique par les différentes espèces de mycoplasmes pathogènes a été reproduite de nombreuses fois expérimentalement, provoquant une mammité voire une infection généralisée (TAOUDI *et al.*, 1987 ; SANCHIS *et al.*, 2000).

Cette voie de contamination est la voie la plus utilisée comme modèle expérimental lors de l'étude de la pathogénicité ou d'efficacité thérapeutique.

2.2.2.1.4- Voie oculaire

Dans les troupeaux infectés, les animaux peuvent être contaminés par voie oculaire suite aux contacts étroits entre animaux, à l'instillation d'aérosols infectieux, de poussières ou de particules alimentaires contaminées.

Des essais expérimentaux d'inoculation de *M. agalactiae* par voie sous-conjonctivale ont été menés par SANCHIS *et al.* en 1998. L'infection reste quasi-asymptomatique mais, par contre, les nœuds lymphatiques drainant le site d'inoculation sont colonisés plus ou moins rapidement selon la dose de mycoplasmes inoculée, ainsi que d'autres nœuds lymphatiques et la rate. L'infection peut persister longtemps puisque les nœuds lymphatiques céphaliques sont encore infectés 60 jours post-inoculation.

2.2.2.1.5- Voie génitale

La contamination par cette voie ne doit concerner que les formes atypiques génitales (LAMBERT, 1987). Il faut cependant préciser que certains auteurs ont isolé des mycoplasmes du sperme de taureaux de centre d'insémination artificielle et que l'existence d'une contamination durant la saillie ne peut être exclue (BREARD et POUMARAT, 1988).

2.2.2.1.6- Autres voies

Dans les conditions naturelles, certaines voies de pénétration telles que les voies sous-cutanée et intra-dermique peuvent intervenir de façon anecdotique dans la dissémination de la maladie à l'occasion de la tonte ou lors d'écorchures. Il semblerait également que certains acariens auriculaires hématophages (en particulier *Raillietia caprae*) pourraient jouer le rôle de vecteur et favoriser la transmission des mycoplasmes au sein du troupeau (DA MASSA *et al.*, 1987).

En revanche, ces voies (intra-musculaire, intra-veineuse, intra-articulaire, sous-cutanée...) sont très utiles pour les divers essais expérimentaux car elles sont très faciles à mettre en œuvre (HASSO *et al.*, 1993 et 1994 ; RODRIGUEZ *et al.*, 1999...)

2.2.2.2- Modalités de transmission

2.2.2.2.1- Transmission verticale

La transmission *in-utero* de la mère au fœtus est fortement suspectée. En effet, lors d'avortements naturels chez des caprins, *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC et *M. capricolum* peuvent être isolés à partir de divers organes de l'avorton : articulations, poumon et sang cardiaque (RODRIGUEZ *et al.*, 1996a). Les avortements constatés lors d'infection dépendent de l'état septicémique de l'animal qui est à l'origine de l'atteinte du placenta (TAINTURIER *et al.*, 1997).

La transmission *per-partum* ne peut également être exclue compte tenu des infections vaginales qui peuvent exister (COTTEW *et al.*, 1974).

Mais l'atteinte des jeunes par le biais de ces voies n'est pas systématique puisque des jeunes séparés à la naissance et nourris avec du colostrum et du lait thermisé à 56 °C pendant une heure ne développent pas la maladie (CEC, 1985). En effet, la contamination majeure des jeunes se fait par le biais de la tétée (DA MASSA *et al.*, 1982, 1987 et 1992).

2.2.2.2.2- Transmission horizontale

La transmission horizontale directe au sein de l'élevage à partir d'animaux excréteurs est difficile à différencier avec la transmission par le biais du milieu extérieur, mais est réelle. En effet, des animaux mis en contact avec les animaux inoculés peuvent avorter, développer la maladie voire succomber (HASSO *et al.*, 1993 ; DA MASSA *et al.*, 1983, COTTEW *et al.*, 1974).

La transmission horizontale indirecte peut revêtir plusieurs formes :

- Le rôle de la traite dans la contamination des femelles en lactation est majeur et découle de l'importance de l'excrétion galactophore, du tropisme des mycoplasmes étudiés vis-à-vis de la mamelle et de la fragilisation des défenses du trayon (le sphincter) lors de la traite. Tout dysfonctionnement de la machine à traire, de son nettoyage et de la technique de traite peut amplifier cette transmission au sein du troupeau en lactation (MERCIER *et al.*, 2000 ; DA MASSA *et al.*, 1992 ; KINDE *et al.*, 1994).
- L'hypothèse d'une transmission vectorielle par le biais d'arthropodes hématophages (*Raillietia caprae*) colonisant les conduits auditifs des caprins est soulevée, mais cette

hypothèse reste à démontrer (DA MASSA et BROOKS, 1991 ; NAYAK et BHOWMIK, 1990).

2.2.3- Facteurs de susceptibilité

2.2.3.1- Facteurs liés à l'animal

2.2.3.1.1- Espèce

Une certaine spécificité des mycoplasmes vis-à-vis de leur espèce hôte existe, mais elle peut être discutée compte tenu de certaines observations. En effet, plusieurs mycoplasmes des petits ruminants (*M. capricolum* et *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC) ont pu être isolés chez des bovins alors que certains mycoplasmes bovins (certaines souches de *M. bovis*) ont pu être isolés chez les caprins (COTTEW et YEATS, 1978 ; ERNO *et al.*, 1978 ; ROSENDAL, 1981 ; BREARD et POUMARAT, 1988).

2.2.3.1.2- Age

Dans les conditions naturelles, les jeunes animaux sont les plus gravement atteints. Expérimentalement, l'inoculation par diverses voies aboutit plus souvent chez les jeunes que chez les adultes à un état de bactériémie évoluant vers un tableau clinique très sévère (TAOUDI *et al.*, 1987).

2.2.3.1.3- Sexe et stade physiologique

Généralement, les mâles adultes et les femelles tarées non gestantes expriment moins la maladie naturelle que les femelles gravides ou en lactation (ZAVAGLI, 1951).

La gestation et la mise-bas sont des facteurs de stress pour les caprins qui peuvent exacerber l'infection lors de primo-infection ou provoquer une réexcrétion de germes lors de portage (HASSO *et al.*, 1993).

2.2.3.1.4- Statut immunitaire

L'immunité qui se développe après une primo-infection permet de protéger en partie les animaux lors d'une éventuelle réinfection ou réexcrétion et est à l'origine d'une atténuation des signes cliniques (MERCIER *et al.*, 2000).

2.2.3.2- Facteurs liés à l'environnement

2.2.3.2.1- Facteurs zootechniques

Le mode général d'élevage est important à prendre en compte dans l'épidémiologie des mycoplasmoses. Outre la technique de traite déjà évoquée, le logement (conception, ambiance, hygiène) ou l'existence d'un surpeuplement sont des facteurs importants notamment en cas d'atteinte respiratoire (DA MASSA *et al.*, 1987)

2.2.3.2.2- Facteurs climatiques

Divers stress environnementaux peuvent favoriser le développement de l'infection telles de brusques variations climatiques et/ou une tonte trop précoce des brebis ou des chèvres angoras (NAYAK et BHOWMIK, 1990). Les caprins semblent plus sensibles à ces facteurs que les ovins (DA MASSA *et al.*, 1987).

3- Etude clinique des mycoplasmoses

Les différentes espèces de mycoplasmes ont des tropismes variés et plus ou moins marqués suivant l'espèce de mycoplasme en cause. Nous étudierons successivement la pathogénie, puis les différentes atteintes cliniques possibles et enfin le diagnostic différentiel.

3.1- Pathogénie

Les mycoplasmoses chez les petits ruminants s'établissent en deux temps : tout d'abord une phase de septicémie puis une phase de localisation.

La phase de septicémie a été décrite dans de nombreuses études dont les premières datent de 1951 (ZAVAGLI). En effet, une hyperthermie modérée était observé en début de

phase septicémique environ 24 h après inoculation par voie sous-cutanée. D'autres études sur l'inoculation par voie orale de *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC à des chevreaux ont mis en évidence que la bactérie peut être isolée du sang 24 h après inoculation (DA MASSA *et al.*, 1986).

L'apparition de cette phase de septicémie est plus ou moins rapide et ce délai fluctue suivant la quantité de mycoplasmes inoculée, la voie d'administration, la virulence de la souche et le statut des animaux inoculés. Par exemple, l'inoculation intra-trachéale d'une souche canadienne sur des chevreaux âgés de deux à six mois induit l'apparition de symptômes similaires deux jours après l'inoculation (ROSENDAL, 1983).

La phase de localisation fait suite à la phase de septicémie. ZAVAGLI, en 1951, a étudié la colonisation des organes après inoculation de *M. agalactiae* à des brebis par voie sous-cutanée. Le premier organe touché est la mamelle (1 jour après inoculation) alors que les autres symptômes apparaissent vers le cinquième jour après inoculation. Il est également possible d'isoler des mycoplasmes dans les ganglions rétro-mammaires, la rate, le foie et les yeux dès la deuxième journée après inoculation.

3.2- Atteintes majeures

3.2.1- Atteintes respiratoires

3.2.1.1- Symptômes

Les principaux mycoplasmes à tropisme pulmonaire sont *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC et *Mycoplasma capricolum*. Les jeunes caprins sont les animaux les plus sensibles à ce tropisme pulmonaire (THIGPEN *et al.*, 1981). Certains animaux peuvent manifester de la faiblesse, de l'apathie, de l'anorexie, de la dyspnée, de la toux et du jetage. D'autres ne peuvent manifester que de la faiblesse associée à des symptômes articulaires et c'est alors l'autopsie qui révèle l'ampleur des dégâts pulmonaires (BOLSKE *et al.*, 1988 ; LEGEE *et al.*, 1974). L'auscultation pulmonaire révèle chez certains animaux une augmentation des bruits pulmonaires à l'expiration et une fréquence respiratoire augmentée (EAST *et al.*, 1983).

3.2.1.2- Lésions

Les lobes apicaux et cardiaques sont les parties les plus atteintes du poumon et présentent des lésions de pneumonie aiguë, de pneumonie interstitielle diffuse, de broncho-pneumonie ou de pleuropneumonie fibrineuse. La cavité pleurale peut être remplie d'une quantité plus ou moins importante d'exsudat.

A l'histologie, les septums interalvéolaires sont élargis par la présence d'un œdème et par l'infiltration cellulaire (cellules inflammatoires mononucléées principalement). Il est également possible d'observer une hyperplasie lymphoïde péribronchique, une bronchiolite

Lorsque la mammite est chronique, les septums interlobulaires et le tissu interstitiel périacinaire sont fibrosés .

Le tissu lymphoïde des nœuds lymphatiques est hyperplasié et le sinus subscapulaire est infiltré par des macrophages (DA MASSA *et al.*, 1987 ; MISRI *et al.*, 1988).

3.2.3- Atteinte articulaire

3.2.3.1- Symptômes

Les arthrites sont retrouvées aussi bien chez les jeunes animaux que chez les adultes (GAILLARD-PERRIN *et al.*, 1985). Les articulations les plus souvent touchées sont les carpes et les articulations coxo-fémorales ; elles apparaissent chaudes, gonflées. L'animal peut présenter des difficultés à rester debout et l'on peut également observer une perte de poids, une toison en mauvaise état et de la diarrhée. D'autres symptômes non articulaires sur d'autres animaux du troupeau peuvent être associés (DA MASSA *et al.*, 1983 et 1987 ; RODRIGUEZ *et al.*, 1994 ; EAST *et al.*, 1983).

3.2.3.2- Lésions

Les articulations sont remplies de fibrine jaune-grise associée éventuellement à un épanchement (BOLSKE *et al.*, 1988 ; RODRIGUEZ *et al.*, 1994 ; EAST *et al.*, 1983). Le cartilage articulaire est hémorragique et détruit localement. La capsule articulaire est épaissie, enflammée et la membrane synoviale est proliférative.

A l'histologie, on observe une arthrite fibrineuse ou sérofibrineuse aiguë à subaiguë, une synovite, une bursite, une hyperhémie et un œdème de la capsule. Là aussi, on retrouve une infiltration importante de cellules mononucléées (notamment cellules lymphoïdes et macrophages) et polymorphes (DA MASSA *et al.*, 1983 ; BOLSKE *et al.*, 1988 ; EAST *et al.*, 1983).

3.3- Atteintes mineures

3.3.1- Atteinte oculaire

Des épidémies de kératoconjonctivites unilatérales ou bilatérales sur les animaux de toutes classes d'âges peuvent apparaître dans certains troupeaux, mais ces symptômes sont en général associés à d'autres formes cliniques présentes dans le troupeau. Ces lésions guérissent en 1 à 2 mois si l'œil n'est atteint que modérément, mais les animaux guéris peuvent rester porteur du germe. Lorsque l'atteinte de l'œil est trop importante, l'animal reste alors aveugle (BERGONNIER et POUMARAT, 1996 ; RODRIGUEZ et al., 1996b).

A l'histologie, la cornée montre une kératite érosive à ulcéralive ainsi qu'une abondante infiltration de neutrophiles marquant les zones de nécrose (RODRIGUEZ et al., 1996a et b ; ZAVAGLI, 1951).

3.3.2- Atteinte génitale

Dans des élevages caprins connus pour être atteints de mycoplasmoses, des mycoplasmes ont pu être isolés de cotylédons et de divers organes de fœtus avortés (articulations, poumon, cerveau et sang cardiaque). Malheureusement, pour ces avortements, il n'a pas été possible d'exclure la présence d'un autre agent pathogène responsable d'avortements (chlamydies, toxoplasmes) (RODRIGUEZ *et al.*, 1996a). Il a été possible de provoquer des avortements lors d'infection expérimentale intra-trachéale avec *M. capricolum capricolum*. L'utérus de cet animal présentait des foyers nécrotiques sur la surface des caroncules et des cotylédons nécrotiques et congestionnés. Seul le mycoplasme inoculé a pu être isolé du fœtus avorté. (RODRIGUEZ *et al.*, 1996a).

D'autres auteurs (DA MASSA *et al.*, 1987), ont décrit des avortements précoces et tardifs pour 80% des animaux. De plus, environ 30% des chevreaux nés avant terme meurent dans les deux jours qui suivent la mise-bas.

D'autres formes génitales sont décrites, telles que des vulvo-vaginites, notamment chez les brebis. Sur ces animaux la vulve est congestionnée, oedémateuse avec des croûtes sur la commissure inférieure ; la paroi vaginale est congestionnée et de l'exsudat jaunâtre se trouve dans le vagin. Des vésicules ou des plaques blanchâtres peuvent être présentes sur le plancher du vagin. Ces lésions peuvent être observées sur presque 7 % du troupeau (COTTEW *et al.*, 1974).

Il n'est pas exclu que les mycoplasmes aient une incidence sur l'appareil génital des mâles. En effet, il a été décrit que le pourcentage de spermatozoïdes correctement mobiles des taureaux positifs en *M. bovis* était significativement plus faible que pour les animaux sains (JURMANOVA et STERBOVA, 1977).

3.4- Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel des mycoplasmoses est surtout nécessaire lorsque l'on a affaire à des formes subaiguës ou chroniques. Chez les caprins, les principales maladies pouvant présenter des tableaux cliniques proches de ceux des mycoplasmoses sont décrites dans le tableau III.

Tableau III : Diagnostic différentiel des mycoplasmoses caprines (BERGONIER *et al.*, 1997)

Agent pathogène	Animaux atteints	Evolution	Symptômes majeurs	Autres symptômes	Diagnostic	Traitement
Mycoplasmes	Variable	Aiguë à chronique	Agalactie Lait modifié Arthrite Conjonctivite Pneumonies	Avortements Symptômes nerveux et génitaux	Bactériologie sur milieu spécifique	Antibiothérapie
CAEV	> 6 mois	Progressive	Pis de bois sur primipares Lait normal Arthrites Symptômes respiratoires, nerveux, génitaux		Sérologie et/ou histologie	Néant
Streptocoques	Variable	Aiguë à chronique	Induration Lait normal ou modifié Arthrites	Avortements	Bactériologie	Antibiothérapie
<i>Actinomyces pyogenes</i>	Adultes	Aiguë à chronique	Induration avec pus Lait normal ou modifié Arthrites		Bactériologie	Antibiothérapie
Staphylocoques	Jeunes	Aiguë à chronique	Sclérose Lait normal ou modifié	Arthrites Conjonctivites	Bactériologie	Antibiothérapie
Pasteurelles	Jeunes ou vieux	Aiguë à chronique	Pneumonies Arthrites	Induration quand septicémie Lait modifié	Bactériologie	Antibiothérapie
Chlamydies	Jeunes	Aiguë à chronique	Conjonctivite Avortements Symptômes génitaux		ELISA direct	Antibiothérapie

Les mycoplasmes nous intéressant ont donc un tropisme varié suivant l'espèce et une épidémiologie différente. Toutes ces données sont résumées dans le tableau IV.

Tableau IV : Récapitulatif de la pathogénie et des symptômes des mycoplasmes des petits ruminants (d'après BERGONIER et al., 1996-1997 ; MERCIER et al., 2000)

		<i>M. agalactiae</i>	<i>M. m.m. LC</i>	<i>M. capricolum</i>	<i>M. putrefaciens</i>
Espèces-hôtes		OV, CP	CP > OV	CP > OV	CP (> OV)
Formes cliniques dominantes	OV CP	Subaiguës à chroniques Aiguës à chroniques	Rares Suraiguës à subaiguës	Subaiguës à chroniques Suraiguës à subaiguës	Suraiguës à aiguës
Morbidité					
- adultes (HL)	OV, CP	0-20 %	5-40 %	3-40 %	
- femelles en lactation	OV CP	1-50 % 10-90 %	rare 20-90 %	rare 10-80 %	
- jeunes	OV CP	2-60 % 10-70 %	rare 20-95 %	rare 20-98 %	
Mortalité					
- adultes (HL)	OV, CP	0-3 %	0-20 %	0-20 %	
- femelles en lactation	OV CP	0-10 % 0-40 %	rare 3-50 %	rare 3-50 %	
- jeunes	OV CP	1-10 % 3-50 %	rare 10-95 %	rare 10-98 %	
Syndromes typiques					
- adultes (HL)		A > O >> R	A, R > O	A, R > O	A > R
- femelles en lactation		M >> A > O > Av > R	M, R, A > O, Av	A, R, M > O, Av A, O, R > N	M, A > Av >>R
- jeunes		R, A, O	A, R > O, N		A > R
Formes atypiques		R, G	G	G	

OV : ovins
 CP : caprins
 M : symptômes mammaires
 A : symptômes articulaires
 O : symptômes oculaires
 Av : avortements
 R : symptômes respiratoires
 G : symptômes génitaux (mâle et femelle)
 N : symptômes nerveux

4- Outils diagnostiques

4.1- Diagnostic bactériologique

4.1.1- Prélèvements

Lors d'une suspicion clinique de mycoplasmoses, l'isolement bactériologique sur les animaux malades peut être effectué à partir du lait, du liquide synovial, du cérumen, d'écouvillon oculaire ou du jetage nasal (RIBEIRO *et al.*, 1997 ; BROGDEN *et al.*, 1988 ; DA MASSA, 1983 et 1990).

Pour attester de la circulation des mycoplasmes au sein d'un troupeau présentant peu de signes cliniques, il est possible de réaliser un prélèvement de lait de tank. En effet, des études sur des troupeaux de brebis ont attesté de la sensibilité de cette méthode et il suffit qu'une ou deux brebis excrètent des mycoplasmes pour que le prélèvement du tank soit positif (BERGONIER *et al.*, 1997).

Lors d'autopsies, l'isolement peut se faire à partir de la mamelle, des ganglions rétromammaires, des articulations, du poumon et d'autres organes en cas de septicémie.

Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire le plus rapidement possible, sous emballage isotherme voire réfrigéré. Les prélèvements peuvent se conserver plusieurs jours à 4°C et plusieurs semaines à – 20°C (CLYDE et SENTERFIT, 1985).

4.1.2- Isolement

D'après FREUNDT (1983), les divers prélèvements réalisés sont mis en culture sur des milieux riches contenant :

- Du bouillon de cœur de bœuf infusé, base de tout milieu de croissance pour mycoplasme.
- Des extraits de levures fraîches, source d'acides nucléiques et de vitamine B.
- Du sérum de cheval, source d'acides gras et de cholestérol indispensables à la synthèse des membranes des mycoplasmes.
- Du glucose et de l'arginine pour permettre la croissance des espèces catabolisants ces deux nutriments.
- De l'acide désoxyribonucléique stimulant la croissance des mycoplasmes.
- Des facteurs de croissance (L- cystéine, NADH et vitamines).

- Des bactériostatiques (en général pénicilline et acétate de thallium) pour limiter la prolifération des autres bactéries.

Les milieux doivent avoir un pH proche de 7,8 car la croissance des mycoplasmes est inhibée lorsque le pH est inférieur à 6,8. La composition exacte d'un des milieux les plus couramment utilisés est décrite dans le tableau V.

Tableau V : Composition du milieu de culture spécifique des mycoplasmes
(FREUNDT, 1983)

<i>Milieu solide</i>		<i>Milieu liquide</i>	
<i>Bouillon de cœur infusé</i>	3,7 g	<i>Bouillon de cœur infusé</i>	3,7 g
<i>Extrait de levures</i>	0,5 g	<i>Extrait de levures</i>	0,5 g
<i>Agar purifié</i>	1,4 g	<i>Eau distillée q.s.p.</i>	100,0 ml
<i>Eau distillée q.s.p.</i>	100,0 ml		
Stérilisation à l'autoclave (121 °C pendant 20 minutes)			
Ajout aseptique de :			
<i>Sérum de cheval</i>	20,0 ml		
<i>Extrait de levures fraîches, solution à 25 %</i>	10,0 ml		
<i>ADN, solution à 0,2 %</i>	1,2 ml		
<i>Glucose, solution à 50 %</i>	2,0 ml		
<i>Acétate de thallium, solution à 1 %</i>	1,0 ml		
<i>Benzylpenicilline, 20 000 UI/ml</i>	0,25 ml		
pH ajusté à 7,8			

Chaque prélèvement est ensemencé en milieu liquide et solide. Pour l'isolement en milieu liquide, il est vivement recommandé de pratiquer 4 ou 5 dilutions décimales du prélèvement afin de réduire les éventuels contaminants et les inhibiteurs de croissance. Les milieux solides sont ensemencés directement à partir du prélèvement ou après une phase d'enrichissement en bouillon (BERGONIER et POUMARAT, 1996).

Les milieux sont ensuite incubés à 37°C, en atmosphère humide et en anaérobiose pendant 4 jours. La lecture des milieux est réalisée tous les jours (LAMBERT, 1987).

4.1.3- Identification

4.1.3.1- Morphologie

Les croissances obtenues en milieu liquide diffèrent de celles des autres bactéries et le degré de turbidité n'est pas le même.

Les colonies obtenues sur gélose sont observées à la loupe binoculaire afin de rechercher l'aspect caractéristique des colonies en forme « d'œuf sur le plat » (CLYDE et SENTERFIT, 1985). Si le point central n'apparaît pas, il suffit de décoller la colonie de la surface de la gélose à l'aide d'une pipette pasteur et de visualiser l'empreinte concave de la colonie sur la gélose.

Des colonies de morphologies différentes sont ensuite repiquées et clonées. Finalement, seules deux colonies seront soumises aux tests biochimiques et à l'inhibition de croissance (*cf. infra*).

4.1.3.2- Tests biochimiques

Divers tests sont ensuite réalisés pour caractériser les colonies faisant appel aux caractéristiques biochimiques précédemment citées (sensibilité à la digitonine, formation de « film and spots », utilisation du glucose ou de l'arginine, recherche de phosphatase).

4.1.3.3- Inhibition de croissance

Ce test repose sur l'inhibition de la croissance des colonies sur milieu gélosé en testant la souche à identifier avec des sérums hyperimmuns obtenus sur des lapins.

Le principe de ce test consiste à mettre en œuvre un antigène (la souche à tester) avec des anticorps spécifiques, préalablement sélectionnés en fonction des caractéristiques biochimiques de la souche. En présence de l'anticorps spécifique, il se forme un complexe antigène-anticorps et la croissance du mycoplasme est inhibée autour du puits dans lequel le sérum a été déposé. La souche inconnue peut être testée simultanément vis-à-vis de plusieurs sérums (CLYDE, 1983).

Malheureusement cette méthode est longue à réaliser (temps de croissance) et elle est peu sensible (LAMBERT, 1987). Par contre, elle est facile à mettre en œuvre, économique et assez spécifique (il existe tout de même des réactions croisées entre *M. capricolum* et

M. mycoides) et elle est systématiquement réalisée au laboratoire en parallèle avec les tests biochimiques pour définir l'espèce de mycoplasme retrouvée dans le prélèvement (CLYDE, 1983).

4.1.3.4- Immuno-adsorption sur filtre (MF dot)

Il s'agit d'une méthode simple permettant l'identification des souches de mycoplasme à partir de bouillons de culture. Les mycoplasmes du bouillon sont piégés à la surface d'une membrane à faible affinité en protéine par filtration sous vide. Un sérum polyclonal spécifique anti-mycoplasme est alors ajouté afin de permettre la formation des complexes mycoplasme-anticorps qui seront ultérieurement révélés par une anti-immunoglobuline conjuguée à une enzyme. La réaction est positive lorsqu'il se produit un virage au rouge du filtre lors de l'ajout de ce dernier substrat. Ce test a l'avantage d'être simple, rapide (2 ou 3 heures), standardisé et sa sensibilité est correcte. Il permet également la gestion de plusieurs échantillons simultanément (POUMARAT *et al.*, 1991). Malheureusement, il existe de nombreuses réactions croisées entre *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC et *M. capricolum capricolum* (BERGONIER ET POUMARAT, 1996).

4.1.3.5- L'immunofluorescence

Il s'agit d'une méthode rapide (2 heures), économique car elle utilise peu d'anti-sérum, facile à réaliser et à interpréter. Elle permet d'identifier les colonies de mycoplasmes poussant sur gélose. Le test est standardisé grâce à la réalisation de contrôles et pour éviter des faux négatifs, il est conseillé d'utiliser un milieu pauvre en anti-sérum si possible. Ce test constitue une des meilleures manières d'identifier les mycoplasmes (LAMBERT, 1987).

4.1.5- Limites du diagnostic bactériologique

L'examen bactériologique présente de nombreux inconvénients. Tout d'abord, la durée d'un examen bactériologique complet (isolement et identification) est actuellement de quinze jours à trois semaines et le tarif est d'environ 40 euros au laboratoire de l'AFSSA de Niort (trop long et trop cher pour un examen de dépistage dans le cadre de plans sanitaires). Ensuite, l'excrétion des mycoplasmes dans le lait est intermittente, on peut donc obtenir des animaux cliniquement atteints non excréteurs au moment du prélèvement qui sortiront

négatifs. A l'inverse, certains animaux peuvent excréter des mycoplasmes sans présenter de symptômes (BERGONIER, 1992).

Pour palier ces défauts, d'autres outils de diagnostic ont été développés pour les plans sanitaires, mais la méthode bactériologique reste l'outil principal pour la confirmation d'une suspicion clinique.

4.2- Diagnostic sérologique

Deux techniques sérologiques ont été développées pour le diagnostic des mycoplasmoses : la réaction de fixation du complément, qui fut la première technique développée et qui actuellement n'est plus utilisée, et la technique ELISA.

4.2.1- Réaction de fixation du complément

Cette méthode a longtemps été l'examen sérologique de référence pour le dépistage des mycoplasmoses avant la mise au point de la technique ELISA.

Il s'agit d'un micro-test sur plaque à fixation lente à froid utilisant un mélange d'hématies de mouton à 3 % et d'un sérum hémolytique dilué à 1 pour 1 000 (LE GOFF et PERREAU, 1984 ; PERREAU *et al.*, 1976).

Les titres sérologiques obtenus permettent de connaître le statut du troupeau selon le classement mis au point par LE GOFF et PERREAU (1984).

Les résultats de cette méthode restent très aléatoires suivant le laboratoire ou le technicien effectuant l'analyse, c'est pourquoi d'autres techniques sérologiques ont été développées.

4.2.2- Technique ELISA

En France, cette technique a été développée par LAMBERT et CABASSE (1987) et a été utilisée en routine pour les diagnostics sérologiques notamment pour les plans sanitaires réalisés en Pyrénées-Atlantiques sur les ovins laitiers depuis 1987. Elle a été utilisée dans notre étude sur les chèvres. Nous la présenterons donc de façon plus détaillée.

4.2.2.1- Principe

L'ELISA se réalise sur le sérum des animaux. La méthode repose sur l'action oxydative sur un substrat coloré (orthophénylène diamine) d'une protéine G couplée à la peroxydase de radis noirs, qui vient se fixer sur l'anticorps caprin (ou ovin) réagissant sur l'antigène préalablement fixé en cupule sur microplaques. Chez les caprins, on peut rechercher des anticorps contre les quatre espèces de mycoplasmes.

4.2.2.1.1- Préparation des microplaques

La description de la technique ELISA provient du guide d'utilisation livré avec les kits, produits par l'AFSSA Sophia Antipolis. Il s'agit des kits qui sont utilisés par l'AFSSA site de Niort.

4.2.2.1.1.1- Fixations des anticorps

Les plaques des kits utilisés sont sensibilisées avec l'antigène spécifique à saturation et sont prêtes à l'emploi. Il faut tout d'abord préparer le tampon PBS Tween en diluant 125 ml de tampon PBS concentré dans 1125 ml d'eau distillée, auquel on ajoute 625 µl de Tween. Le pH du tampon ainsi obtenu est de 7,2.

Il faut ensuite préparer le sérum de référence en réalisant 8 dilutions du sérum de deux en deux du 1/25 au 1/3200 à l'aide de la solution tampon et en transférant 100 µl de chaque dilution dans la colonne réservée à ces sérums.

Les sérums des animaux sont répartis dans les cupules. Les plaques sont recouvertes d'une plaque adhésive et sont incubées à 37°C pendant 1 heure. Les plaques sont vidées et lavées grâce à l'addition de 150 µl de tampon par cupule. Ces deux dernières opérations sont répétées deux fois.

4.2.2.1.1.2- Révélation des immun-complexes

Le conjugué protéine G-peroxydase est préparé en diluant un flacon de conjugué dans 100 ml de solution tampon. Ensuite, il faut distribuer 100 µl de cette solution dans chaque cupule. Les plaques sont ensuite mises à incuber à 37°C pendant 30 minutes et sont ensuite lavées comme précédemment.

Ensuite, 100 µl de substrat de révélation (mélange de 30 µl d'eau oxygénée 120 vol. 30 %, d'un comprimé effervescent de 30 mg d'orthophénylène diamine, de 7,5 ml tampon acide concentré x 10 et de 67,5 ml d'eau distillée) sont alors incorporés dans chaque cupule et les plaques sont remises à incuber 15 minutes à 37 °C après avoir été recouvertes d'une feuille d'aluminium.

La réaction est arrêtée en ajoutant 50 µl d'une solution d'HCl, 1N dans chaque cupule. La lecture de la réaction peut alors débiter (LAMBERT, 1985 ; LAMBERT et CABASSE, 1989).

4.2.2.1.2- Lecture et résultats

La lecture débute par la mesure des densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre lecteur de plaque équipé d'un filtre 492 nm. La conversion des densités optiques en unités est réalisée en se basant sur les sérums de référence et, en pratique, les laboratoires l'effectuent grâce à une méthode informatisée mise au point par LAMBERT en 1985.

Il est difficile de standardiser les conjugués utilisés dans le test ELISA et pour permettre d'obtenir des résultats fiables et interprétables, il est nécessaire d'étalonner pour chaque plaque de lecture le système de conversion grâce aux sérums de référence préparés ci-dessus. Ce problème de standardisation des conjugués représente la source majeure de variation des résultats (LAMBERT et CABASSE, 1985 ; CASSEL et BROWN, 1983).

4.2.2.2- Validité et interprétation des résultats

La comparaison entre cet ELISA et la réaction de fixation du complément a permis de montrer que cet ELISA est plus sensible (LAMBERT et CABASSE, 1989). Par contre, ce test est moins spécifique et on peut obtenir de nombreux faux positifs. Ces problèmes de spécificité et de réactions croisées peuvent être dus à un défaut de composition du milieu utilisé dans la préparation des antigènes ou aux interférences, lors des réactions sérologiques, avec certains composants intracellulaires (ribosomes, acides nucléiques) retrouvés lorsque les antigènes sont obtenus en utilisant les ultrasons (CASSEL et BROWN, 1983 ; NICOLET, PAROZ et BRUGGMANN, 1980). L'utilisation de certains détergents lors de la préparation des antigènes permet de rendre le test plus spécifique sans diminuer la sensibilité (LAMBERT *et al.*, 1998 ; NICOLET, PAROZ et BRUGGMANN, 1980). De plus, l'utilisation de protéine G recombinante permet également de rendre le test plus spécifique (LAMBERT *et al.*, 1998).

L'utilisation de l'ELISA pourrait être réservée à deux situations :

- la confirmation d'un diagnostic clinique lorsque la bactériologie est négative (le taux d'anticorps est, en général, élevé sur les animaux atteints et sur les animaux guéris récemment).
- la connaissance du statut d'un élevage dans le cadre d'un plan de prophylaxie régionale en calculant un indice troupeau.

En pratique, des études ont montré que certains animaux infectés peuvent présenter un taux d'anticorps inférieur au seuil de positivité (SANCHIS *et al.*, 2000). L'ELISA ne permet donc pas de détecter tous les animaux malades et ce test n'est vraiment intéressant que dans le cadre d'un diagnostic de troupeau. Les différentes modalités d'utilisation et la mise au point des indices sérologiques sont développées plus loin. Néanmoins, le résultat trouvé ne sera valide que si le nombre d'échantillons testés est suffisant, soit en pratique, au moins 10% du troupeau (LAMBERT, 1987).

4.3- Nouveaux outils

4.3.1- La PCR

4.3.1.1- Principe

Plusieurs méthodes ont été proposées pour la détection de *M. agalactiae*, *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC ou *M. capricolum capricolum*. Par exemple, pour *M. agalactiae*, une de ces méthodes est basée sur une phase d'amplification d'un fragment d'ADN chromosomique de 375 paires de bases. L'identification des bandes amplifiées se fait ensuite par électrophorèse (TOLA *et al.*, 1996 ; TOLA *et al.*, 1997). Cette technique permet d'analyser les échantillons de lait.

D'autres techniques PCR sont basées sur une amplification d'une séquence d'ARNr 16S de 360 paires de bases et permettent, entre autres, d'analyser des échantillons d'écoulements nasaux d'animaux présentant une atteinte respiratoire (CHAVEZ *et al.*, 1995).

4.3.1.2- Résultats obtenus

La PCR reste actuellement une méthode qui peut présenter de nombreuses difficultés techniques pouvant fausser les résultats. Par exemple, la présence d'autres germes dans la mamelle peut être à l'origine d'une hausse anormale des leucocytes et changer les propriétés chimiques du prélèvement. De plus, des inhibiteurs de PCR peuvent être présents dans le lait.

La PCR reste une méthode rapide (moins de cinq heures pour analyser 40 échantillons) et une méthode spécifique pour la détection de *M. agalactiae*. Il se pourrait qu'elle vienne à se développer pour l'identification de *M. agalactiae* dans les années à venir si les difficultés techniques sont levées (TOLA *et al.*, 1996). Par contre, une étude récente montre que la PCR peut manquer de sensibilité pour la détection des mycoplasmes du groupe *mycoides* suivant les amorces utilisées et que les résultats obtenus en PCR ne sont pas forcément corrélés avec ceux obtenus en MF dot (LE GRAND *et al.*, 2003).

4.3.2- Le western-blot

Ce test s'effectue sur le sérum des animaux.

Des études sur *M. mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony visant à comparer la sensibilité et la spécificité du western blot avec celles de la réaction de fixation du complément ont montré que le western blot est beaucoup plus sensible (92,5 % par rapport à 77,1 %) et plus spécifique (100 % pour le western blot).

Ce test paraît donc intéressant dans le cadre d'une prophylaxie sanitaire car il n'y a pas de résultats faussement positifs contrairement à l'ELISA et à la réaction de fixation du complément. En revanche, il est beaucoup plus difficile à réaliser et trop coûteux pour l'être en routine. Il permettrait par contre de confirmer des résultats douteux (REGALLA *et al.*, 1999).

5- Méthodes de lutttes

5.1- Traitements

Du fait de l'absence de paroi bactérienne, tous les antibiotiques agissant sur sa synthèse tels que les bêta-lactamines (pénicilline, ampicilline) (ONOVIRAN, 1974 ; SIKDAR et UPPAL, 1996) et les antibiotiques polypeptidiques (polymixine, bacitracine)

(BENKIRANE et AMGHAR, 1990) sont inefficaces contre les mycoplasmes. Ils acquièrent également des résistances vis-à-vis des aminosides (gentamicine, néomycine) (NACCARI *et al.*, 2001 ; SIKDAR *et al.*, 1996), du chloramphénicol et de la streptomycine (BENKIRANE et AMGHAR, 1990).

Il est préférable d'utiliser d'autres molécules telles que les fluoroquinolones (danofloxacin, enrofloxacin) (AYLING *et al.*, 2000 ; CATARSINI *et al.*, 1991), les macrolides (tylosine, lincomycine, érythromycine), les tétracyclines et la tiamuline (AYLING *et al.*, 2000 ; NAYAK et BHOWMIK, 1990 ; GUHA *et al.*, 1985 ; BAGHERWAL et SISODIA, 1991 ; STIPKOVITS *et al.*, 1984).

D'après certains auteurs, la dose de tartrate de tylosine distribuée par exemple par voie orale est de 40 mg/kg de poids vif pendant 5 jours (BHAUMIK *et al.*, 1990). Les animaux présentant des signes cliniques après ce traitement peuvent éventuellement guérir avec l'administration de tiamuline 36 mg/kg durant 4 jours (SARKAR *et al.*, 1992). En pratique, la dose préconisée par le fabricant dans le dictionnaire des médicaments vétérinaires est de 23 mg/kg de tartrate par tylosine par voie orale et de 20 mg/kg lors d'utilisation de formes injectables, et la durée de traitement conseillée est de 8 à 10 jours.

Le coût moyen du traitement antibiotique de 5 jours (durée insuffisante) varie de 3,8 à 9,2 euros par animal selon la spécialité choisie (BERGONIER *et al.*, 1997).

Certains auteurs préconisent d'associer avec le traitement antibiotique un traitement à base de dexaméthasone et de vitamine B pendant 5 à 7 jours (NAYAK et BHOWMIK, 1990).

Enfin, il faut préciser que même si les signes cliniques disparaissent, les animaux ne sont pas totalement guéris et peuvent réexcréter des mycoplasmes plusieurs années après la disparition des signes cliniques (LAMBERT, 1987).

5.2- Prophylaxie

5.2.1- Prophylaxie médicale

Le premier vaccin à l'encontre de l'agalactie contagieuse fut mis au point sur des brebis par ZAVAGLI en 1951. Il était produit à partir de sécrétions mammaires de brebis malades, inactivées au formol ou adsorbées sur de l'hydroxyde d'alumine et inactivées par la chaleur et le formol.

A l'heure actuelle, il n'existe aucun vaccin autorisé en France contre les mycoplasmoses caprines ; par contre, un vaccin vis-à-vis de *M. agalactiae* est commercialisé

en Espagne, mais celui-ci ne possède pas d'AMM caprine en France et son efficacité est très moyenne. Les seuls vaccins vis-à-vis de mycoplasmes mis sur le marché en France sont réservés à l'espèce porcine et sont des vaccins inactivés contre *M. hyopneumoniae*. Il s'agit de vaccins utilisables sur les porcelets à l'engraissement et qui permettent, dans un élevage atteint de mycoplasmosse, de réduire les lésions pulmonaires, la toux, et les pertes de poids liées à l'infection par le mycoplasme sur les porcs à l'engraissement, et non d'éviter la contamination des porcelets (Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2003 ; SIUGZDAITE *et al.*, 2003).

5.2.1.1- Vaccins inactivés

Malheureusement, les vaccins essayés jusqu'à présent ne sont pas très efficaces et ne permettent pas de résister à une nouvelle infection massive du même germe. Des essais de vaccination sur des ovins avec la souche AIK40 de *M. agalactiae* inactivée au formol à 0,2 % ont montré que lors d'une nouvelle infection, la maladie se déclare chez les animaux vaccinés. Par contre, les signes cliniques sont moins sévères, les animaux se remettent plus vite, le lait des mères reste sain et les agneaux ne développent pas d'infection (FOGGIE *et al.*, 1971).

Plusieurs facteurs peuvent influencer la réussite de la vaccination dont la méthode d'inactivation de la souche. Seules les souches inactivées avec de la saponine et du phénol conservent les principales protéines immunogènes et permettent d'obtenir un taux d'anticorps suffisant et protecteur. Les autres traitements d'inactivation à base de formol, d'hypochlorite de sodium ou de chaleur détruisent plus ou moins ces protéines et ne permettent pas une protection suffisante (TOLA *et al.*, 1999).

Ensuite, la fréquence de vaccination influence aussi le niveau d'immunité obtenu. Dans un troupeau infecté, un protocole de vaccination basé sur trois injections annuelles (la première deux mois avant mise-bas, la seconde un mois avant et la troisième trois mois après) réduit davantage l'incidence de la maladie, le portage de mycoplasmes et augmente plus la résistance vis-à-vis d'une pression d'infection importante qu'un protocole de vaccination basé sur deux injections annuelles (la première un mois avant la mise-bas et la seconde trois ou quatre mois après). De plus, les caprins vaccinés trois fois par an présentent une réduction de la sécrétion mammaire plus importante que ceux vaccinés deux fois (VIZCAINO *et al.*, 1995).

5.2.1.2- Vaccins vivants atténués

Le premier vaccin vivant fut mis au point par FOGGIE *et al.* en 1970 avec la souche AIK40 de *M. agalactiae* atténuée après quarante passages sur milieu sélectif (FOGGIE *et al.*, 1971). Les inconvénients majeurs de ce type de vaccins sont que, même si l'immunité est plus efficace, il reste un risque potentiel que l'animal excrète le germe dans le lait et devienne un porteur sain. Par contre, ce vaccin semble aussi protéger les brebis contre la souche AIK2 de *M. agalactiae*.

Des précautions particulières sont à prendre lors de l'utilisation de ces vaccins. En effet, à cause de leur virulence résiduelle, il est déconseillé de vacciner les femelles en lactation sous peine d'observer des chutes de production lactée voire d'autres signes cliniques et il est conseillé de réserver ces vaccins à des zones déjà infectées. (FOGGIE *et al.*, 1971 ; LAMBERT, 1987). De plus, il faut respecter la dose prescrite car un surdosage peut engendrer des mammites alors qu'un sous-dosage est inefficace (CEC, 1985 et ARISOY *et al.*, 1977 cités par LAMBERT, 1987). Tout traitement antibiotique durant la vaccination est néfaste étant donné qu'il risque de détruire la souche vaccinale.

5.2.2- Prophylaxie sanitaire

De par l'absence d'une prophylaxie médicale efficace, le seul moyen de lutter contre les mycoplasmoses reste la prophylaxie sanitaire.

5.2.2.1- Au sein d'un troupeau

Lors de l'infection d'un troupeau par les mycoplasmes, les mesures sanitaires sont la seule solution afin de limiter la transmission du germe au sein des troupeaux.

Etant donné l'importance des animaux porteurs sains et des excréteurs asymptomatiques, lors de l'apparition d'un épisode clinique au sein d'un élevage, il a été préconisé, pour *M. agalactiae* dans les zones d'enzooties, chaque fois que cela est possible, d'abattre totalement le troupeau plutôt que de n'éliminer que les animaux cliniquement atteints. Mais cette mesure radicale n'est pas applicable en région d'épizootie et dans les troupeaux de forte valeur génétique. Dans ces cas, des mesures particulières doivent être mises en place pour réduire les sources de mycoplasmes et pour limiter la transmission au sein de l'élevage.

5.2.2.1.1- Réduction des sources de mycoplasmes

Il est nécessaire d'agir non seulement sur les sources animales mais aussi sur les sources environnementales (MERCIER *et al.*, 2000).

La réduction des sources animales passe entre autres par la réforme des animaux ne répondant pas au traitement médical. De plus, il est conseillé d'instaurer un traitement au tarissement (JOUGLAR *et al.*, 1982). Les animaux reçoivent un traitement antibiotique intramammaire (érythromycine ou spiramycine) qui peut être associé à un traitement systémique à base de spiramycine (deux injections à 24 heures d'intervalle, dose 75 000 UI/kg) (MERCIER *et al.*, 2000).

Les conditions d'hygiène au sein de l'élevage doivent être améliorées et les locaux et le matériel doivent être correctement désinfectés. Un vide sanitaire d'un mois est conseillé entre chaque lot.

5.2.2.1.2- Limitation de la transmission au sein du troupeau

La transmission aux jeunes peut être évitée en séparant les jeunes dès la naissance, en leur distribuant du colostrum thermisé (à 56°C pendant 1 heure) et en continuant avec du lait pasteurisé jusqu'au sevrage (CEC, 1985 ; EAST *et al.*, 1983). Il est également possible de distribuer en prévention aux chevrettes futures reproductrices, avant le sevrage, du tartrate de tylosine dans le lait pendant 10 jours (POLACK, communication personnelle).

Entre adultes, il faut limiter la transmission au moment de la traite en veillant au bon réglage et à l'entretien de la machine à traire (notamment le niveau de vide et le bon fonctionnement des trous d'aspiration et des faisceaux trayeurs), en évitant les fluctuations de niveau de vide (entrée d'air au moment de la mise en place et du retrait de la griffe pour éviter entre autres les phénomènes d'impact...), en désinfectant les trayons après la traite avec des produits à base de chlorhexidine (MERCIER *et al.*, 2000). Il est préférable de mettre en place un ordre de traite en veillant à passer en premier les femelles supposées saines (primipares) (DA MASSA *et al.*, 1987 ; KINDE *et al.*, 1994).

Il est préférable d'isoler les animaux suspects en attente d'être réformés dans un bâtiment séparé.

5.2.2.2- Au sein d'une région

Dans les régions d'enzootie, l'objectif est de limiter progressivement l'infection à certaines zones et ensuite de pouvoir assainir la zone. Ceci est permis par la détection des troupeaux infectés, le contrôle des échanges et la mise en place de qualification. En France, deux régions ont mis en place des plans de lutte vis-à-vis de l'agalactie contagieuse : les Pyrénées-Atlantiques sur les ovins et la Savoie sur les caprins.

5.2.2.2.1- Détection des élevages infectés

Depuis 1988-1989, dans le département des Pyrénées-Atlantiques, les prélèvements de dépistage dans les troupeaux de cette région consistent en un prélèvement de sang sur 20 brebis du troupeau analysé par un test ELISA pouvant être associé, suivant les élevages, à un prélèvement de lait de tank afin de réaliser une bactériologie (PUYALTO, 1995). Les résultats individuels des animaux sont exprimés en unités et sont répartis en classes en fonction de leur titre en anticorps. L'indice sérologique global pour le troupeau peut alors être calculé.

Le principe de calcul de l'indice est similaire en Savoie. Seuls le nombre de prélèvements sanguins par élevage (il n'est pas imposé, il y a N prélèvements) et les bornes de positivité de l'indice diffèrent (HUGON, 1991). La méthode de calcul des deux indices est résumée dans le tableau VI.

Tableau VI : Principe du calcul des différents indices sérologiques pour les troupeaux

	Nombres d'analyses	Classes de titres (U)	Nombre de sérums	Coefficient (c _i)	Indice I	Classes d'indices	Statut
Savoie <i>Caprins</i>	N	0-29	n ₁	0	$\frac{\sum (n_i c_i)}{N}$	I < 0,3	Indemne
		30-59	n ₂	1		0,3 < I < 0,5	Présumé indemne
		60-119	n ₃	5		0,5 < I < 5	Infecté latent
		120 et +	n ₄	25		I > 5	Fortement infecté
Pyrénées <i>Ovins</i>	20	0-149	n ₁	0	$\frac{\sum (n_i c_i)}{20}$	I < 4	Indemne
		150-299	n ₂	1		4 < I < 64	Présumé indemne
		300-599	n ₃	5		64 < I < 127	Infecté latent
		600 et +	n ₄	25		I > 128	Atteint

5.2.2.2.2- Mesures de prophylaxie sanitaire mises en place

Les indices sérologiques « troupeaux » ainsi calculés ont permis de mettre en place une qualification des troupeaux. Suivant la classe de l'élevage, les contraintes pour le commerce et le déplacement des animaux varient et sont détaillées dans le tableau VII.

Tableau VII : Mesures vis-à-vis des déplacements et du commerce des animaux en Pyrénées-Atlantiques

STATUT	VENTE		TRANSHUMANCE		HIVERNAGE	
	<i>Pyrénées-Atlantique</i>	<i>Savoie</i>	<i>Pyrénées-Atlantique</i>	<i>Savoie</i>	<i>Pyrénées-Atlantique</i>	<i>Savoie</i>
Indemne	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Respecter la compatibilité des statuts
Présumé indemne	Non	Non	Oui	Oui	Oui	
Infecté latent	Non	Non	Non	Oui	Non	
Atteint	Non	Non	Non	Non	Non	

5.2.2.2.3- Contrôle à l'achat

Lors d'un achat d'un lot de brebis ou de béliers, les animaux doivent faire l'objet d'un prélèvement sanguin dans les deux mois précédant la transaction et l'indice du lot doit être inférieur à 4 (LARRICQ, 2001).

5.2.2.3- Au niveau international

Pour les transactions commerciales d'ovins et caprins, le code zoo-sanitaire international de l'OIE recommande les précautions suivantes en matière d'agalactie contagieuse :

« Les Administrations Vétérinaires des pays importateurs tiennent compte, pour les ovins et les caprins, de la présentation d'un Certificat zoo-sanitaire attestant que les animaux :

- Ne présentaient le jour de leur chargement aucun symptôme d'agalactie contagieuse ;
- Sont restés sur le territoire du pays exportateur, les six mois précédant leur chargement ou depuis leur naissance, dans une exploitation où aucun cas d'agalactie contagieuse n'a été constaté officiellement durant cette période ;
- Sont restés pendant 21 jours avant leur chargement en station de quarantaine. »

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Dans la première partie, nous avons donc appris que les mycoplasmes sont des bactéries dont l'impact économique est important et dont il est très difficile de se débarrasser. Les diverses études menées jusqu'à présent sur la prévalence dans les élevages et la mise au point d'une prophylaxie sanitaire efficace ont été menées en Pyrénées-Atlantiques pour les brebis et en Savoie et Haute-Savoie sur les chèvres. La situation vis-à-vis des mycoplasmes des autres bassins de production ovine et caprine est peu connue.

De plus, nous avons également vu que le diagnostic des mycoplasmoses n'était pas aisé car les outils disponibles se heurtent à différents problèmes.

Le but de ce travail a été, d'une part, d'étudier la prévalence des mycoplasmoses au sein de la zone de production du crottin de Chavignol et d'essayer de mettre au point un indice sérologique représentatif de la région qui pourrait être utilisé à des fins de prophylaxie sanitaire. D'autre part, nous avons essayé de comparer deux outils de dépistage existants : l'examen bactériologique et le test ELISA.

1- Matériels et méthodes

1.1- Lieu et durée des prélèvements

L'étude a été réalisée avec le concours la laiterie Tribalat (Rians, Cher, France) de septembre à novembre 2001. Les élevages prélevés étaient à des périodes de lactation très différentes. En effet, les élevages qui désaisonnaient étaient en début de lactation alors que les autres étaient en fin de lactation. Le deuxième prélèvement de lait de tank a été réalisé au mois de mai 2002. Ainsi les élevages qui étaient en fin de lactation lors de la première collecte ont pu également être prélevés en début de lactation.

Les élevages incorporés dans notre étude se trouvent sur la zone de collecte de la laiterie qui couvre dans la région Centre, le Cher, le Loiret, le Loir-et-Cher et dans la Bourgogne, la Nièvre et l'Yonne. Nous n'avons prélevé que trois élevages en Bourgogne et c'est pour cela que nous avons gardé la dénomination « région Centre » car la majorité des élevages est dans cette région.

La zone de collecte est représentée sur la figure 6.

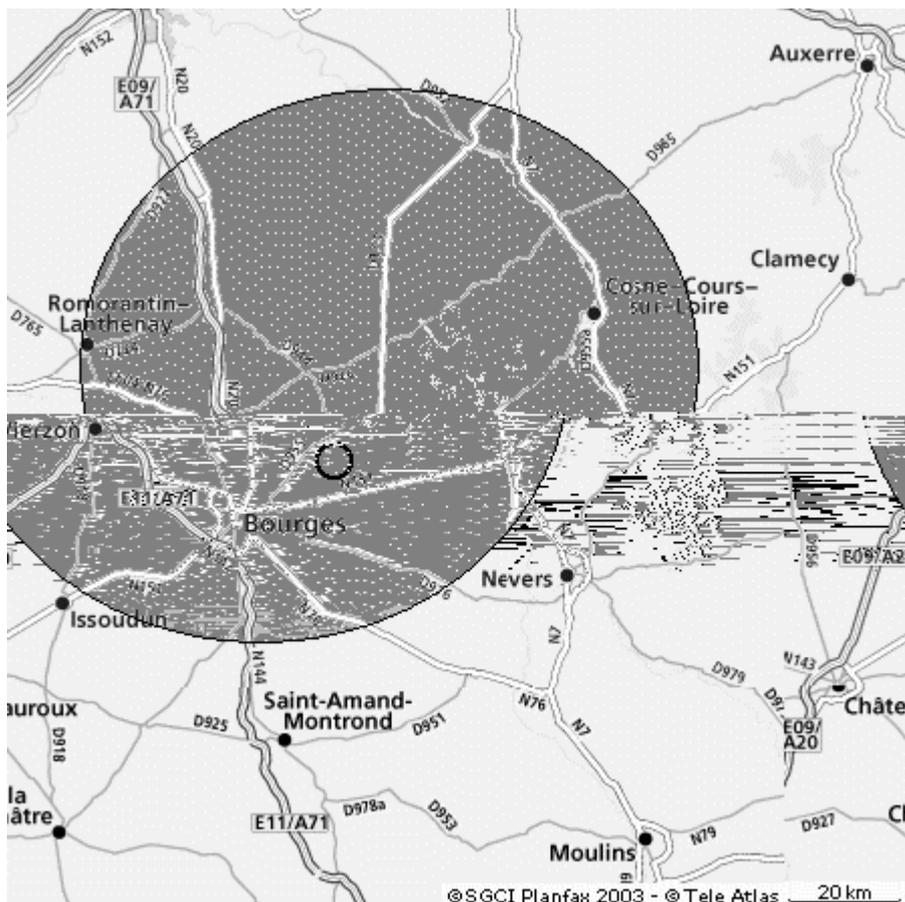


Figure 6 : Détail de la zone de collecte centrée sur la laiterie située à Rians (cercle)

1.2- Les cheptels

Afin d'avoir un échantillon représentatif des élevages de la région collectée, les élevages retenus ont été tirés au sort dans le listing des exploitations agricoles vendant du lait à la laiterie.

Les élevages collectés sont répartis sur deux zones :

- Une zone d'appellation d'origine contrôlée (A.O.C.) « crottin de Chavignol » (nord du Cher et sud du Loiret).
- Une zone hors A.O.C comprenant le Loir-et-Cher, le sud du Cher, la Nièvre et l'Yonne.

Environ un quart des élevages collectés vend, d'une part, une partie du lait à la laiterie, et, d'autre part, possède un atelier de fabrication de fromage de chèvre fermier.

La taille des troupeaux est très variée et s'échelonne de 22 chèvres (traites manuellement !!) à 350 chèvres. Mais, en moyenne, la taille des élevages se situe autour de 80 chèvres à la traite.

Au total, 39 élevages ont pu être collectés en vue de réaliser les analyses sérologiques et 38 élevages pour les analyses bactériologiques (en effet, un éleveur avait oublié que je devais passer et a tari ses chèvres la veille, le lait n'a donc pas été récolté en raison de la présence d'antibiotiques dans la mamelle).

En dehors d'un élevage qui avait eu un épisode clinique courant 1992, les statuts sérologiques et bactériologiques des élevages nous étaient inconnus.

1.3- Les animaux

J'ai prélevé 22 femelles au sein de chaque élevage. Le nombre de 22 a été choisi en raison de la capacité des microplaques ELISA. En effet, il y a 96 cupules sur une plaque ; 8 cupules sont nécessaires pour les sérums de références ; il reste 88 cupules disponibles, et comme nous voulions faire 4 élevages par plaques, j'ai donc prélevé 22 animaux par élevage.

Les animaux prélevés ont été choisis au hasard en essayant de récolter des chèvres de tout âge et de chaque lot. Nous voulions que le nombre de prélèvements au sein de chaque lot soit proportionnel à la taille des lots. En pratique, je prélevais les 5 ou 6 premières sur les quais, ou seulement le quai de droite...

Au final, j'ai prélevé 858 chèvres dans 39 troupeaux différents.

1.4- Les prélèvements

Chaque élevage a été prélevé une fois lors de mon passage afin d'effectuer des analyses bactériologiques et sérologiques, puis, une deuxième fois, la laiterie a prélevé du lait de tank en vue d'un examen bactériologique fin mai 2002.

Les prélèvements ont été effectués sur quatre semaines et étaient regroupés sur les trois premiers jours de la semaine (soit lundi, mardi, mercredi). Le jeudi matin, les prélèvements étaient transférés en voiture jusqu'à l'AFSSA de Niort. Le nombre d'élevages visités par jour de collecte pouvait s'échelonner de 3 à 5 élevages.

1.4.1- Prélèvements de lait

1.4.1.1- Réalisation du prélèvement

Un prélèvement stérile de lait sur les deux mamelles a été réalisé. Pour cela, le trayon a été désinfecté préalablement à l'alcool à 70° et essuyé avec du papier propre, les premiers jets ont été éliminés dans un récipient, et enfin, du lait de chaque mamelle a été récolté dans le même pot. Nous récoltions ainsi environ 20 ml de lait par chèvre.

Un prélèvement de lait de tank a également été réalisé pour chaque élevage. Pour cela, le lait était récolté dans le tank à l'aide d'une louche propre désinfectée à l'alcool à 70° et était déposé dans un pot de 50 ml.

1.4.1.2- Stockage des prélèvements

Durant la journée, les prélèvements étaient stockés dans la voiture dans une glacière en essayant d'avoir une température proche de +4°C. Le soir, les prélèvements étaient stockés au réfrigérateur à +4°C jusqu'au jour du transfert à Niort. Pendant le transfert, les prélèvements étaient à nouveau stockés dans des glacières. Les prélèvements étaientensemencés dès leur arrivée à Niort.

1.4.2- Prélèvements de sang

1.4.1.1- Réalisation du prélèvement

Les prises de sang ont été réalisées au niveau de la veine jugulaire. Nous avons récolté environ 5 ml de sang par chèvre dans des tubes secs.

Chaque soir, les tubes de sang étaient centrifugés à 1000 G pendant 10 minutes. Le sérum était ensuite récupéré et placé dans des tubes secs de 2 ml.

1.4.1.2- Stockage des prélèvements

Le sérum, une fois placé dans les tubes secs, était stocké dans un congélateur à -18 °C. Les tubes étaient acheminés en voiture dans une glacière à Niort le jeudi. En général, le sérum n'était pas décongelé à son arrivée à Niort et les tubes étaient replacés au congélateur à

-18°C jusqu'à leur analyse qui a été faite en même temps à la fin de toutes les semaines de prélèvement.

1.5- Réalisation des analyses

Les analyses bactériologiques et sérologiques ont été entièrement réalisées par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (A.F.S.S.A.) de Niort. Toutes les manipulations ont été réalisées par le même technicien. Au final, il a été effectué 912 analyses bactériologiques et 858 analyses sérologiques.

1.5.1- Les analyses bactériologiques

Dès leur arrivée à Niort, les prélèvements de lait étaient ensemencés en milieux liquide et solide spécifiques à la croissance des mycoplasmes. Les milieux utilisés sont ceux décrits dans la première partie.

Les milieux sont ensuite placés en étuve à 37 °C, sous atmosphère humide à 5% de CO₂. Les milieux ont été lus tous les jours. Si le milieu solide était négatif au bout de quelques jours, un ensemencement à partir du milieu liquide était réalisé. Un résultat était considéré comme négatif lorsqu'aucune colonie n'avait poussé au bout d'une semaine.

La morphologie des colonies obtenues sur gélose a été observée à la loupe binoculaire afin de rechercher la forme caractéristique en « œuf sur le plat » des colonies de mycoplasmes.

Lorsqu'une colonie de mycoplasme était reconnue, celle-ci était repiquée plusieurs fois afin d'isoler le clone et soumise aux tests biochimiques usuels afin de déterminer la souche de mycoplasme : sensibilité à la digitonine, formation de « film and spot », utilisation du glucose et de l'arginine, recherche de la phosphatase alcaline. Le principe de ces tests a été développé en première partie.

Un test d'inhibition de croissance était réalisé en parallèle aux tests biochimiques pour l'identification.

1.5.2- Les analyses sérologiques

Le titrage des anticorps anti-mycoplasmes était réalisé à l'aide d'un test ELISA, décrit en première partie, et permettant d'identifier les anticorps vis-à-vis des quatre espèces de

mycoplasmes caprins : *M. agalactiae*, *M. putrefaciens*, *M. capricolum* et *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC.

1.6- Analyses des résultats

1.6.1- Analyses statistiques des résultats

Toutes les formules ayant servi à l'analyse statistique proviennent de l'ouvrage de TOMA *et al.*, 1996, intitulé « Épidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures ».

1.6.1.1- Présentation des tests statistiques utilisés

Dans un premier temps, nous avons réalisé une analyse descriptive de la situation bactériologique et sérologique vis-à-vis des mycoplasmoses caprines au sein de l'échantillon et de la population. Nous avons également décrit la distribution des sérologies en fonction des statuts bactériologique et sérologique des troupeaux. Les diverses caractéristiques de ces distributions ont été calculées à l'aide d'Excel ®. Etant donné que la taille des échantillons était grande (704 animaux au sein des élevages bactériologiquement négatifs et 154 au sein des élevages bactériologiquement positifs) nous avons considéré que les distributions des titres sérologiques suivaient une loi Normale et nous avons donc comparé les moyennes obtenues à l'aide d'un test de Student. Le calcul de t pour les grands échantillons est :

$$t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(\sigma_1^2 / n_1 + \sigma_2^2 / n_2)}} \quad \text{avec une ddl} = (n_1 + n_2 - 2)$$

Dans un deuxième temps, nous avons essayé de rechercher s'il existait un lien entre la classification établie par bactériologie et les résultats sérologiques des animaux. Pour cela nous avons comparé ces tests de dépistage en calculant leur spécificité, leur sensibilité, leurs valeurs prédictives positive et négative.

1.6.1.2- Calcul des paramètres de validité d'un test

La validité d'un test repose sur plusieurs critères dont les principaux sont la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive et négative et la valeur globale.

Prenons l'exemple d'un test de dépistage dont les résultats sont intégrés dans le tableau VIII.

		Déterminé par le test de référence		
		Infectés	Indemne	
Critère étudié	> Seuil	a	b	C
	< Seuil	c	d	D
		A	B	N

Tableau VIII : Résultats d'un test de dépistage

- ✓ **Sensibilité** : il s'agit de la proportion de malades que le test est en mesure de détecter.

$$Se = a / A \times 100$$

- ✓ **Spécificité** : il s'agit de la proportion de sujets sains confirmés comme tels par un résultat négatif du test.

$$Sp = d / B \times 100$$

- ✓ **Valeur prédictive positive** : il s'agit de la proportion de sujets réellement atteints parmi ceux dont le test est positif.

$$VPP = a / C \times 100$$

- ✓ **Valeur prédictive négative** : il s'agit de la proportion de sujets réellement sains parmi ceux dont le test est négatif.

$$VPN = d / D \times 100$$

- ✓ **Valeur globale:** il s'agit de la proportion de résultats valables dans l'ensemble des épreuves effectuées.

$$VG = (a + d) / N \times 100$$

1.6.2- Classification des cheptels

Les titres sérologiques individuels des chèvres ont permis de calculer des indices de troupeaux similaires à ceux effectués en Savoie/Haute-Savoie et en Pyrénées-Atlantiques. Nous avons essayé de calculer 3 indices différents par troupeau en modifiant à chaque fois les bornes de chaque catégorie des titres sérologiques, afin de trouver l'indice permettant le mieux de caractériser la zone de collecte. Nous avons choisi ces indices en fonction des travaux qui ont été réalisés auparavant par l'AFSSA site de Niort en région Poitou-Charentes. Les différents modes de calcul de ces indices sont exposés dans le tableau IX.

Pour l'analyse, sur un plan individuel, nous considérerons une chèvre « sérologiquement infectée » lorsque son titre sérologique se situe dans les catégories où il faut le multiplier par 5 ou 25 lors du calcul des indices troupeaux (en pratique, au dessus de 60 U, 80 U ou 100 U respectivement pour les indices 1, 2 et 3)

Tableau IX : Principe de calcul des différents indices sérologiques des troupeaux utilisés

	Nombres d'analyses	Classes de titres (U)	Nombre de sérums	Coefficient (c _i)	Indice I	Classes d'indices	Statut du troupeau	
Indice 1	22	0-29	n ₁	0	22 <u>Σ (n_i c_i)</u>	I < 0.3	Indemne	
		30-59	n ₂	1				
		60-119	n ₃	5				
		120 et +	n ₄	25				
Indice 2	22	0-39	n ₁	0		22	0.3 < I	Présumé indemne
		40-79	n ₂	1			I < 0.5	
		80-159	n ₃	5			0.5 < I < 5	Infecté latent
		160 et +	n ₄	25				
Indice 3	22	0-49	n ₁	0		22	I > 5	Fortement infecté
		50-99	n ₂	1				
		100-199	n ₃	5				
		200 et +	n ₄	25				

2- Résultats

2.1- Analyse descriptive

2.1.1- Présentation des résultats bactériologiques

2.1.1.1- Bilan des résultats bactériologiques

Les résultats bactériologiques obtenus pour les 38 élevages figurant dans notre étude sont présentés dans le tableau X.

Tableau X : Résultats bactériologiques des 38 élevages

Numéro de dossier	Tank 1 ^{er} prélèvement	Tank 2 ^{eme} prélèvement	Nombre de lait individuel positif	Espèce de mycoplasme
263	Négatif	Négatif	1	<i>M. putrefaciens</i>
264	Négatif	Négatif	0	
265	Négatif	Négatif	0	
266	Négatif	Négatif	0	
267	Négatif	Négatif	0	
268	Négatif	Négatif	0	
269	Négatif	Négatif	0	
270	Positif	Positif	0	<i>M. putrefaciens</i>
271	Négatif	Négatif	0	
341	Négatif	Négatif	0	
342	Négatif	Négatif	0	
343	Négatif	Négatif	0	
344	Négatif	Négatif	0	
345	Positif	Négatif	0	<i>M. capricolum</i>
346	Négatif	Négatif	0	
347	Négatif	Négatif	0	
348	Négatif	Négatif	0	
349	Négatif	Négatif	0	
351	Négatif	Négatif	0	
352	Négatif	Négatif	0	
356	Négatif	Négatif	0	
358	Négatif	Négatif	0	
359	Négatif	Négatif	0	
360	Négatif	Négatif	0	
361	Négatif	Négatif	0	
362	Négatif	Négatif	0	
363	Négatif	Négatif	1	<i>M. capricolum</i>
388	Négatif	Négatif	0	
389	Négatif	Négatif	0	
390	Négatif	Négatif	0	
391	Négatif	Négatif	0	
392	Négatif	Négatif	0	
393	Négatif	Négatif	0	
394	Négatif	Négatif	0	
395	Négatif	Négatif	0	
396	Positif	Positif	22	<i>M. putrefaciens</i> et <i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> LC
397	Négatif	Négatif	6	<i>M. putrefaciens</i>
118	Négatif	Négatif	1	<i>M. putrefaciens</i>

Ces résultats mettent en évidence la présence des principaux mycoplasmes caprins, hormis *M. agalactiae*, au sein de la région Centre. La proportion de troupeaux atteints mise en évidence par la bactériologie selon le type de prélèvement lacté et selon la période de prélèvement est présentée dans le tableau XI.

Tableau XI : Proportion de troupeaux atteints mis en évidence avec la bactériologie au sein de l'échantillon et de la population

	Lait de tank		Lait individuel (au moins un animal positif)	Lait de tank et/ou lait individuel positif	
	<i>1^{er}</i> prélèvement	<i>2^{ème}</i> prélèvement		<i>1^{er}</i> prélèvement	<i>2^{ème}</i> prélèvement
Proportion de troupeaux atteints sur l'échantillon	8 % (3 sur 38)	5 % (2 sur 38)	13 % (5 sur 38)	18 % (7 sur 38)	16 % (6 sur 38)
Intervalle de confiance (risque 5 %)	3 % – 24 %	1 % – 17 %	6 % – 30 %	9 % – 36 %	6 % – 30 %
Précision absolue	11,5	8	12	12,5	12
Précision relative	138 %	160 %	92 %	67 %	75 %

La proportion de troupeaux atteints au sein de l'échantillon varie suivant que l'on s'intéresse aux résultats individuels, collectifs ou au cumul des deux. En effet, le taux de prévalence au sein de l'échantillon passe de 8 % si l'on ne s'intéresse qu'au lait de tank, à 18 % si l'on cumule les bactériologies individuelles et le lait de tank. Cette différence de prévalence découle de la présence de mycoplasmes dans le lait de tank alors qu'aucun lait individuel n'est positif et, à l'inverse, la détection d'animaux positifs avec le lait de tank négatif.

L'extrapolation des résultats de l'échantillon à la population grâce au calcul des intervalles de confiance (risque à 5 %) montre que ces intervalles sont très étendus. En effet, si l'on considère les résultats cumulés de la bactériologie individuelle et collective, la

prévalence au sein de la population s'élève à 18 % avec une fourchette allant de 9 à 36 %. La précision relative de ce résultat est assez mauvaise vu qu'elle est de 67%. Les intervalles de confiance et les précisions relatives sont encore plus mauvaises si l'on considère chaque résultat bactériologique séparément.

Les résultats mis en évidence par l'étude permettent également d'étudier la répartition des différentes espèces de mycoplasmes au sein de l'échantillon et de la population. Ces données sont présentées dans le tableau XII.

Tableau XII : Répartition des différentes espèces de mycoplasmes au sein de l'échantillon et de la population

	<i>M. agalactiae</i>	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> LC	<i>M. putrefaciens</i>	<i>M. capricolum</i>
Nombre d'élevages positifs	0 % (0 sur 7)	14 % (1 sur 7)	71 % (5 sur 7)	29 % (2 sur 7)
Intervalle de confiance (risque à 5 %)	-	1 % – 50 %	19 % – 81 %	7 % – 65 %
Précision absolue	-	24,5	31	29
Précision relative	-	175 %	44 %	100 %

Les mycoplasmes les plus fréquemment isolés sont *M. putrefaciens* (71 %), puis *M. capricolum* (29 %) et enfin *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC. Aucune souche de *M. agalactiae* n'a été isolée des prélèvements.

De même que pour les résultats de prévalence, l'extrapolation des résultats de l'échantillon à la population met en évidence des intervalles de confiance très larges et une précision relative élevée. Seule la précision absolue pour *M. putrefaciens* est un peu plus acceptable.

2.1.1.2- Relation lait de tank et lait individuel

Les résultats bactériologiques permettent également d'étudier si la corrélation entre les espèces de mycoplasmes isolées dans le tank ou sur les chèvres est bonne. Seul l'élevage 396 permet de voir cette corrélation puisqu'il est le seul dont les résultats individuels et collectifs

sont positifs. Pour cet élevage, la bactériologie du tank révèle la présence de deux espèces de mycoplasmes (*M. putrefaciens* et *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC), alors que les résultats individuels ne révèlent que la présence de *M. putrefaciens*. Ceci provient du fait que les deux espèces de mycoplasmes sont présentes dans l'élevage, mais les chèvres excréant *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC n'ont pas été prélevées.

Pour les autres élevages à bactériologie positive, nous sommes face à deux situations :

- La bactériologie du tank est positive, mais les résultats individuels sont négatifs : les chèvres excréant le mycoplasme n'ont pas été prélevées.
- La bactériologie du tank est négative, mais au moins un des résultats individuels est positif : le nombre de chèvres excrétrices est faible , donc la quantité de mycoplasme excrétée et se trouvant dans le tank est trop faible pour être détectée.

2.1.2- Présentation des résultats sérologiques

2.1.2.1- Répartition des titres sérologiques au sein de l'ensemble de l'échantillon

2.1.2.1.1- *M. agalactiae*

La répartition des titres sérologiques des anticorps dirigés contre *M. agalactiae* des animaux de l'étude et les caractéristiques de la distribution de ces titres sont exposés sur la figure 7 et dans le tableau XIII.

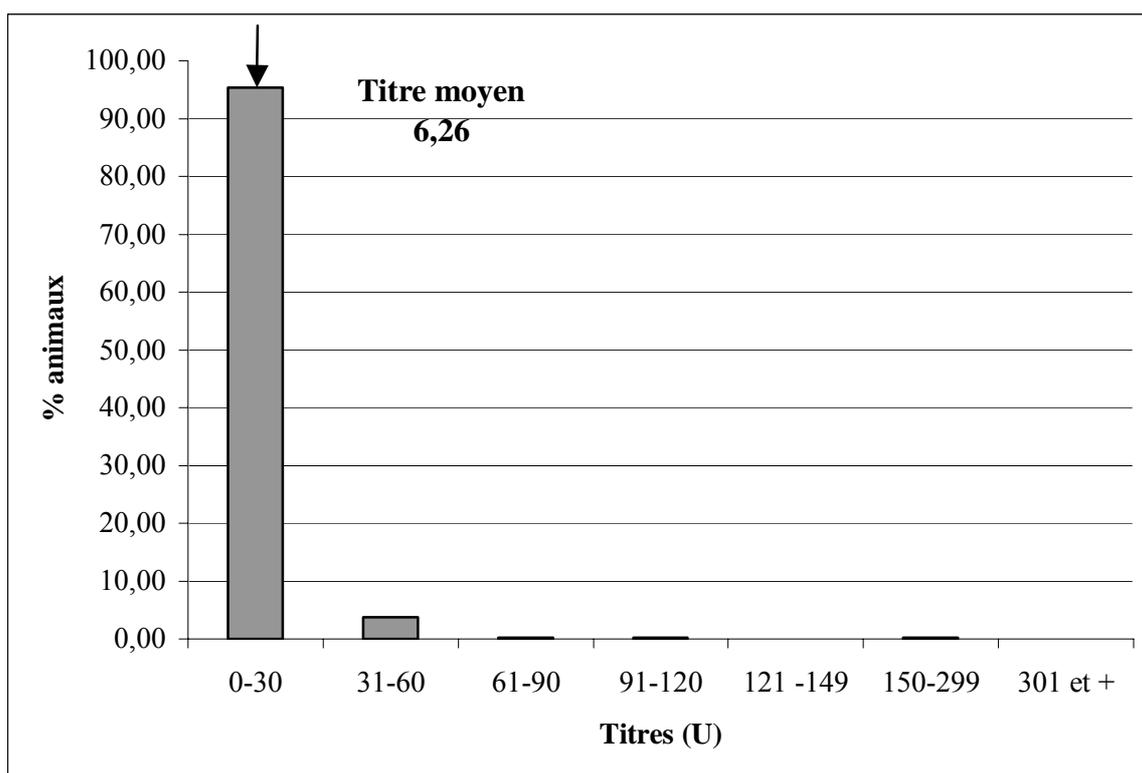


Figure 7 : Histogramme de répartition des titres sérologiques pour *M. agalactiae* des animaux de l'échantillon

Les titres sérologiques en anticorps anti-*Mycoplasma agalactiae* sont peu dispersés puisque environ 95 pour cent des animaux ont un titre sérologique compris entre 0 et 29 unités (U).

Tableau XIII : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. agalactiae*

	Moyenne arithmétique	Ecart-type*	Mode ^o	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile	Minimum	Maximum
Echantillon	6,06 U	13,81	0 U	0 U	2 U	7 U	0 U	212 U

* Ecart-type : dispersion autour de la moyenne

^o Mode : valeur la plus fréquemment rencontrée

Le titre sérologique moyen de l'échantillon est faible puisqu'il vaut 6,06 U et 75 pour cent des animaux ont un titre sérologique inférieur à 7 U (3^{ème} quartile à 7 U). Les titres

sérologiques des animaux suggèrent que peu d'entre eux sont ou ont été infectés par *M. agalactiae*.

2.1.2.1.2- *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC

La répartition des titres sérologiques des anticorps dirigés contre *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC des animaux de l'étude et les caractéristiques de la distribution de ces titres sont exposés sur la figure 8 et dans le tableau XIV.

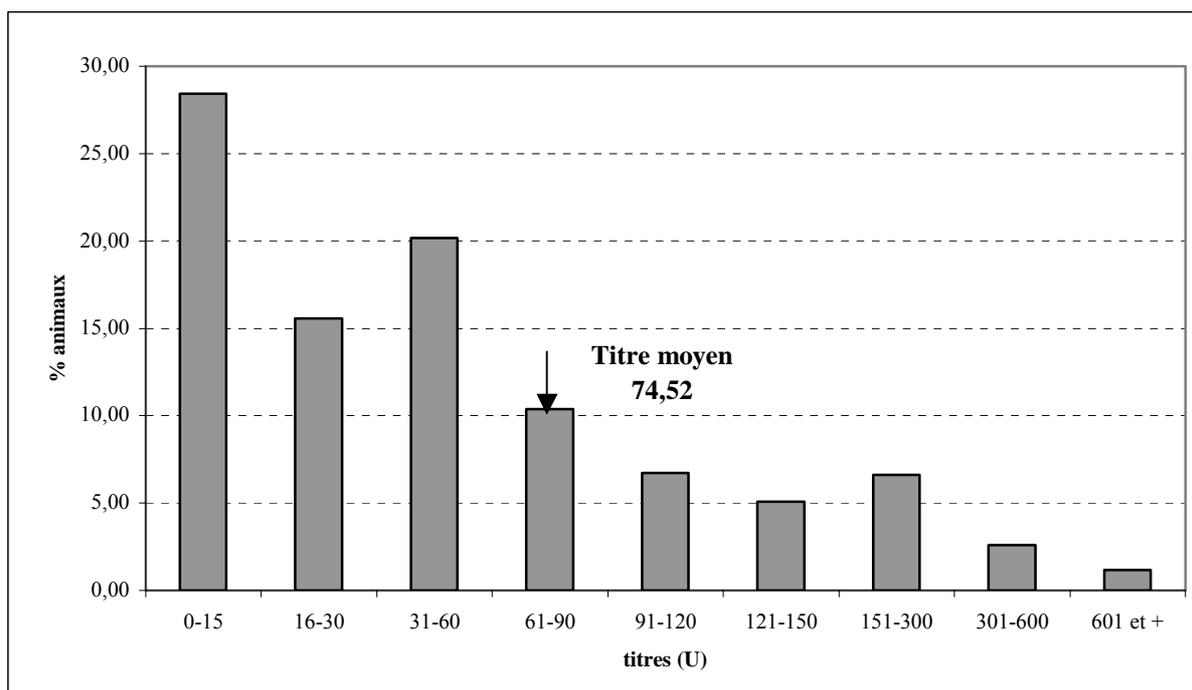


Figure 8 : Histogramme de répartition des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC des animaux de l'échantillon

Les titres sérologiques vis-à-vis de *M. mycoides* subsp *mycoides* LC sont beaucoup moins concentrés sur les faibles titres que précédemment. En effet, moins de 45 pour cent des animaux ont un titre sérologique inférieur à 30 U et un peu plus de 30 pour cent des animaux ont un titre supérieur à 60 U, valeur représentant le seuil de positivité d'une chèvre selon l'indice Savoie.

Tableau XIV : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC

	Moyenne arithmétique	Ecart-type *	Mode[°]	1^{er} Quartile	Médiane	3^{ème} quartile	Minimum	Maximum
Echantillon	73,87 U	138,4	0 U	11 U	36 U	85 U	0 U	1796 U

* Ecart-type : dispersion autour de la moyenne

° Mode : valeur la plus fréquemment rencontrée

Le titre sérologique moyen est élevé et sa valeur est de 73,87 U. Les valeurs sont très étendues et se situent entre 0 et 1796 U. La médiane et le troisième quartile sont respectivement de 36 et 85 U, donc il y a près de 40 pour cent des animaux dont le titre sérologique dépasse le seuil de positivité.

2.1.2.1.3- *M. putrefaciens*

La répartition des titres sérologiques des anticorps dirigés contre *M. putrefaciens* des animaux de l'étude et les caractéristiques de la distribution de ces titres sont exposés sur la figure 9 et dans le tableau XV.

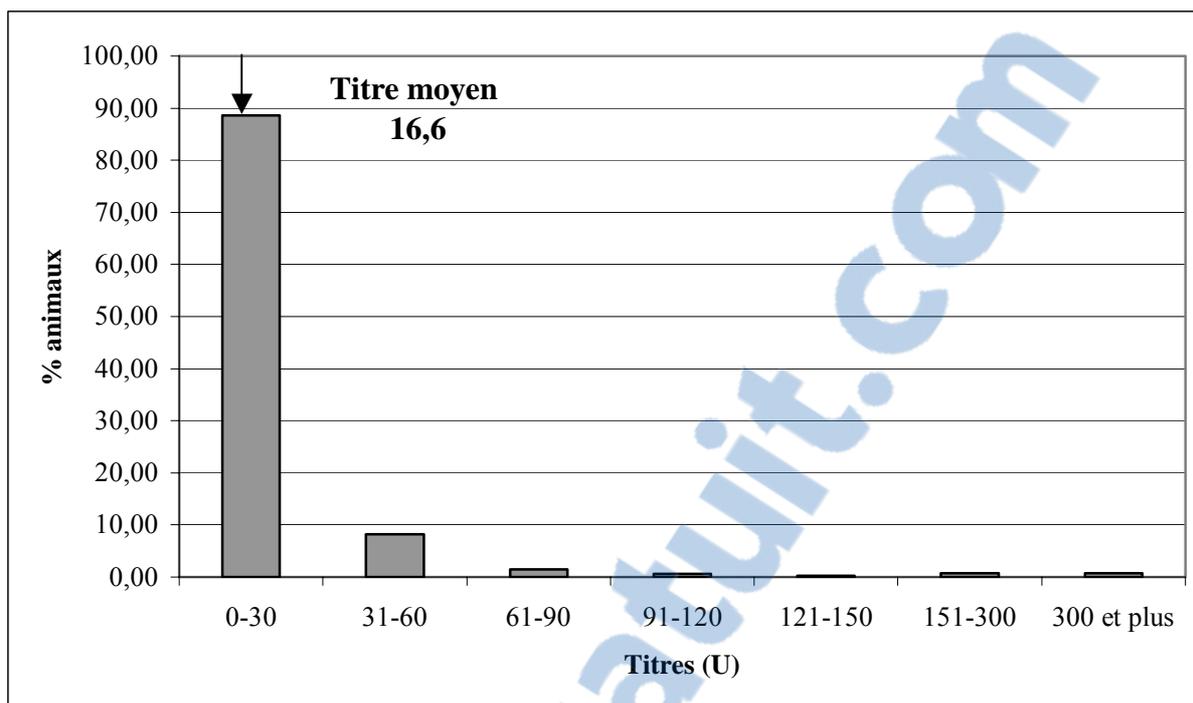


Figure 9 : Histogramme de répartition des titres sérologiques pour *M. putrefaciens* des animaux de l'échantillon

Les titres sérologiques sont très concentrés autour des valeurs basses avec plus de 95 pour cent des animaux présentant un titre sérologique inférieur à 60 U.

Tableau XV : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. putrefaciens*

	Moyenne arithmétique	Ecart-type*	Mode ^o	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile	Minimum	Maximum
Echantillon	16,6 U	47,5	0 U	2 U	6 U	15,3 U	0 U	661 U

* Ecart-type : dispersion autour de la moyenne

^o Mode : valeur la plus fréquemment rencontrée

Le titre moyen de l'échantillon est faible et vaut 16,6 U. La plupart des valeurs sont faibles étant donné que 95 pour cent des animaux ont un titre sérologique inférieur à 60 U. En revanche, quelques animaux présentent des titres sérologiques élevés et le maximum vaut 661 U.

2.1.2.1.4- *M. capricolum capricolum*

La répartition des titres sérologiques des anticorps dirigés contre *M. capricolum capricolum* des animaux de l'étude et les caractéristiques de la distribution de ces titres sont exposés sur la figure 10 et dans le tableau XVI.

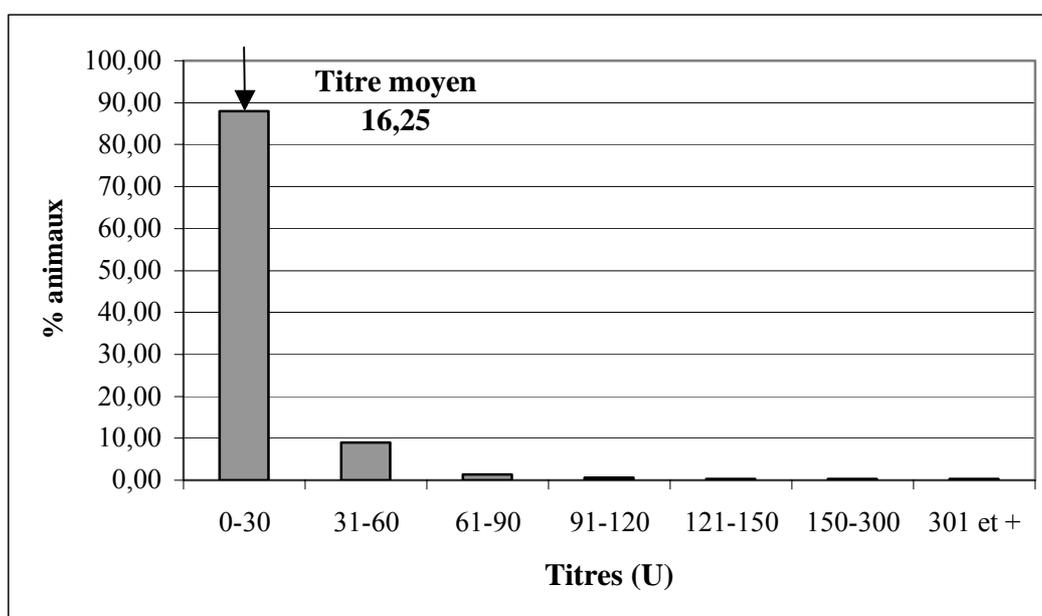


Figure 10 : Histogramme de répartition des titres sérologiques pour *M. capricolum capricolum* des animaux de l'échantillon

Les titres sérologiques sont également très concentrés autour des valeurs basses avec plus de 95 pour cent des animaux présentant un titre sérologique inférieur à 60 U.

Tableau XVI : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. capricolum capricolum*

	Moyenne arithmétique	Ecart-type *	Mode°	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile	Minimum	Maximum
Echantillon	15,9 U	54,9	0 U	0 U	6 U	17 U	0 U	1015 U

Le titre moyen de l'échantillon est faible et vaut 15,9 U. La plupart des valeurs sont faibles étant donné que 75 pour cent des animaux ont un titre sérologique inférieur à 17 U. En revanche, quelques animaux présentent des titres sérologiques élevés et le maximum vaut 1015 U.

2.1.2.2- Comparaison des titres sérologiques entre les troupeaux bactériologiquement infectés et les troupeaux bactériologiquement sains

Les divers troupeaux de l'échantillon ont été classés en 2 groupes en fonction de leurs résultats bactériologiques :

- Les troupeaux avec le lait de tank positif et/ou au moins une bactériologie individuelle positive sont considérés comme troupeaux bactériologiquement infectés (sans prendre en compte l'espèce de mycoplasme responsable de l'infection).
- Si aucune bactériologie n'est positive, le troupeau est considéré comme bactériologiquement sain.

Nous avons ensuite essayé d'étudier la distribution des titres sérologiques vis-à-vis de chaque espèce de mycoplasme au sein de chaque groupe.

2.1.2.2.1- *M. agalactiae*

Les caractéristiques de distribution des titres sérologiques de l'échantillon vis-à-vis de *M. agalactiae* en fonction du statut bactériologique des troupeaux sont fournies dans le tableau XVII et la figure 11.

Dans l'ensemble, les valeurs sont assez basses pour l'ensemble des deux populations et les valeurs ne dépassent pas 80 U pour le groupe des troupeaux infectés. La répartition des titres sérologiques au niveau des titres inférieurs à 40 U ne diffère pas entre la population saine et la population infectée. Dans le groupe des troupeaux sains, il n'y a aucun titre dépassant les 40 U alors que pour les troupeaux infectés, les titres s'étalent un peu plus et certains animaux présentent des titres plus élevés pouvant aller jusqu'à 80 U.

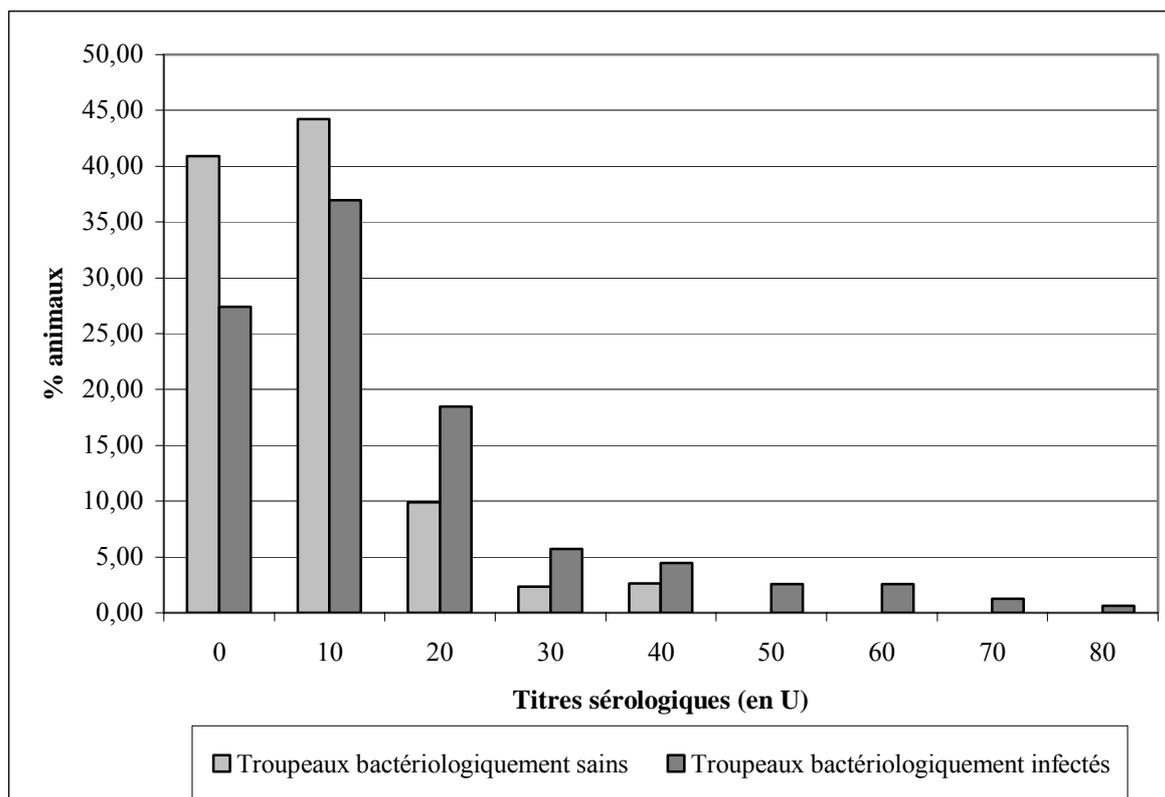


Figure 11 : Répartition des titres sérologiques pour *M. agalactiae* en fonction du statut bactériologique du troupeau

Tableau XVII : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. agalactiae* en fonction du statut bactériologique des troupeaux

	Moyenne arithmétique	Ecart-type	Mode [°]	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile	Minimum	Maximum
Troupeaux sains	5,9 U	14,06	0 U	0 U	2 U	6 U	0 U	212 U
Troupeaux infectés	10,5 U	15,04	0 U	0 U	4 U	15 U	0 U	75 U
Test de Student	3,47 ** (Réfèrece: 1,96 ddl = 37 Probabilité = 0,05)							

° Mode : valeur la plus fréquemment rencontrée

Les moyennes des titres sérologiques des troupeaux infectés et des troupeaux sains sont respectivement de 10,5 et de 5,9 U et sont significativement différentes. Les troupeaux sains ont donc une moyenne plus faible que les troupeaux infectés, mais les deux valeurs sont faibles et suggèrent que les troupeaux ne sont pas infectés par *M. agalactiae*.

Il faut noter que le maximum des troupeaux sains est supérieur à celui des troupeaux infectés, mais cela n'apparaît pas sur le graphique car cela concerne une chèvre et que le pourcentage des quelques animaux ayant une valeur haute est négligeable par rapport à ceux ayant des valeurs basses (6 animaux sur 696 possèdent un titre sérologique supérieur à 50 U).

2.1.2.2.2- *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC

Les caractéristiques de distributions des titres sérologiques de l'échantillon vis-à-vis de *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC en fonction du statut bactériologique des troupeaux sont fournies dans le tableau XVIII et la figure 12.

La répartition des titres sérologiques des troupeaux bactériologiquement sains et infectés est beaucoup plus étendue que celle de *M. agalactiae*. La répartition des titres sérologiques pour les troupeaux bactériologiquement sains reste tout de même très concentrée au niveau des titres sérologiques faibles mais les plus hautes valeurs peuvent atteindre plus de 1000 U. La répartition des titres sérologiques pour les troupeaux infectés est beaucoup plus étalée et le pourcentage d'animaux présentant un titre sérologique supérieur à 60 U est assez élevé.

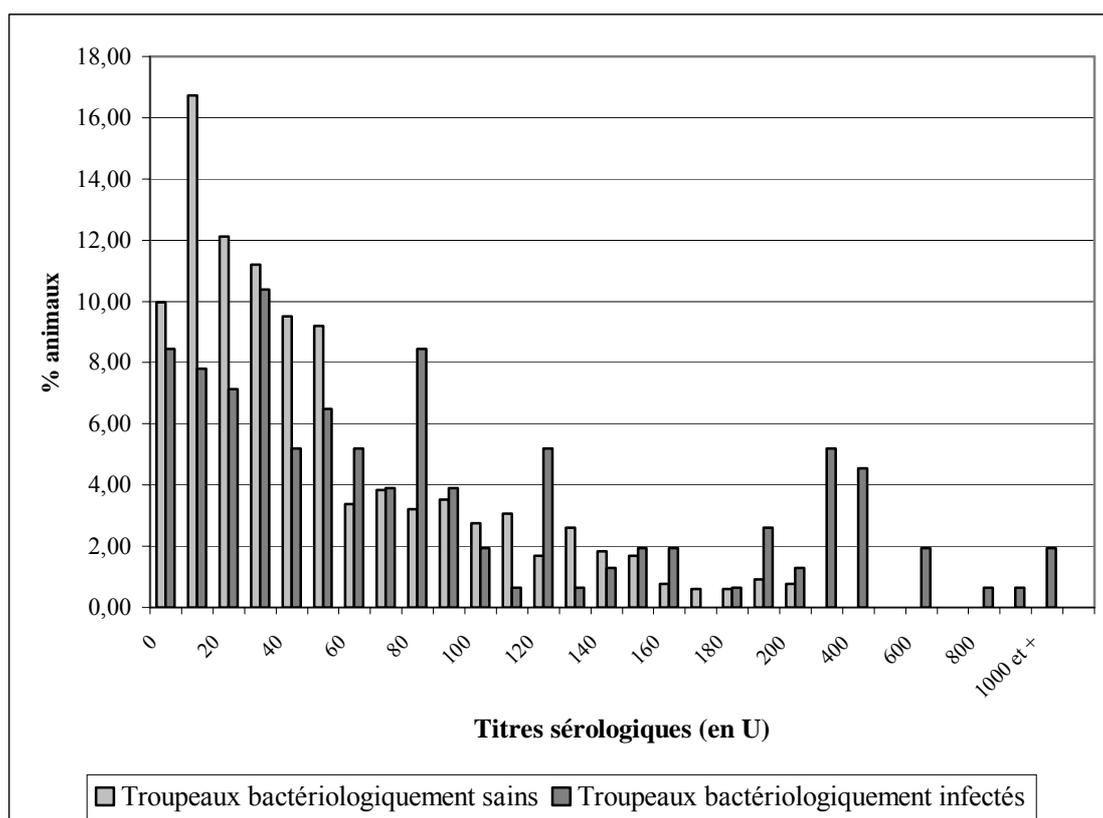


Figure 12 : Répartition des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC en fonction du statut bactériologique du troupeau

Tableau XVIII : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC en fonction du statut bactériologique des troupeaux

	Moyenne arithmétique	Ecart-type	Mode ^o	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile	Minimum	Maximum
Troupeaux sains	69,3 U	129,9	0 U	10,75 U	35 U	83,25 U	0 U	1796 U
Troupeaux infectés	119,7 U	193,4	0 U	23,5 U	56,5 U	123 U	0 U	1236 U
Test de Student	3,09 ** (Référence: 1,96 ddl = 37 Probabilité = 0,05)							

^o Mode : valeur la plus fréquemment rencontrée

Les moyennes des titres sérologiques des troupeaux infectés et des troupeaux sains sont respectivement de 119,7 et de 69,3 U et sont significativement différentes. Les troupeaux sains ont donc une moyenne plus faible que les troupeaux infectés, mais les deux valeurs sont relativement élevées et suggèrent qu'il peut y avoir une circulation de *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC au sein de nombreux troupeaux.

Il faut noter que le maximum des troupeaux sains est, là encore, supérieur à celui des troupeaux infectés. Par contre, il y a près de 50 pour cent des animaux des troupeaux infectés dont le titre sérologique est supérieur à 60 U alors que, pour les troupeaux sains, il y a 50 pour cent des animaux dont le titre sérologique est inférieur à 35 U.

2.1.2.2.3- *M. putrefaciens*

Les caractéristiques de distributions des titres sérologiques de l'échantillon vis-à-vis de *M. putrefaciens* en fonction du statut bactériologique des troupeaux sont fournies dans le tableau XIX et la figure 13.

Dans l'ensemble, les valeurs sont assez basses pour l'ensemble des deux populations et peu de valeurs dépassent le seuil des 80 U pour le groupe des troupeaux infectés. La répartition des titres sérologiques au niveau des titres inférieurs à 40 U ne diffère pas entre la population saine et la population infectée. Dans le groupe des troupeaux sains, il n'y a aucun titre dépassant les 90 U alors que pour les troupeaux infectés, les titres s'étalent un peu plus et certains animaux présentent des titres plus élevés pouvant aller jusqu'à 170 U.

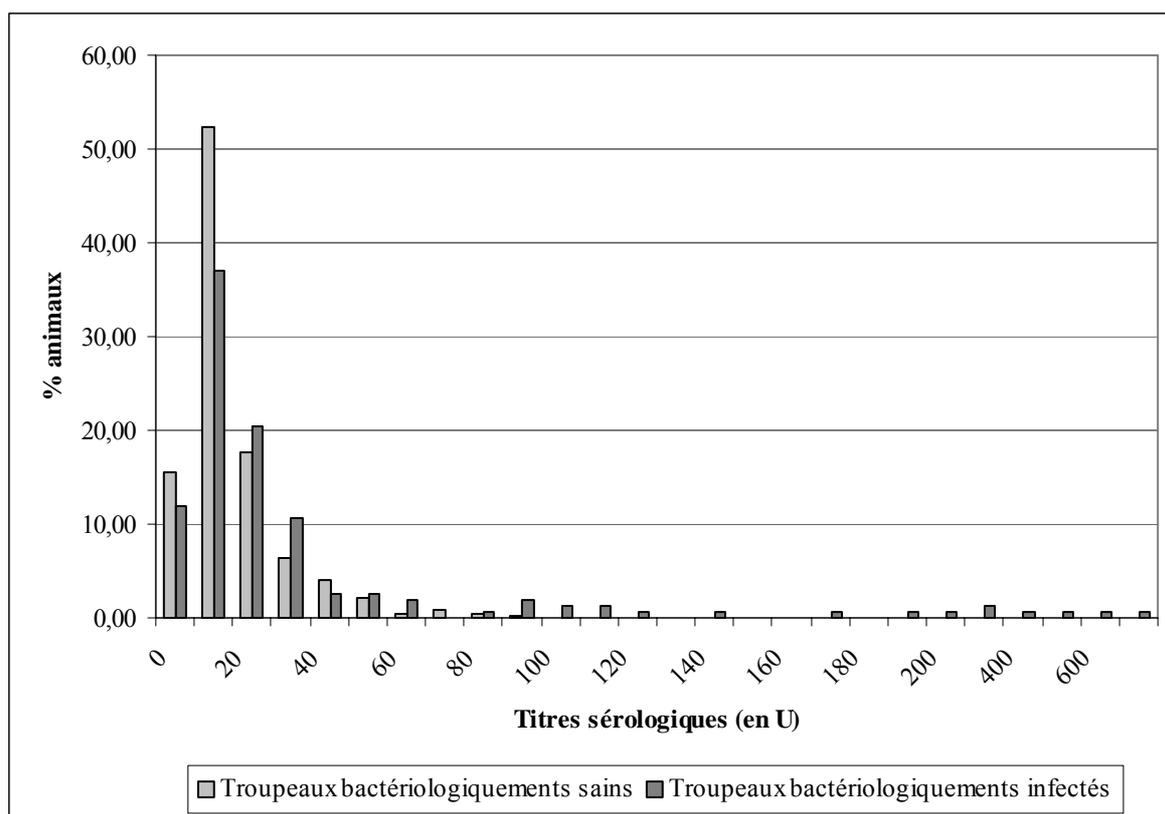


Figure 13 : Répartition des titres sérologiques pour *M. putrefaciens* en fonction du statut bactériologique du troupeau

Tableau XIX : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. putrefaciens* en fonction du statut bactériologique des troupeaux

	Moyenne arithmétique	Ecart-type	Mode ^o	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile	Minimum	Maximum
Troupeaux sains	11,3 U	19,9	0 U	2 U	6 U	13,3 U	0 U	339 U
Troupeaux infectés	40,7 U	99,1	0 U	3 U	11 U	24,3 U	0 U	661 U
Test de Student	3,67 ** (Référence: 1,96 ddl = 37 Probabilité = 0,05)		^o Mode : valeur la plus fréquemment rencontrée					

Les moyennes des titres sérologiques des troupeaux bactériologiquement infectés et des troupeaux bactériologiquement sains sont respectivement de 11,3 et de 40,7 U et sont significativement différentes. Les troupeaux sains ont donc une moyenne plus faible que les troupeaux infectés, mais les deux valeurs sont assez faibles.

Le maximum des troupeaux sains est inférieur à celui des troupeaux infectés, mais il est tout de même élevé étant donné qu'il vaut 339 U. Cette valeur n'apparaît pas sur le graphique car elle ne concerne qu'une chèvre et que les pourcentages des quelques animaux ayant une valeur haute est négligeable par rapport à ceux ayant des valeurs basses (4 animaux sur 696 possèdent un titre sérologique supérieur à 90 U).

Dans l'ensemble, les animaux possèdent des titres sérologiques faibles étant donné que 75 % des titres sérologiques sont inférieurs à 13,3 U dans le groupe sain et 24,3 U dans le groupe infecté.

Ces résultats suggèrent qu'il y a peu de troupeaux dans lesquels circulent *M. putrefaciens*.

2.1.2.2.4- *M. capricolum capricolum*

Les caractéristiques de distributions des titres sérologiques de l'échantillon vis-à-vis de *M. capricolum capricolum* en fonction du statut bactériologique des troupeaux sont fournies dans le tableau XX et la figure 14.

Dans l'ensemble, les valeurs sont assez basses pour les deux populations et peu de valeurs dépassent les 80 U pour le groupe des troupeaux infectés. La répartition des titres sérologiques est semblable entre la population saine et la population infectée et les courbes sont aussi étendues dans les deux cas.

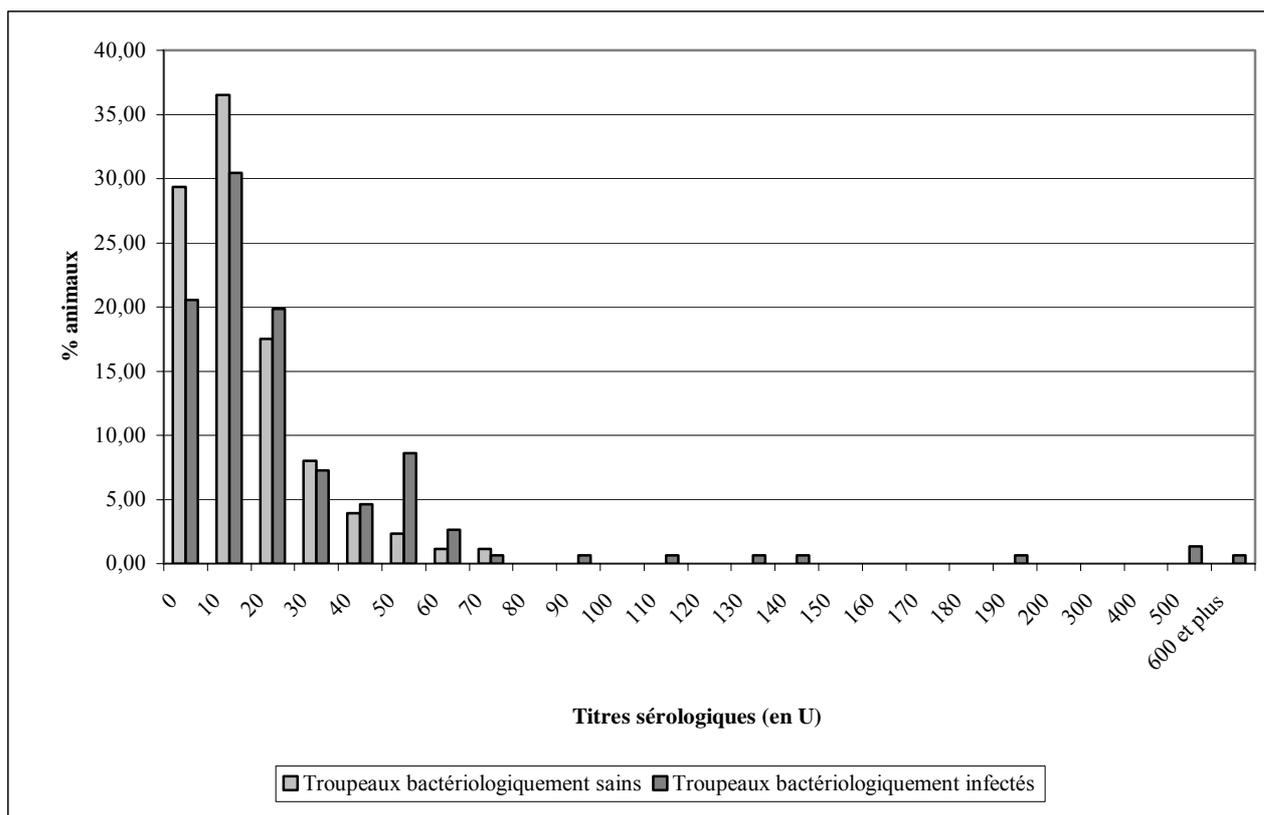


Figure 14 : Répartition des titres sérologiques pour *M. capricolum capricolum* en fonction du statut bactériologique du troupeau

Tableau XX : Caractéristiques de la distribution des titres sérologiques pour *M. capricolum capricolum* en fonction du statut bactériologique des troupeaux

	Moyenne arithmétique	Ecart-type	Mode [°]	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile	Minimum	Maximum
Troupeaux sains	13 U	39,4	0 U	0 U	5 U	16 U	0 U	927 U
Troupeaux infectés	30,8 U	96,1	0 U	2,75 U	10 U	26 U	0 U	1015 U
Test de Student	2,26 ** (Réfèrece: 1,96 ddl = 37 Probabilité = 0,05)		° Mode : valeur la plus fréquemment rencontrée					

Les moyennes des titres sérologiques des troupeaux infectés et des troupeaux sains sont respectivement de 30,8 et de 13 U et sont significativement différentes. Les troupeaux sains ont donc une moyenne plus faible que les troupeaux infectés, mais les deux valeurs sont assez faibles.

Le maximum des troupeaux sains est légèrement inférieur à celui des troupeaux infectés, mais il est tout de même élevé étant donné qu'il vaut 927 U. Ces valeurs hautes n'apparaissent pas sur le graphique car elles ne concernent qu'une chèvre et que le pourcentage des quelques animaux ayant une valeur haute est négligeable par rapport à ceux ayant des valeurs basses (10 animaux sur 696 possèdent un titre sérologique supérieur à 70 U au sein des troupeaux sains et 6 animaux sur 152 possèdent un titre sérologique supérieur à 120 U au sein des troupeaux infectés).

Dans l'ensemble, les animaux possèdent des titres sérologiques faibles étant donné que 75 % des titres sérologiques sont inférieurs à 16 U dans le groupe sain et 26 U dans le groupe infecté.

Ces résultats suggèrent qu'il y a peu de troupeaux dans lesquels circulent *M. capricolum capricolum*.

2.2- Mise au point d'un indice sérologique pour les cheptels

Un des principaux objectifs de notre étude est de réussir à mettre en place un indice sérologique pour le troupeau à partir des résultats sérologiques individuels. Cet indice permet d'avoir une vision de la situation des cheptels vis-à-vis des mycoplasmoses caprines autre que la bactériologie et pourrait être la base d'une éventuelle prophylaxie sanitaire.

2.2.1- Comparaison des trois indices et choix de l'indice le plus représentatif

2.2.1.1- Nombres d'animaux positifs

Nous avons, dans un premier temps, cherché à déterminer le nombre d'animaux positifs, antigène par antigène, en s'appuyant sur les classes de titres employées pour les calculs des trois indices affectés d'un coefficient 0 (animaux sains), soit 0 – 30 U, 0 – 40 U et 0 – 50 U (seuils de positivité). Ces résultats figurent dans le tableau XXI.

Tableau XXI : Nombres de sérologies positives selon les trois indices

	Espèce de mycoplasme	Nombre d'animaux positifs	Total (sur 858)
Indice 1	<i>M. mycoides</i>	488	734
	<i>M. putrefaciens</i>	100	
	<i>M. capricolum</i>	106	
	<i>M. agalactiae</i>	40	
Indice 2	<i>M. mycoides</i>	402	548
	<i>M. putrefaciens</i>	59	
	<i>M. capricolum</i>	67	
	<i>M. agalactiae</i>	20	
Indice 3	<i>M. mycoides</i>	324	420
	<i>M. putrefaciens</i>	39	
	<i>M. capricolum</i>	43	
	<i>M. agalactiae</i>	14	

Le nombre d'animaux positifs détecté par les différents critères varie beaucoup d'un critère à l'autre. Il y a 186 animaux d'écart entre l'indice 1 et l'indice 2 et 314 animaux d'écart entre l'indice 1 et l'indice 3.

Les figures 15, 16 et 17 représentent les histogrammes de répartition des troupeaux selon le pourcentage d'animaux positifs selon les critères des trois indices.

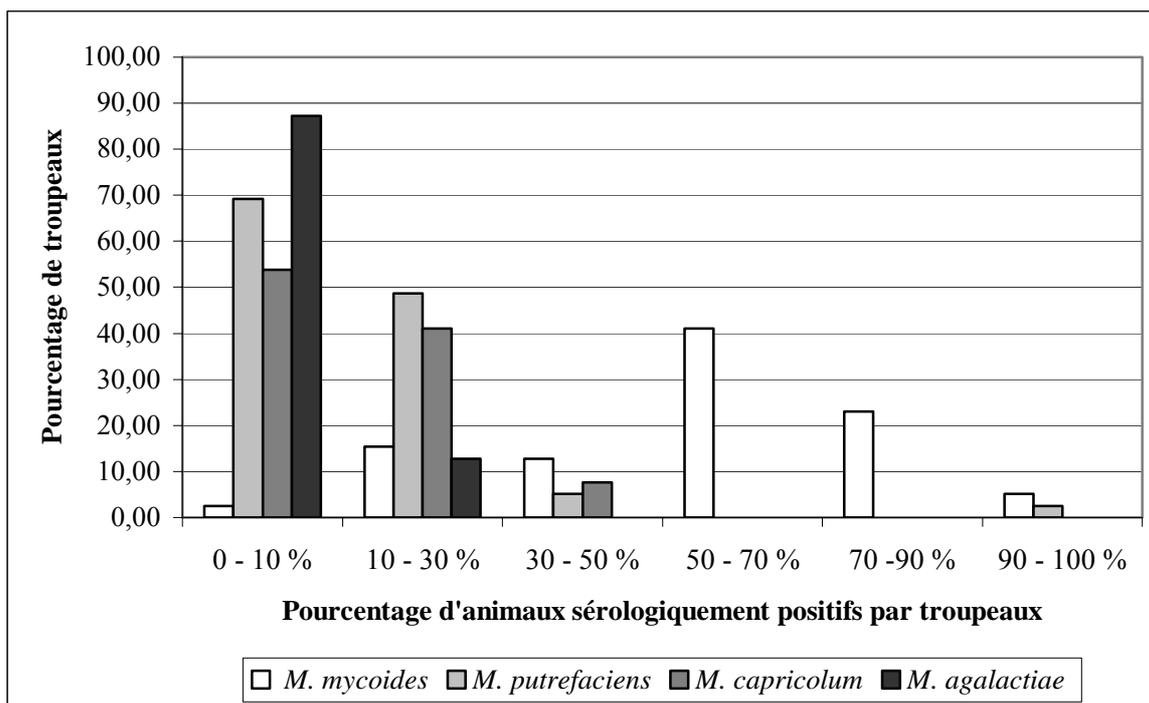


Figure 15 : Répartition des troupeaux selon le pourcentage d'animaux positifs avec les critères de l'indice 1

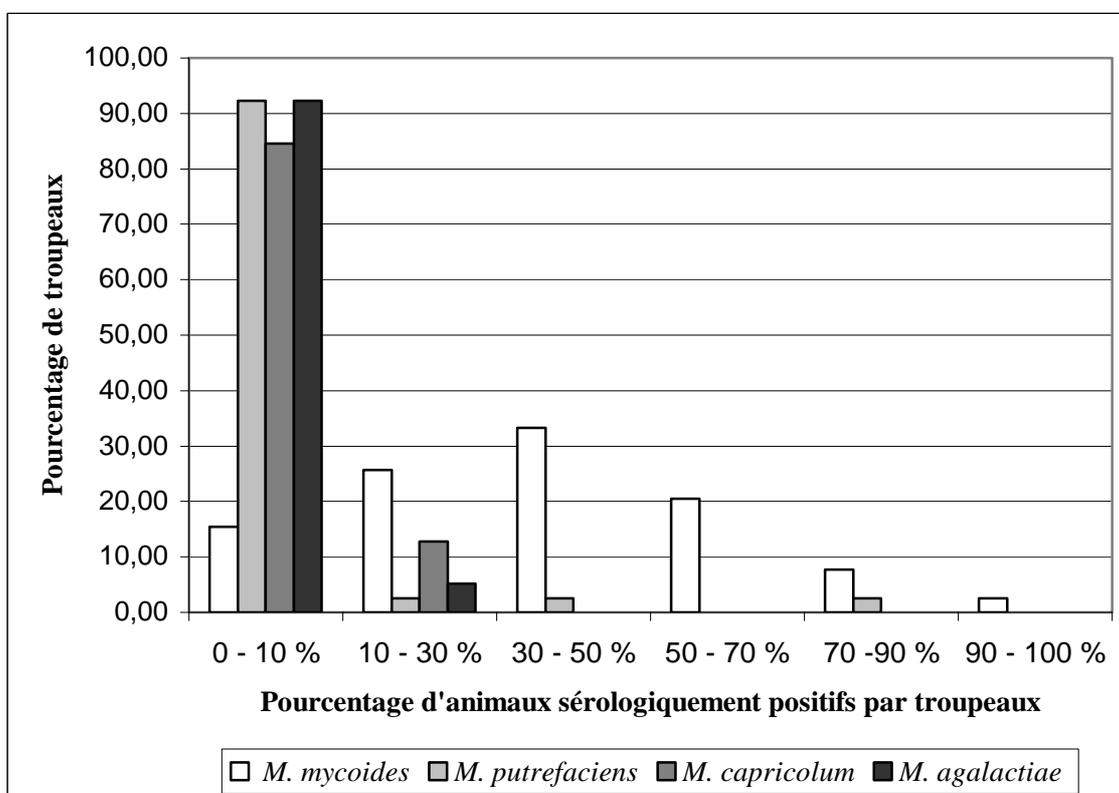


Figure 16 : Répartition des troupeaux selon le pourcentage d'animaux positifs avec les critères de l'indice 2

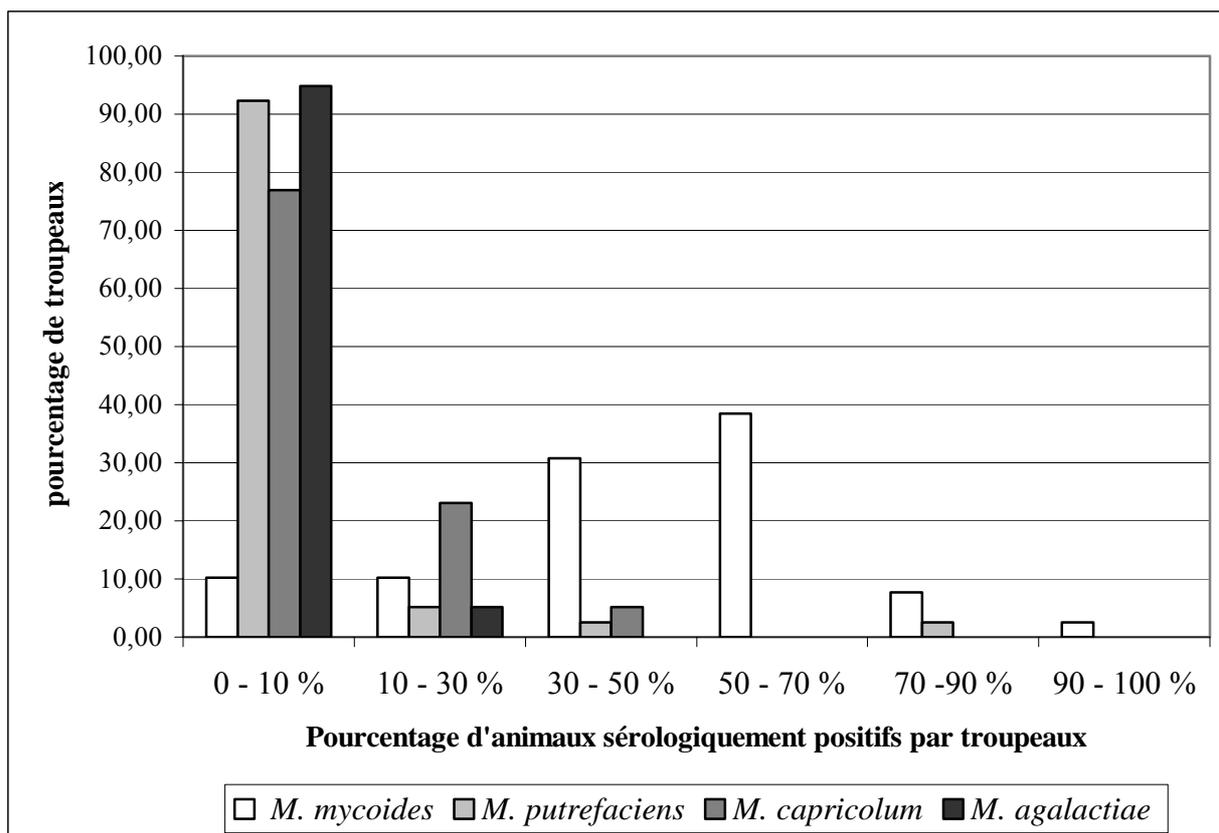


Figure 17 : Répartition des troupeaux selon le pourcentage d'animaux positifs avec les critères de l'indice 3

Si l'on considère les résultats pour *M. agalactiae*, *M. putrefaciens* et *M. capricolum capricolum*, les figures précédentes montrent que la majorité des troupeaux présentent entre 0 et 10 % d'animaux positifs avec les indices 2 et 3, et que peu de troupeaux sont très atteints. Avec l'indice 1, la proportion d'animaux positifs et la proportion de troupeaux dans chaque catégorie sont plus étalées.

Cependant, la différence de répartition des animaux positifs selon l'indice choisi est moins accentuée pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC.

2.2.1.2- Calcul des indices de troupeaux

Nous avons calculé les trois indices décrits dans la partie "matériel et méthodes" pour chaque troupeau. Les différents indices trouvés sont présentés en annexe.

Il est possible d'observer une répartition des statuts très différente d'un indice à l'autre.

2.2.1.3- Répartition des troupeaux selon les indices

Nous avons confronté les résultats des calculs d'indices aux statuts bactériologiques des élevages. Ces résultats figurent sur les figures 18, 19 et 20.

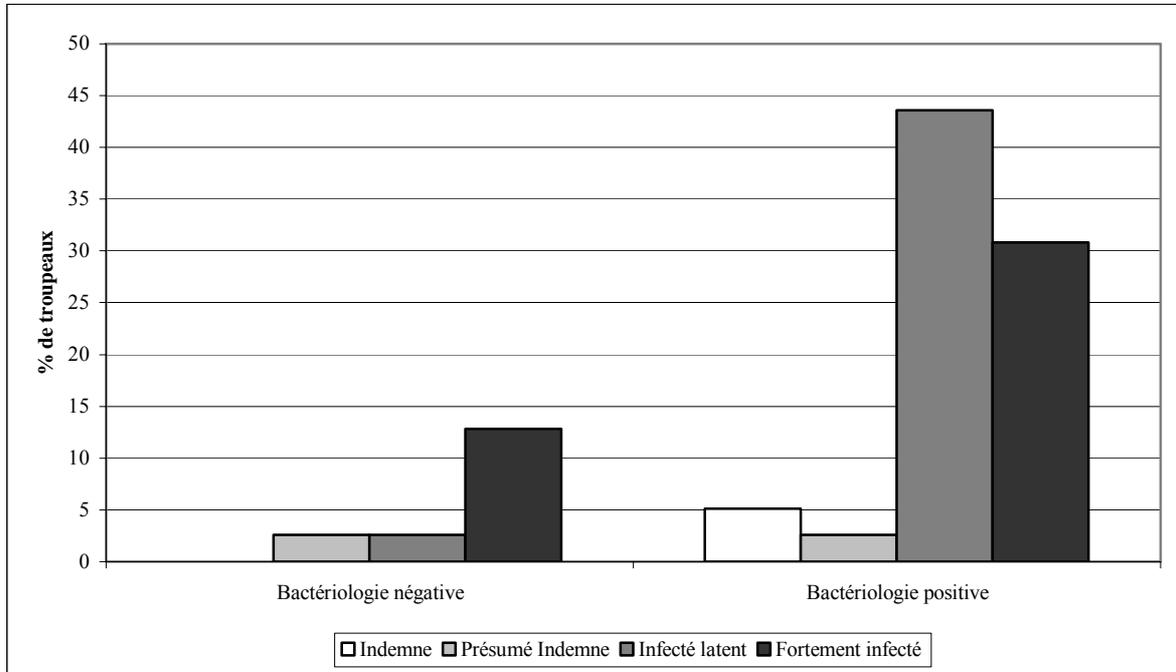


Figure 18 : Répartition des troupeaux selon les critères de l'indice 1

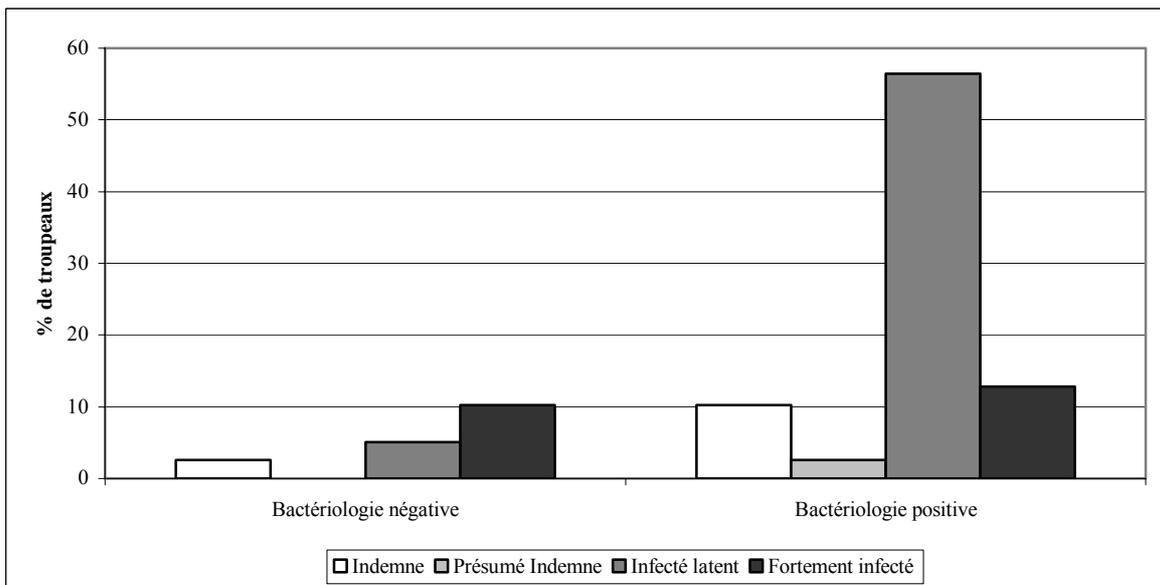


Figure 19 : Répartition des troupeaux selon les critères de l'indice 2

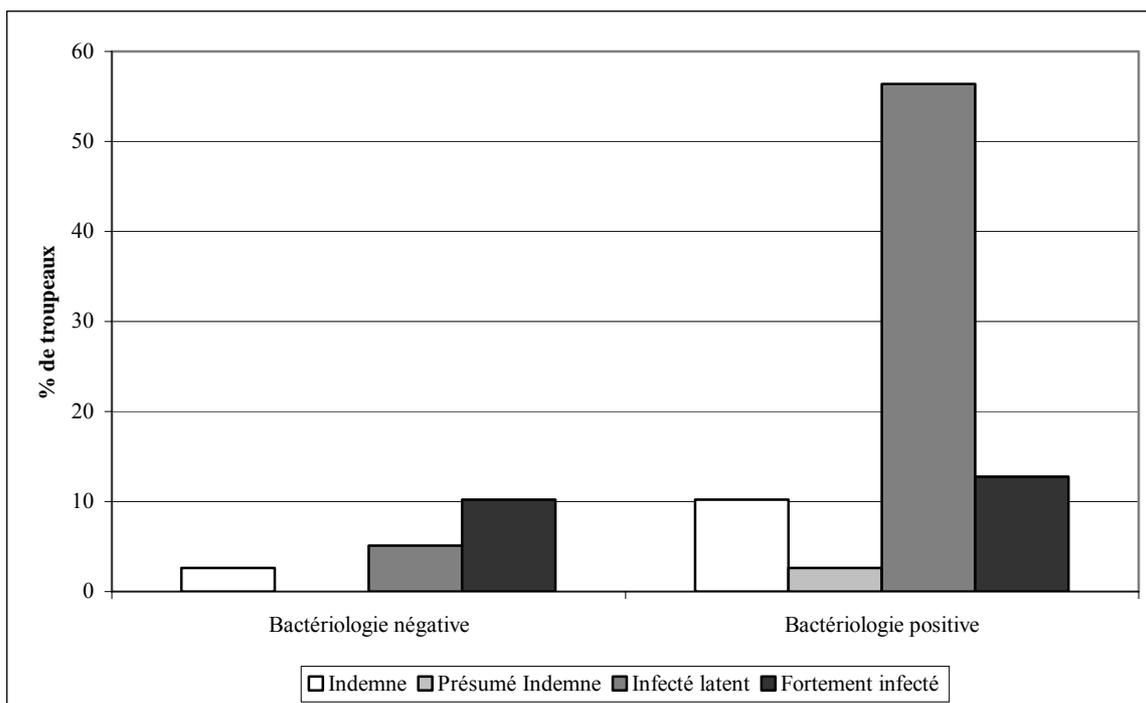


Figure 20 : Répartition des troupeaux selon les critères de l'indice 3

Avec les indices 2 et 3, on peut noter la présence d'un élevage indemne dans la catégorie des élevages à bactériologie positive, alors que cet élevage ressort présumé indemne avec l'indice 1. En revanche, en ce qui concerne les élevages à bactériologie négative, il est possible de noter que plus d'élevages ressortent infectés avec l'indice 1 qu'avec les deux autres.

2.2.1.4- Choix du meilleur indice

Afin de pouvoir choisir l'indice le plus représentatif de notre zone de collecte, nous avons calculé les sensibilités, spécificités et valeur globale de chacun des indices par rapport à la bactériologie. Ces résultats figurent dans le tableau XXII.

Tableau XXII : Résultats de validité des différents indices calculés

		Sensibilité	Spécificité	Valeur globale
Indice 1	<i>< 0,5</i>	85,7	9,4	23,1
	<i>> ou = 5</i>	71,4	62,5	64,1
Indice 2	<i>< 0,5</i>	85,7	15,6	28,2
	<i>> ou = 5</i>	57,1	84,3	79,5
Indice 3	<i>< 0,5</i>	85,7	26,6	35,6
	<i>> ou = 5</i>	42,8	90,0	76,9

Avant de conclure sur l'indice qui nous convient le mieux, rappelons que nous sommes dans une situation où nous voulons éventuellement faire un test de dépistage et que nous avons considéré que les résultats bactériologiques correspondaient aux statuts des élevages. Or, nous avons vu en première partie que les animaux n'excrètent pas en continu et donc nous pouvons avoir des faux négatifs en bactériologie.

Dans notre cas, il est intéressant d'avoir un indice ayant une bonne sensibilité et une spécificité correcte. Dans notre étude, nous avons opté pour l'indice 1 (description dans la partie matériel et méthode) car les sensibilités sont bonnes et la spécificité lorsque « l'indice est supérieur ou égal à 5 » est correcte. Par contre, la sensibilité pour $I < 0,5$ est mauvaise, mais elle est également mauvaise pour les autres indices.

2.2.2- Bilan : statut sérologique des troupeaux

Nous venons donc de voir que l'indice sérologique le plus représentatif de la situation des troupeaux dans la région de collecte est l'indice mis en place en Savoie et Haute-Savoie sur les caprins laitiers. Nous avons donc pu attribuer un statut sérologique vis-à-vis de quatre mycoplasmes caprins aux élevages de notre étude. Le tableau XXIII résume l'indice maximal des troupeaux parmi les quatre espèces et l'espèce de mycoplasme concernée.

Tableau XXIII : Indice maximal parmi les quatre espèces de mycoplasmes et espèce concernée

Numéro de dossier	Indice sérologique maximum	Statut du troupeau	Espèce de mycoplasme
263	14,35	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
264	6,25	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
265	8,05	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
266	9,23	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
267	7,86	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
268	4,95	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
269	9,55	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
270	5,86	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
271	6,91	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
341	1,73	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
342	0,05	Indemne	-
343	6,52	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
344	9,08	Fortement infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
345	0,45	Infecté latent	<i>M. capricolum</i>
346	2,00	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
347	4,05	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
348	1,05	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
349	2,33	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
351	0,64	Présumé indemne	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
352	5,50	Fortement Infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
356	3,77	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
357	1,00	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
358	0,27	Indemne	-
359	2,59	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
360	6,32	Fortement Infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
361	3,45	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
362	4,86	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
363	12,82	Fortement Infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
388	2,95	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
389	1,41	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
390	2,32	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
391	0,45	Présumé indemne	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
392	2,32	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
393	17,77	Fortement Infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
394	4,23	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
395	7,32	Fortement Infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
396	11,82	Fortement Infecté	<i>M. putrefaciens</i>
397	4,77	Infecté latent	<i>M. m. subsp. m. LC</i>
118	6,71	Fortement Infecté	<i>M. m. subsp. m. LC</i>

Pour la suite, nous considèrerons qu'un élevage est sérologiquement infecté lorsque son statut sérologique est « infecté latent » ou « fortement infecté ».

Ces résultats montrent la présence des principaux mycoplasmes caprins en région centre. D'un point de vue sérologique, le mycoplasme largement prédominant en région centre est *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC. Quelques élevages sont également majoritairement infectés par *M. putrefaciens* et *M. capricolum capricolum* ; en revanche, aucun élevage n'est majoritairement infecté par *M. agalactiae*. La proportion de troupeaux atteints mise en évidence par la sérologie est présentée dans le tableau XXIV.

Tableau XXIV : Proportion de troupeaux atteints mise en évidence avec la sérologie au sein de l'échantillon et de la population

	Sérologie
Proportion de troupeaux atteints sur l'échantillon	89,7 % (35 sur 39)
Intervalle de confiance (risque à 5 %)	79,7 % – 99,7 %
Précision absolue	10
Précision relative	11,1 %

La proportion de troupeaux sérologiquement infectés par un mycoplasme quelle que soit l'espèce de celui-ci est très importante et s'élève à près de 90 %. La majorité des élevages de l'échantillon sont donc soit « infecté latent », soit « fortement infecté ».

L'extrapolation des résultats de l'échantillon à la population grâce au calcul des intervalles de confiance à 95 % montre que ces intervalles sont plus resserrés. En effet, la prévalence au sein de la population s'élève à 89,7 % avec une fourchette allant de 79,7 % à 99,7 %. Ce résultat est assez précis étant donné que la précision absolue est de 11,1 %. Les résultats obtenus en sérologie sur l'échantillon sont donc extrapolables à la population.

Les résultats mis en évidence par l'étude permettent également d'étudier la répartition de la prévalence (un élevage est atteint lorsque son statut est infecté latent ou fortement infecté) des différentes espèces de mycoplasmes au sein de l'échantillon et de la population. Ces données sont présentées dans le tableau XXV.

Tableau XXV : Répartition des prévalences obtenues par la sérologie des différentes espèces de mycoplasmes au sein de l'échantillon et de la population

	<i>M. agalactiae</i>	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> LC	<i>M. putrefaciens</i>	<i>M. capricolum</i>
Nombre d'élevages infectés	7,7 % (3 sur 39)	84,6 % (33 sur 39)	10,3 % (4 sur 39)	17,9 % (7 sur 39)
Intervalle de confiance (risque à 5 %)	2 % – 20 %	78 % – 90 %	3 % – 24 %	7 % – 33 %
Précision absolue	9	6	10,5	13,5
Précision relative	117 %	7,1 %	102 %	75 %

L'espèce de mycoplasme circulant le plus dans les élevages est *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC (85 %). Ensuite viennent *M. capricolum capricolum* (17,9 %), *M. putrefaciens* (10,3 %) et enfin *M. agalactiae* (7,7 %).

Suivant la prévalence obtenue, l'extrapolation des résultats de l'échantillon à la population varie. En effet, lorsque la prévalence de l'échantillon est élevée (pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC), l'intervalle de confiance à 95 % et les précisions absolue et relative sont correctes et permettent d'extrapoler à la population d'origine. En revanche, pour les autres espèces, la précision est moins bonne et les résultats sont plus difficilement extrapolables à la population d'origine.

2.3- Comparaison des méthodes sérologique et bactériologique pour le diagnostic des mycoplasmoses.

Dans cette partie, nous allons comparer les deux méthodes de dépistage dont nous disposons, l'une par rapport à l'autre. Un résumé des résultats bactériologiques et des résultats sérologiques majoritaires est exposé dans le tableau XXVI.

Tableau XXVI : Résumé des principaux résultats bactériologiques et sérologiques

N° de dossier	Résultat bactériologique	Indice sérologique	Espèce de mycoplasme	Statut sérologique
263	<i>M. putrefaciens</i>	2,85 14,35	Infecté latent Fortement infecté	<i>M. putrefaciens</i> <i>Mmm LC</i>
264	-	6,25	Fortement infecté	<i>Mmm LC</i>
265	-	8,05	Fortement infecté	<i>Mmm LC</i>
266	-	9,23	Fortement infecté	<i>Mmm LC</i>
267	-	7,86	Fortement infecté	<i>Mmm LC</i>
268	-	4,95	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
269	-	9,55	Fortement infecté	<i>Mmm LC</i>
270	<i>M. putrefaciens</i>	0 5,86	Indemne Fortement infecté	<i>M. putrefaciens</i> <i>Mmm LC</i>
271	-	6,91	Fortement infecté	<i>Mmm LC</i>
341	-	1,73	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
342	-	0,05	Indemne	-
343	-	6,52	Fortement infecté	<i>Mmm LC</i>
344	-	9,08	Fortement infecté	<i>Mmm LC</i>
345	<i>M. capricolum</i>	0,45	Présumé indemne	<i>M. capricolum</i>
346	-	2,00	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
347	-	4,05	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
348	-	1,05	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
349	-	2,33	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
351	-	0,64	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
352	-	5,50	Fortement Infecté	<i>Mmm LC</i>
356	-	3,77	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
358	-	0,27	Indemne	-
359	-	2,59	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
360	-	6,32	Fortement Infecté	<i>Mmm LC</i>
361	-	3,45	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
362	-	4,86	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
363	<i>M. capricolum</i>	0,41 12,82	Présumé indemne Fortement Infecté	<i>M. capricolum</i> <i>Mmm LC</i>
388	-	2,95	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
389	-	1,41	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
390	-	2,32	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
391	-	0,45	Présumé indemne	<i>Mmm LC</i>
392	-	2,32	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
393	-	17,77	Fortement Infecté	<i>Mmm LC</i>
394	-	4,23	Infecté latent	<i>Mmm LC</i>
395	-	7,32	Fortement Infecté	<i>Mmm LC</i>
396	<i>M. putrefaciens</i> et <i>Mmm LC</i>	11,82 8,95	Fortement Infecté Fortement Infecté	<i>M. putrefaciens</i> <i>Mmm LC</i>
397	<i>M. putrefaciens</i>	0,23 4,77	Indemne Infecté latent	<i>M. putrefaciens</i> <i>Mmm LC</i>
118	<i>M. putrefaciens</i>	0,13 6,71	Indemne Fortement infecté	<i>M. putrefaciens</i> <i>Mmm LC</i>

Nous allons séparer cette comparaison en deux parties. Tout d'abord, nous considérerons que le test de référence sera la bactériologie (un troupeau sera infecté si un mycoplasme a été isolé en bactériologie) et nous étudierons la valeur du test sérologique comme test de dépistage. Dans un deuxième temps, nous considérerons que le test de référence est le test sérologique et nous étudierons alors la valeur de la bactériologie comme test de dépistage.

2.3.1- Analyse factorielle du test sérologique

2.3.1.1

2.3.1.2- *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC

Les résultats obtenus sur les 39 troupeaux de notre échantillon sont exposés dans le tableau XXVIII.

Tableau XXVIII : résultats de l'échantillon pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC

		Résultats bactériologiques		
		<i>Positif</i>	<i>Négatif</i>	
Résultats sérologiques	<i>Positif</i>	1	34	35
	<i>Négatif</i>	0	4	4
		1	38	39

Les caractéristiques du test sérologique pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC sont les suivantes :

$$Se = 1 / 1 = 1 \quad Sp = 4 / 38 = 0,11 \quad VPP = 1 / 35 = 0,03 \quad VPN = 4 / 4 = 1$$

La sensibilité du test pour *M. mycoides* subsp. *Mycoides* LC est bonne (valeur = 1). La spécificité du test sérologique est mauvaise et s'élève à 0,11. La valeur prédictive positive est mauvaise (valeur = 0,03). La valeur prédictive négative est en revanche très bonne (valeur = 1).

2.3.1.2- *M. putrefaciens*

Les résultats obtenus sur les 39 troupeaux de notre échantillon sont exposés dans le tableau XXIX.

Tableau XXIX : Résultats de l'échantillon pour *M. putrefaciens*

		Résultats bactériologiques		
		<i>Positif</i>	<i>Négatif</i>	
Résultats sérologiques	<i>Positif</i>	2	2	4
	<i>Négatif</i>	3	32	35
		5	34	39

Les caractéristiques du test sérologique pour *M. putrefaciens* sont les suivantes :

$$Se = 2 / 5 = 0,40 \quad Sp = 32 / 34 = 0,94 \quad VPP = 2 / 4 = 0,50 \quad VPN = 32 / 35 = 0,91$$

La sensibilité du test pour *M. putrefaciens* est moyenne (valeur = 0,40). La spécificité du test sérologique est bonne et s'élève à 0,94. La valeur prédictive positive est moyenne (valeur = 0,50). La valeur prédictive négative est en revanche bonne (valeur = 0,91).

2.3.1.3- *M. capricolum capricolum*

Les résultats obtenus sur les 39 troupeaux de notre échantillon sont exposés dans le tableau XXX.

Tableau XXX : Résultats de l'échantillon pour *M. capricolum capricolum*

		Résultats bactériologiques		
		<i>Positif</i>	<i>Négatif</i>	
Résultats sérologiques	<i>Positif</i>	0	7	7
	<i>Négatif</i>	2	30	32
		2	37	39

Les caractéristiques du test sérologique pour *M. capricolum capricolum* sont les suivantes :

$$Se = 0 / 2 = 0 \quad Sp = 30 / 37 = 0,81 \quad VPP = 0 / 7 = 0 \quad VPN = 30 / 32 = 0,94$$

La sensibilité du test pour *M. capricolum capricolum* est mauvaise (valeur = 0). La spécificité du test sérologique est bonne et s'élève à 0,81. La valeur prédictive positive est mauvaise (valeur = 0). La valeur prédictive négative est en revanche bonne (valeur = 0,94).

2.3.2- Analyse factorielle du test bactériologique

2.3.2.1- *M. agalactiae*

Les résultats obtenus sur les 39 troupeaux de notre échantillon sont exposés dans le tableau XXXI.

Tableau XXXI : Résultats de l'échantillon pour *M. agalactiae*

		Résultats sérologiques		
		Positif	Négatif	
Résultats bactériologiques	Positif	0	0	0
	Négatif	3	36	36
		3	36	39

Les caractéristiques du test bactériologique pour *M. agalactiae* sont les suivantes :

$$Se = 0 / 3 = 0 \quad Sp = 36 / 36 = 1 \quad VPP = 0 / 0 = \text{NC} \quad VPN = 36 / 39 = 0,92$$

NC = Non Calculable

La sensibilité du test pour *M. agalactiae* est mauvaise (valeur = 0). La spécificité du test bactériologique est bonne et s'élève à 1. La valeur prédictive positive ne peut être réellement calculée étant donné que les deux résultats qui permettent de calculer cette valeur sont nuls. La valeur prédictive négative est en revanche bonne (valeur = 0,92).

2.3.2.2- *M. mycoides subsp. mycoides* LC

Les résultats obtenus sur les 39 troupeaux de notre échantillon sont exposés dans le tableau XXXII.

Tableau XXXII : Résultats de l'échantillon pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC

		Résultats bactériologiques		
		<i>Positif</i>	<i>Négatif</i>	
Résultats sérologiques	<i>Positif</i>	1	34	35
	<i>Négatif</i>	0	4	4
		1	38	39

Les caractéristiques du test bactériologique pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC sont les suivantes :

$$Se = 1 / 1 = 1 \quad Sp = 4 / 38 = 0,11 \quad VPP = 1 / 35 = 0,03 \quad VPN = 4 / 4 = 1$$

La sensibilité du test pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC est bonne (valeur = 1). La spécificité du test bactériologique est mauvaise et s'élève à 0,11. La valeur prédictive positive est mauvaise (valeur = 0,03). La valeur prédictive négative est en revanche bonne (valeur = 1).

2.3.2.3- *M. putrefaciens*

Les résultats obtenus sur les 39 troupeaux de notre échantillon sont exposés dans le tableau XXXIII.

Tableau XXXIII : Résultats de l'échantillon pour *M. putrefaciens*

		Résultats bactériologiques		
		<i>Positif</i>	<i>Négatif</i>	
Résultats sérologiques	<i>Positif</i>	2	3	5
	<i>Négatif</i>	2	32	34
		4	35	39

Les caractéristiques du test bactériologique pour *M. putrefaciens* sont les suivantes :

$$Se = 2 / 4 = 0,50 \quad Sp = 32 / 35 = 0,91 \quad VPP = 2 / 5 = 0,40 \quad VPN = 32 / 34 = 0,94$$

La sensibilité du test pour *M. putrefaciens* est moyenne (valeur = 0,50). La spécificité du test bactériologique est bonne et s'élève à 0,91. La valeur prédictive positive est moyenne (valeur = 0,40). La valeur prédictive négative est en revanche bonne (valeur = 0,94).

2.3.2.4- *M. capricolum capricolum*

Les résultats obtenus sur les 39 troupeaux de notre échantillon sont exposés dans le tableau XXXIV.

Tableau XXXIV : Résultats de l'échantillon pour *M. capricolum capricolum*

		Résultats bactériologiques		
		<i>Positif</i>	<i>Négatif</i>	
Résultats sérologiques	<i>Positif</i>	0	2	2
	<i>Négatif</i>	7	30	37
		7	32	39

Les caractéristiques du test sérologique pour *M. capricolum capricolum* sont les suivantes :

$$Se = 0 / 7 = 0 \quad Sp = 30 / 32 = 0,94 \quad VPP = 0 / 2 = 0 \quad VPN = 30 / 37 = 0,81$$

La sensibilité du test pour *M. capricolum capricolum* est mauvaise (valeur = 0). La spécificité du test bactériologique est bonne et s'élève à 0,94. La valeur prédictive positive est mauvaise (valeur = 0). La valeur prédictive négative est en revanche bonne (valeur = 0,81).

2.3.3- Bilan

Les résultats obtenus sur notre échantillon pour les tests sérologiques et bactériologiques font ressortir une bonne spécificité pour les deux tests, hormis pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC. La sensibilité est très variable d'une espèce à l'autre mais est globalement plutôt mauvaise. Enfin, les valeurs prédictives négatives sont plutôt bonnes alors, qu'au contraire, les valeurs prédictives positives sont mauvaises.

3- Discussion

3.1- Le protocole

Il est important de se demander si le protocole d'étude permet de répondre aux objectifs fixés initialement. Nos objectifs étaient d'étudier la prévalence des mycoplasmoses caprines dans la région de collecte de la laiterie Triballat, de trouver l'espèce de mycoplasme majoritairement présente dans cette région et de comparer les outils de dépistage dont nous disposions, à savoir la bactériologie et la sérologie.

3.1.1- L'échantillonnage

3.1.1.1- Les élevages

Pour réaliser cette étude, il m'a fallu faire plus de 5000 km pour récolter les échantillons et les emmener à l'AFSSA de Niort pour les analyser. Ceci a posé quelques problèmes de stockage des prélèvements durant les journées de collectes (il fallait faire 4 élevages par jour) et durant le voyage jusqu'à Niort. Nous avons eu la chance de faire ces prélèvements en septembre, octobre et novembre et nous avons donc bénéficié de conditions climatiques permettant la conservation des prélèvements au frais toute la journée dans une glacière.

Par ailleurs, nous avons été confrontés au problème que certains élevages tarissent leurs chèvres à l'automne et ils ne pouvaient donc pas être inclus dans notre étude. En outre, d'autres éleveurs qui avaient été tirés au sort n'ont pas voulu participer à cette étude et nous avons été obligés de faire un deuxième tirage au sort. La taille des élevages était très variable (de 22 chèvres au minimum à plus de 300 chèvres, mais avec une moyenne de 80 chèvres traites), avec quelques élevages qui possédaient également en parallèle une production fromagère de crottins de Chavignol. Au final, les élevages prélevés se situaient dans des périodes de lactation très différentes puisque les élevages désaisonnant leur animaux étaient en début de lactation alors que les autres étaient en fin de lactation. Etant donné que nous avons peu de résultats bactériologiques positifs à la fin de la première collecte, il a été décidé de réaliser un deuxième prélèvement de lait de tank en mai 2002, soit en début de lactation pour les élevages ne désaisonnant pas, afin de voir si après le stress de la mise-bas, nous ne trouverions pas plus de bactériologies positives.

Nous nous étions fixé comme objectif de prélever entre 30 et 40 élevages, et, en pratique, nous en avons prélevé 39. L'objectif a donc été atteint. Malheureusement, étant donné le pourcentage d'infection dans l'échantillon et la taille de la population de départ, le nombre d'élevages prélevés est insuffisant pour pouvoir extrapoler les résultats de l'échantillon à la population. En effet, vu le nombre de troupeaux de la région et la prévalence trouvée, il faudrait étudier près de 2/3 (soit 130 troupeaux) de la population afin d'obtenir une estimation de la proportion de troupeaux atteints avec une précision relative de 10 % (si l'on considère que la prévalence des mycoplasmoses se situe aux alentours de 20 %), mais les contraintes financières permettent rarement d'obtenir un tel niveau de précision.

3.1.1.2- Les animaux

Au sein des élevages, nous avons prélevé 22 chèvres au hasard en essayant de prélever des primipares et des multipares, mais il a fallu adapter le choix des animaux aux contraintes des éleveurs. En effet, certains préféraient prélever un nombre identique de chèvres dans chaque lot alors que d'autres préféraient les prendre toutes dans le même lot. Il existe donc un biais dans le choix des animaux.

Le nombre de chèvres à prélever a été fixé à 22 par élevage dans un souci pratique quant au traitement des prélèvements en laboratoire. En effet, les plaques ELISA comptent 88 puits utilisables pour les sérums, ce qui permettait de traiter 4 troupeaux par plaque (il faut 8 cupules pour les sérums de références). Ce nombre ne permet donc pas d'avoir une représentation fiable de chaque élevage étant donné que je n'ai prélevé que 6 % des animaux des grands élevages.

3.1.2- Les outils de diagnostic

3.1.2.1- La bactériologie

La technique d'isolement et d'identification des colonies de mycoplasmes est assez délicate et demande une grande expérience au technicien qui la réalise. Or, nous avons eu la chance qu'un seul technicien ait fait toutes les analyses des prélèvements et que ce technicien ait eu une grande expérience dans ce domaine. Nous n'avons donc pas à prendre en compte un « effet technique d'isolement ».

Afin de diminuer le risque d'erreur d'identification des colonies obtenues sur gélose, nous avons associé deux tests : les épreuves biochimiques et l'inhibition de croissance. Les tests biochimiques sont des tests qui peuvent être longs à réaliser et dont la réalisation est délicate. Mais le technicien du laboratoire était habitué à réaliser ces tests en routine et c'est donc pour cela que nous avons utilisé ces tests dans notre étude. L'inhibition de croissance est un test sérologique facile à réaliser mais qui nécessite une grande quantité d'anti-sérum. De plus, certaines colonies de mycoplasmes peuvent pousser trop rapidement et empêchent la diffusion du sérum d'inhibition en dehors du disque ce qui peut être à l'origine de faux négatifs et ne permet pas l'identification des colonies obtenues. Enfin, pour que ce test soit reproductible et donc interprétable, il est nécessaire de faire attention à la composition du milieu, aux températures d'incubation et à la quantité d'anti-sérum utilisée (LAMBERT, 1987).

D'autres méthodes d'identifications sérologiques des colonies auraient pu être mises en œuvre. La première est l'immunoabsorption sur filtre. Ce test est réalisable en 2 à 3 heures sur culture fraîche et est facilement standardisable. Sa sensibilité est meilleure que celle des autres tests et il permet de détecter les mélanges de mycoplasmes. Malheureusement, il existe de nombreuses réactions croisées entre *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC et *M. capricolum capricolum* (BERGONIER et POUMARET, 1996). La seconde est l'immunofluorescence. Elle est aussi spécifique que l'inhibition de croissance et a les avantages d'être rapide (2 heures), économique (peu d'anti-sérum est nécessaire), facile à réaliser et à interpréter. Des tests contrôles sont réalisés pour s'assurer de la pertinence des résultats. Elle constitue la meilleure manière d'identifier les colonies de mycoplasmes obtenues sur gélose (LAMBERT, 1987).

3.1.2.2- Le test ELISA

La technique ELISA est à réserver pour réaliser un diagnostic de troupeau, et est difficilement interprétable au niveau individuel. L'inconvénient de ce test est, qu'actuellement, il n'existe aucun kit commercialisé. Ce test ne peut être utilisé en routine par les laboratoires départementaux vétérinaires et est donc réservé à la « recherche ».

De plus, cette technique ne permet pas de dater le contact entre chèvre et mycoplasme dans le cadre de notre étude étant donné que nous ne sommes passés qu'une seule fois dans chaque élevage et que pour dater le contact il faudrait réaliser une cinétique des anticorps nécessitant au moins deux passages dans les élevages.

La réaction de certains sérums de chèvres avec deux, voire trois antigènes différents, pose le problème de savoir si ces animaux ont été en contact avec plusieurs mycoplasmes ou s'il s'agit de réactions croisées entre les antigènes au moment de l'analyse. En effet, le test ELISA peut présenter des problèmes de spécificité. Par exemple, la composition des milieux utilisés dans la préparation des antigènes peut être une des causes de ces réactions croisées (CASSEL et BROWN, 1983). Ces inconvénients sont minimisés en utilisant des préparations composées de certaines protéines membranaires pouvant être obtenues à l'aide de détergents particuliers dont le Tween (comme c'est le cas pour nos kits) (NICOLET, PAROZ et BRUGGMANN, 1980 ; LAMBERT *et al.*, 1998). Par ailleurs, pour mettre en évidence les possibles réactions croisées de notre échantillon, il aurait été intéressant de passer tous les sérums de l'étude au western-blot.

3.2- Les résultats

3.2.1- Analyse descriptive

3.2.1.1- Les résultats bactériologiques

3.2.1.1.1- Bilan

Les résultats obtenus sur nos prélèvements ont permis de mettre en évidence la présence des principaux mycoplasmes caprins, hormis *M. agalactiae*. Si l'on considère les résultats cumulés du lait de tank et du lait individuel, il est possible de constater que 18 % des troupeaux de l'échantillon sont atteints de mycoplasmoses. Ces résultats sont difficilement extrapolables à la population d'origine étant donné la précision relative trouvée. Pour que cela soit faisable, il nous faudrait un échantillon beaucoup plus grand. Ces résultats sont un peu plus faibles que ceux obtenus dans les Deux-Sèvres où environ 23 % des troupeaux de l'échantillon avait une bactériologie mycoplasme positive (PICHOT, 2001).

La majorité des mycoplasmes isolés dans notre échantillon sont *M. putrefaciens*, puis *M. capricolum capricolum* et enfin *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC. Aucune souche de *M. agalactiae* n'a été isolée de nos échantillons. Ces résultats confirment la place de plus en plus importante que prend *M. putrefaciens* au sein des mycoplasmoses caprines et la faible présence de *M. agalactiae* sur les caprins en dehors des Pyrénées-Atlantiques et de la Savoie. En revanche, la dominance des espèces diffère de celle trouvée dans les Deux-Sèvres où

M. mycoides subsp. *mycoides* LC était l'espèce dominante, suivie de *M. putrefaciens*, puis *M. capricolum capricolum*. Là encore, aucune souche de *M. agalactiae* n'avait été isolée.

3.2.1.1.2- Relation lait de tank et lait individuel

Il est difficile de conclure quant à la relation entre les bactériologies individuelles et celles du tank. En effet, seul un élevage avait des résultats bactériologiques du lait de tank et des laits individuels positifs. Pour cet élevage, une des espèces trouvées dans le lait de tank et dans les laits individuels concorde, l'autre n'est retrouvée que dans le lait de tank. Ceci est dû au fait que les chèvres que l'on a prélevées n'excrétaient pas le deuxième mycoplasme dans le lait.

Ces résultats confortent l'idée de pouvoir prélever le lait de tank pour diagnostiquer la présence de mycoplasme dans l'élevage (BERGONIER *et al.*, 1997) mais ne permettent pas d'établir de réelles conclusions.

3.2.1.2- Les résultats sérologiques

La répartition des titres sérologiques au sein de l'échantillon vis-à-vis de *M. agalactiae*, *M. putrefaciens*, *M. capricolum capricolum* est peu dispersée et les titres moyens de l'échantillon sont faibles (inférieur à 17 U). En revanche, les titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC sont beaucoup plus étendus et le titre moyen est assez élevé (73,87 U). Si l'on compare les moyennes des titres sérologiques suivant le statut bactériologique du troupeau, les moyennes des titres sérologiques des troupeaux bactériologiquement sains sont plus basses que celles des troupeaux bactériologiquement infectés quelle que soit l'espèce de mycoplasme, et la différence entre ces moyennes est significativement différente.

En comparant ces résultats aux répartitions des titres sérologiques obtenus dans le Tarn, département que HUGON (1991) a considéré « indemne » d'agalactie contagieuse, et la Savoie, département « infecté », il est possible de remarquer que la répartition des titres sérologiques pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC se rapproche de celle obtenue en zone infectée, alors que celles pour les trois autres espèces se rapprochent de celle obtenue en zone indemne (HUGON, 1991). D'un point de vue sérologique, la zone serait donc « fortement infectée » par *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC et « très peu infectée » par *M. putrefaciens*, *M. capricolum capricolum* et *M. agalactiae*.

Si l'on compare ces résultats aux résultats obtenus en Deux-Sèvres (PICHOT, 2001), les courbes sont similaires pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC, *M. capricolum capricolum* et *M. agalactiae*, et les titres moyens sont proches. En revanche, les courbes sont différentes pour *M. putrefaciens* et les titres moyens différents suggèrent que, d'un point de vue sérologique, la région Centre est moins infectée que les Deux-Sèvres par *M. putrefaciens*.

Notre étude se proposait de déterminer la situation des troupeaux de la région Centre vis-à-vis des mycoplasmoses caprines à un moment précis puisqu'il n'existe aucune donnée préalable dans cette région. Il serait alors intéressant de prélever à nouveau les élevages de notre étude afin de pouvoir étudier l'évolution des mycoplasmoses dans cette région. Nous pourrions ainsi objectiver si cette maladie est en progression ou en régression et si la mise en place d'un plan sanitaire serait utile.

3.2.2- Mise au point d'un indice sérologique pour les cheptels

3.2.2.1- Choix de l'indice

Différents indices ont été testés et l'indice 1 de notre étude qui correspond à l'indice Savoie (mis en place dans ce département pour la prophylaxie sanitaire de l'agalactie contagieuse) est celui qui correspond le mieux aux objectifs que nous nous étions fixés. En effet, il s'agit de celui qui possède de bonnes sensibilités et spécificités lorsque l'indice est supérieur ou égal à 5. Cet indice Savoie était également l'indice choisi dans les Deux-Sèvres car il possédait, là encore, des bonnes sensibilités et spécificités (PICHOT, 2001).

3.2.2.2- Statut sérologique des troupeaux

A l'inverse des statuts bactériologiques obtenus où l'espèce de mycoplasme dominante était *M. putrefaciens*, suivi par *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC, les résultats sérologiques mettent en évidence que l'espèce prédominante est *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC avec près de 85 % de cheptels infectés, suivi de *M. capricolum capricolum*. Le pourcentage d'élevages dont le statut sérologique est « infecté latent » ou « fortement infecté » est élevé et voisin de 90 %. Ce résultat est extrapolable à la population dont sont issus les élevages prélevés et la proportion de troupeaux atteints au sein de la population est de 89,7 % plus ou moins 10 %. Ce résultat suggère que la zone de collecte est infectée par les mycoplasmes avec une majorité d'infections à *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC. Ces résultats sont similaires aux

résultats obtenus en Deux-Sèvres, où, là aussi, la majorité des troupeaux a des statuts sérologiques « infectés latents ou fortement infectés », avec une majorité d'infection par *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC (PICHOT, 2001).

3.2.3- Comparaison des méthodes sérologique et bactériologique pour le diagnostic des mycoplasmoses.

La comparaison entre les deux méthodes a été difficile car nous nous sommes heurtés à deux difficultés :

- d'une part, nous ne connaissons pas le statut de départ des élevages et il n'existe aucune méthode de référence pour le diagnostic des mycoplasmoses caprines, nous ne pouvions que comparer les méthodes l'une par rapport à l'autre.
- d'autre part, le nombre d'élevages à bactériologie positive étant faible par rapport aux nombres de sérologies positives ; le calcul des sensibilités, spécificités, valeurs prédictives est peu précis voire incalculable dans certains cas à cause de la taille trop petite de l'échantillon.

Les résultats obtenus ne permettent pas de mettre en évidence de meilleurs résultats pour l'un ou l'autre test. En effet, le test bactériologique ne met en évidence le germe que lorsque certaines chèvres l'excrètent. Or, la sécrétion étant transitoire, il est possible de ne pas détecter les élevages où les chèvres n'excrètent pas (comme beaucoup d'élevages de notre échantillon qui ont un statut fortement infecté pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC et dont les bactériologies sont négatives). Ce test est donc intéressant, s'il est positif, pour prouver l'infection dans un élevage qui présente des signes cliniques de mycoplasmoses. En revanche, un résultat négatif ne permet pas de conclure à une absence de mycoplasmes. En effet, si la quantité de mycoplasmes excrétée est faible, les bactéries peuvent être diluées dans le lait et la concentration en mycoplasmes peut être insuffisante pour obtenir un test bactériologique positif (BERGONIER, 1992).

Le test sérologique montre que beaucoup d'élevages sont soit fortement infectés ou seulement infectés latents. Il s'agit d'une méthode facile à mettre en œuvre dans le cadre d'une police sanitaire et qui permet de détecter tous les troupeaux dans lesquels circulent des mycoplasmes.

En conclusion, les résultats des deux tests se valent donc, il n'y a pas un test meilleur que l'autre, chacun ayant ses lacunes et ses applications.

Conclusion

Les examens bactériologiques ont montré que 18 % des élevages de notre échantillon sont infectés par les mycoplasmes lorsque l'on cumule les résultats individuels et les résultats du tank. La majorité des infections est due à *M. putrefaciens* suivi de *M. capricolum capricolum* et *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC. Malheureusement, il n'est pas possible de conclure sur le taux d'infection de la population car la taille de l'échantillon est insuffisante pour obtenir une précision satisfaisante. En revanche l'échantillon de la population, par la technique sérologique, apparaît n'être infecté que par *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC et les moyennes arithmétiques des troupeaux sains et infectés sont significativement différentes.

L'indice sérologique retenu pour l'étude de la région Centre est l'indice Savoie, mis au point dans ce département dans le cadre de la prophylaxie sanitaire au début des années 90. Le calcul des indices de notre échantillon révèle que celui-ci, et par extrapolation la population d'origine, se trouvent fortement infectés, avec une très forte dominance d'infections à *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC. Il reste à étudier s'il n'existe pas des réactions croisées entre les différentes espèces de mycoplasmes faussant les résultats sérologiques obtenus. Cette question pourrait être étudiée en analysant tous les échantillons de sérums par western-blot.

La comparaison des tests bactériologique et sérologique ne permet pas de conclure quant à la supériorité d'un test par rapport à l'autre. Il apparaît néanmoins que le test bactériologique est à réserver pour confirmer une suspicion clinique de mycoplasmoses et le test sérologique à la prophylaxie sanitaire.

Enfin, il faut signaler que le nombre d'élevages étudiés se révèle être insuffisant pour extrapoler certains résultats obtenus à la population et il serait nécessaire d'augmenter le nombre d'élevages prélevés pour affiner les résultats. Il serait également intéressant de prélever dans quelques années les élevages de notre étude, dans les mêmes conditions et en utilisant les mêmes tests, afin de pouvoir étudier la variation dans le temps de la prévalence des mycoplasmoses caprines dans cette partie de la région Centre.

BIBLIOGRAPHIE

ADLER HE, DA MASSA AJ, BROOKS DL. (1980) Caprine mycoplasmosis: *Mycoplasma putrefaciens*, a new cause of mastitis in goats. *Am. J. Vet. Res.*, **41**, 1677-1679.

AYLING RD, BAKER SE, PEEK ML, SIMON AJ, NICHOLAS RAJ. (2000) Comparison of in vitro activity of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycin and tilmicosin against recent field isolates of *Mycoplasma bovis*. *Vet. Rec.*, **146**, 745-747.

BAGHERWAL RK, SISODIA RS. (1991) Long acting oxytetracycline as chemotherapeutic agent against pneumonia in kids due to *Mycoplasma* infection. *Indian Vet. Med. J.*, **15**, 140-141.

BARILE MF. (1983) Arginine hydrolysis. In: *Methods in mycoplasmaology*, Academic Press of New-York, **vol. 1**, 345-349.

BENKIRANE A, AMGHAR S. (1990) Antibiosensibilité in vitro de diverses souches de *Mycoplasma capricolum*. *Revue Elev. Méd. Vet. Pays. Trop.*, **43**, 453-455.

BEBEAR CM, SCHAEVERBEKE T, BEBEAR C. (1996-1997) Les mycoplasmoses humaines. *Point Vét.*, **180**, 793-798.

BERGONIER D; (1992) Reproduction expérimentale de l'agalactie contagieuse de la brebis : étude bactériologique et sérologique. *Diplôme d'Etudes Approfondies*, spécialité Ecologie Microbienne, Université Claude Bernard – Lyon I.

BERGONIER D, POUMARAT F. (1996) Agalactie contagieuse des petits ruminants : épidémiologie, diagnostic et contrôle. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **15**, 1451-1475.

BERGONIER D, VALOGNES A, VAN DE WIELE A, GRENOUILLAT D, BERTHELOT X, POUMARAT F. (1997) Interest of bulk tank milk for characterization of mycoplasma agalactiae subclinical infection in dairy ewe flocks. In: *Proceeding of the congress of "Mycoplasmas of Ruminants"*, COST Action 826, Prague, 1998, 119-121.

BERGONIER D, BERTHELOT X, POUMARAT F, VAN DE WIELE A, VALOGNES A, LEBRET P *et al.* (1997) Etat actuel et perspectives du contrôle de l'agalactie contagieuse des petits ruminants. *Point Vét.*, **28** (186), 1727-1736.

BHAUMIK A, VERMA BB, THAKUR DK, PANDEY SN, BANERJE NC. (1990) Effect of oral administration of tylosine tartrate in the treatment of experimental and natural cases of caprine mycoplasmosis. *Indian Vet. J.*, **67**, 948-951.

BOLSKE G, MSAMI H, HUMLESJO NE, ERNO H, JONSSON L. (1988) *Mycoplasma capricolum* in an outbreak of polyarthrititis and pneumonia in goats. *Acta. Vet. Scand.*, **29**, 331-338.

BOCKISCH H *et al.*. (1991) Experimental infection of the udder of ewes due to *Mycoplasma bovis*. *J. Vet. Med.*, **38**, 385-390.

BRADBURY JM. (1983) Phosphatase activity. *In: Methods in mycoplasmaology*, Academic Press of New-York, **vol. 1**, 363-365.

BREARD A, POUMARAT F. (1988) Isolement de *Mycoplasma capricolum* à partir d'un sperme de taureau. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, **41**, 149-150.

BROGDEN KA, ROSE D, CUTLIP RC, LEHMKUHL HD, TULLY JG. (1988) Isolation and identification of mycoplasmas from the nasal cavity of sheep. *Am. J. Vet. Res.*, **49**, 1669-1672.

BROOKS DL, DA MASSA AJ, ADLER HE. (1981) Caprine mycoplasmosis: immune response in goats to *Mycoplasma putrefaciens* after intramammary inoculation. *Am. J. Vet. Res.*, **42**, 1898-1900.

CASSEL GH, BROWN MB. (1983) Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) for detection of anti-mycoplasmal antibody. *In: Methods in mycoplasmaology*, Academic Press of New-York, **vol. 1**, 457-469.

CATARSINI O, BALBO SM, PUGLIESE A, PRATO F. (1991) Experiences with Baytril in sheep. *Vet. Med. Rev.*, **61**, 10-12.

CEC (1985) Contagious agalactia and other infections with *Mycoplasma mycoides*. CEC Meeting, Nice, France, Sept. 1985. Commission of European Communities. General Directorate , Information, Market and Innovation, Luxembourg, EUR 10984 EN-87.

CHATUVERDI VK, PATHAK RC, SINGH PP, PAL BC. (1994) Experimental pathogenicity of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC in kids. *Indian Vet. J.*, **71**, 753-756.

CHAVEZ GONZALEZ YR, BASCUNANA CR, BOLSKE G, MATTSON JG, FERNANDEZ MOLINA C, JOHANSSON KE. (1995) In vitro amplification of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* by PCR. *Vet. Micr.*, **47**, 183-190.

CLYDE WA Jr. (1983) Growth inhibition test. *In: Methods in mycoplasmaology*, Academic Press of New-York, **vol. 1**, 405-409.

CLYDE WA Jr, SENTERFIT LB. (1985) Laboratory diagnosis of mycoplasma infections. *In: The Mycoplasmas*, Academic Press of New York, **vol IV**, 391-402.

COTTEW GS, YEATS FR. (1978) Subdivision of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* from cattle and goats into two types. *Aust. Vet. J.*, **54**, 293-296.

COTTEW GS, LLOYD LC, PARSONSON IM. (1974) Isolation of a mycoplasma from vulvovaginitis in sheep. *Aust. Vet. J.*, **50**, 576-577.

DA MASSA AJ. (1983) Recovery of *Mycoplasma agalactiae* from mastitic goat milk. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **183**, 548-549.

DA MASSA AJ. (1990) The ear as a culture site for demonstration of mycoplasmas in clinically normal goats. *Aust. Vet. J.*, **67**, 267-268.

DA MASSA AJ, BROOKS DL. (1991) The external ear canal of goats and other animals as a mycoplasma habitat. *Small Ruminant Res.*, **4**, 85-93.

DA MASSA AJ, BROOKS DL, ADLER HE, WATT DE. (1983) Caprine mycoplasmosis: acute pulmonary disease in newborn kids given *Mycoplasma capricolum* orally. *Aust. Vet. J.*, **60**, 125-126.

DA MASSA AJ, BROOKS DL, HOLMBERG CA. (1986) Induction of mycoplasmosis in goat kids by oral inoculation with *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides*. *Am. J. Vet. Res.*, **47**, 2084-2089.

DA MASSA AJ, BROOKS DL, HOLMBERG CA, MOE AI. (1987) Caprine mycoplasmosis: an outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *Small Ruminant Res.*, **4**, 85-93.

DA MASSA AJ, WAKENELL PS, BROOKS DL. (1992) Mycoplasmas of goats and sheep. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **4**, 101-113.

DROESSE M, TANGEN G, GUMELT I, KIRCHHOF H, WASHBURN LR, ROSENGARTEN R. (1995) Major membrane proteins and lipoproteins as highly variable immunogenic surface components and strain-specific antigenic markers of *Mycoplasma arthritidis*. *Microbiol.*, **141**, 3207-3219.

ERNO H, AUBAIDI JM, OJO MO, MINGA UM, SIKDAR A. (1978). Classification and identification of ovine and caprine mycoplasmas. *Acta. Vet. Scand.*, **19**, 392-406.

EAST NE, DA MASSA AJ, LOGAN LL, BROOKS DL, McGOWAN B. (1983) Milkborne outbreak of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* infection in a commercial goat dairy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **182**, 1338-1341.

EUZEBY JP. Site du dictionnaire de bactériologie vétérinaire [en-ligne], Mise à jour le 17 octobre 2003 [<http://www.bacterio.cict.fr>] (consulté le 26 octobre 2003).

FOGGIE A, ETHERIDGE JR, ERDAG O, ARISOY F. (1971) Contagious agalactia of sheep and goats studies on live and dead vaccines in lactating sheep. *J. Comp. Path.*, **81**, 165-172.

FREUNDT EA. (1983) Culture media for classic mycoplasmas. *In: Methods in mycoplasmaology*, Academic Press of New-York, **vol. 1**, 127-135.

GAILLARD-PERRIN G, PICAUVET DP, PERRIN G. (1985) Isolement de *Mycoplasma putrefaciens* dans deux troupeaux de chèvres présentant des symptômes d'agalactie. *Revue Méd. Vét.*, **137**, 67-70.

GEARY SJ, TORTELLOTTE ME, CAMERON JA. (1981) Inflammatory toxin from *Mycoplasma bovis* : isolation and characterisation. *Science*, **212**, 1032-1033.

GIL MC, HERMOSO DE MENDOZA M, REY J, ALONSO M, POVEDA JB, HERMOSO DE MENDOZA J. (1999) Isolation of Mycoplasmas from the external ear canal of goats affected with contagious agalactia. *Vet. J.*, **158**, 152-154.

GUHA C, VERMA BB, DEB AR. (1985) Treatment of experimental and natural cases of contagious pleuropneumonia in kids with tylosine tartrate (Tylan 50). *Indian Vet. J.*, **62**; 310-312.

HASSO SA, AL-OMRAN AH. (1994) Antibody response patterns in goats experimentally infected with *Mycoplasma agalactiae*. *Small Ruminant Res.*, **14**, 79-81.

HASSO SA, AL-AUBAIDI JM, AL-DARRAJI AM. (1993) Contagious agalactia in goats: it's severity as related to the route of infection and pregnancy. *Small Ruminant Res.*, **10**, 263-275.

HASSO SA, AL-DARRAJI AM, AL-AUBAIDI JM. (1994) Pathology of experimentally induced contagious agalactia in goats. *Small Ruminant Res.*, **13**, 79-84.

HAZELL SL, CARRIGAN MJ, COCKRAM FA. (1985) *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* in the ears of goats associated with an outbreak of systemic mycoplasmosis. *Aust. Vet. J.*, **62**, 421.

HUGON F. (1991) Agalactie contagieuse des petits ruminants en Savoie et en Haute Savoie : mise au point d'un test de dépistage. Thèse Doct. Vet. Lyon, N°60.

- JASPER DE. (1981) Bovine mycoplasmal mastitis. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med*, **25**,121-159.
- JOUGLAR JY, MALERGUE JJ, PERREAU P. (1982) Evolution d'un foyer d'agalactie contagieuse durant deux années : 1980-1981. *Revue Méd. Vét.*, **133**, 467-472.
- JURMANOVA K, STERBOVA J. (1977) Correlation between impaired spermatozoan motility and mycoplasma findings in bull semen. *Vet. Rec.*, **100**, 157-158.
- KINDE H, DA MASSA AJ, WAKENELL PS, PETTY R. (1994) Mycoplasma infection in a commercial dairy goat caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype). *J. Vet. Diagn. Invest.*, **6**, 423-427.
- KRAUSE DC. (1996) *Mycoplasma pneumoniae* cytheadherence: unravelling the tie that binds. *Mol. Microbiol.*, **20**, 247-253.
- LAMBERT M. (1985) Application d'une technique ELISA informatisée au sérodiagnostic de l'agalactie contagieuse des petits ruminants. *Revue Méd. Vét.*, **136**, 303-306.
- LAMBERT M. (1987) Contagious agalactiae of sheep and goats. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **6**, 699-711.
- LAMBERT M, CABASSE E. (1985) Use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the diagnosis of contagious agalactia. *Proceeding of Contagious agalactia and other mycoplasmal diseases of small ruminants*, Nice, 1985, 111-115.
- LAMBERT M, CABASSE E. (1989) Sérologie de l'agalactie contagieuse des brebis : comparaison ELISA - Fixation du complément. *Revue Méd. Vét.*, **140**, 107-112.
- LAMBERT M, CALAMEL M, DUFOUR P, CABASSE E, VITU C, PEPIN M. (1998) Detection of false-positive sera in contagious agalactia with multiantigen ELISA and their elimination with a protein G conjugate. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **10**, 326-330.

LARRICQ J-M. (2001) Agalactie contagieuse des ovins, plan de maîtrise dans les Pyrénées-Atlantiques et évaluation d'une vaccination. *In* : Compte rendu des Journées Nationales des GTV. Clermont-Ferrand, 30 mai au 01 juin 2001, Paris : SNGTV, 261-266.

LE GRAND D, SARAS E, BLOND D, SOLSONA M, POUMARAT F. (2003) Identification of the members of "Mycoplasma mycoides" cluster by PCR: Evaluation on 230 field strains. *In: The congress of "Mycoplasma diseases of ruminants : diagnosis, treatment and control"* Palerme, 5-6 juin 2003.

LEGEE P, PERREAU P, SADORGE R, TOURATIER L. (1974) Réduction d'un foyer de mycoplasmoses chez la chèvre. *Bull. Soc. Vét. Prat.*, **5**, 235-240.

LEVISOHN S, ROSENGARTEN R, YOGEV D. (1995) In vivo variation of *Mycoplasma gallisepticum* antigen expression in experimentally infected chickens. *Vet. Microbiol.*, **45**, 219-231.

MACKIE DP, FINLAY D, BRICE N, BALL, HJ. (2000) Mixed mycoplasma mastitis outbreak in a dairy herd. *Vet. Rec.*, **147**, 335-336.

MATTSON JG, GUSS B, JOHANSON KE. (1994) The phylogeny of *Mycoplasma bovis* as determined by sequence analysis of the rRNA gene. *FEMS – Microbiology Letters*, **115**, 325-328.

MERCIER P, COUTINEAU H, LENFANT D, DECOUX V. (2000) Un épisode d'agalactie causé par *Mycoplasma putrefaciens* dans un troupeau caprin. *Point Vét*, **31**, 345-348.

MISRI J, GUPTA PP, SOOD N. (1988) Experimental *Mycoplasma capri* mastitis in goats. *Aust. Vet. J.*, **65**, 33-35.

NACCARI F, GIOFRE F, PELLEGRINO M, CALO M, LICATA P, CARLI S. (2001) Effectiveness and kinetic behaviour of tilmicosin in the treatment of respiratory infections in sheep. *Vet. Rec.*, **148**, 773-776.

NAYAK NC, BHOWMIK MK. (1990) In-vitro drug sensitivity and chemotherapy of mycoplasmal septicaemic polyarthritis in goat kids. *Indian J. Anim. Sci.*, **60**, 557-559.

NAYAK NC, BHOWMIK MK. (1991) Pathogenicity of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large colony type) for goat kids. *Small Ruminant Res.*, **5**, 155-167.

NICOLET J, PAROZ P, BRUGGMANN S. (1980) Tween 20 soluble proteins of *Mycoplasma hyopneumoniae* as antigen for an enzyme linked immunosorbent assay. *Research in Veterinary Science*, **29**, 305-309.

ONOVIRAN O. (1974) The comparative efficacy of some antibiotics used to treat experimentally induced mycoplasma infection in goats. *Vet. Rec.*, **94**, 418-420.

OJO MO. (1976) Caprine pneumonia IV: pathogenicity of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and caprine strains of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* for goats. *J. Comp. Path.*, **86**, 519-529.

PERREAU P, LE GOFF C, GIAUFFRET A. (1976) Le diagnostic sérologique l'agalactie contagieuse des petits ruminants : Un test de fixation du complément. *Bull. Acad. Vet. De France*, **49**, 185-192.

PICHOT Anne (1999-2001) Mycoplasmes en élevage caprins : contribution à la définition du statut des élevages vis-à-vis des mycoplasmes. Rapport de stage de BTSA Productions Animales.

POUMARAT F, PERRIN B, LONGCHAMBON D. (1991) Identification of ruminant mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration (MF dot). *Vet. Microbiol.*, **29**, 329-338.

POUMARAT F, LE GRAND D, BERGONIER D. (1996-1997) Propriétés générales des mycoplasmes et hypervariabilité antigénique. *Point Vét.*, **28** (180), 761-769.

PUYALTO C. (1995) Contribution à l'élaboration d'un indice sérologique de classement des cheptels vis-à-vis de l'agalactie contagieuse ovine : application au programme de prophylaxie sanitaire dans le département des Pyrénées-Atlantiques. *Thèse Doct. Vet. Alfort*, N°93.

QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY B, CARYER B. (1994) The mycoplasmas. *Clinical Veterinary Microbiology*, Ed. Wolfe, 320-326.

RAZIN S. (1983) Identification of mycoplasma colonies. *In: Methods in mycoplasmaology*, Academic Press of New-York, **vol. 1**, 83-88.

RAZIN S. (1985) Mycoplasma adherence. *In: The Mycoplasmas*, **vol. IV**, Mycoplasma pathogenicity, Ed. S. Razin and MF Barile, Orlando, 161-202.

RAZIN. Site of the Hebrew University – Faculty of medicine [en-ligne], création en 1997 [www.md.huji.ac.il], (consulté le 17 mars 2003).

RAZIN S, OLIVER O. (1961) Morphogenesis of mycoplasma and bacterial L-form colonies. *J. Gen. Microbiol.*, **24**, 225-237.

RAZIN S, CIRILLO VP. (1983) Sugar fermentation. *In: Methods in mycoplasmaology*, **vol. 1**, Academic Press of New-York, 337-343.

REGALLA J, GONCALVES R, RIBEIRO JN, DUARTE L, NICHOLAS R, BASHIRUDDIN JB *et al.* (1999) Development of immunoblotting as a diagnostic tool for contagious bovine pleuropneumonia. *In: International Symposium – COST Action 826: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics. Joint Workshops of E.U. Projects. Toulouse, France, June 2– 4.*

RIBEIRO RV, DO NASCIMENTO ER, FACCINI JLH, DO NASCIMENTO MGF, LIGNON GB. (1997) An improved method for the recovery of mycoplasmas from the external ear canal of goats. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **9**, 156-158.

RODRIGUEZ JL, POVEDA JB, GUTIERREZ C, ACOSTA B, FERNANDEZ A. (1994) Polyarthrititis in kids associated with *Mycoplasma putrefaciens*. *Vet. Rec.*, **135**, 406-407.

RODRIGUEZ JL, DA MASSA AJ, BROOKS DL. (1996a) Caprine abortion following exposure to *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **8**, 492-494.

RODRIGUEZ JL, POVEBA JB, RODRIGUEZ F, ESPINOSA DE LOS MONTEROS A, RAMIREZ AS, FERNANDEZ A. (1996b) Ovine infectious keratoconjunctivitis caused by *Mycoplasma agalactiae*. *Small Ruminant Res.*, **22**, 93-96.

RODRIGUEZ JL, GUTIERREZ C, GONZALEZ J, BROOKS DL. (1999) Clinicopathological and haematological study of experimentally infected goat kids with *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum*. *J. Appl. Anim. Res.*, **15**, 169-174.

ROSENDAL S. (1981) Experimental infection of goats, sheep and calves with the large colony type of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. *Vet. Pathol.*, **18**, 71-81.

ROSENDAL S. (1983) Susceptibility of goats and calves after experimental inoculation or contact exposure to a canadian strain of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* isolated from a goat. *Can. J. Comp. Med.*, **47**, 484-490.

RUFFIN DC. (2001) Mycoplasma infections in small ruminants. *Vet. Clinics of North America : food animal practice*, **17**, 315-332.

SANCHIS R, ABADIE G, LAMBERT M, CABASSE E, GUILBERT JM, CALAMEL M *et al.*. (1998) Experimental conjunctival-route infection with *Mycoplasma agalactiae* in lambs. *Small Ruminant Res.*, **27**, 31-39.

SANCHIS R, ABADIE G, LAMBERT M, CABASSE E, DUFOUR P, GUILBERT JM. *et al.*. (2000) Inoculation of lactating ewes by the intramammary route with *Mycoplasma agalactiae* : comparative pathogenicity of six field strains. *Vet. Res.*, **31**, 329-337.

SARKAR AK, VERMA BB, THAKUR DK. (1992) Treatment of natural cases of pneumonia associated with mycoplasma infection. *Indian Vet. J.*, **69**, 1041-1042.

SIKDAR A, UPPAL PK. (1996) Antibigram of respiratory mycoplasmas of caprine and ovine origin. *Indian J. Anim. Hlth.*, **1**, 185-187.

SIUGZDAITE J, GARLAITE K et URBSIENE D. (2003) Evaluation of antibody formation, daily weight gain and meat quality after vaccination of piglets against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Acta. Vet. Hung.*, **51**, 273-281.

SMITH PF. (1971) Interaction of mycoplasmas with their environment . *In: The biology of mycoplasmas*, Eds. BUETON DE, CAMERON IL, PADILLA GM, Academic press, 1971, New York and London.

STIPKOVITS L, VARGA Z, LABER G, BOCKMANN J. (1984) A comparison of the effect of tiamulin hydrogen fumarate and tylosin tartrate on mycoplasmas of ruminants and some animal ureaplasmas. *Vet. Microbiol.*, **9**, 147-153.

SOLSONA M, LAMBERT M, POUMARAT F. (1996) Genomic, protein homogeneity and antigenic variability of *Mycoplasma agalactiae*. *Vet. Microbiol.*, **50**, 45-58.

TAINTURIER D, FIENI F, BRUYAS JF, BATTUT I. (1997) Les avortements chez les petits ruminants. *Point Vét.*, **28** (184), 1355-1363.

TAOUDI A, JOHNSON DW, KHEYYALI D. (1987) Pathogenicity of *Mycoplasma capricolum* in sheep after experimental infection. *Vet. Microbiol.*, **14**, 137-144.

THIAUCOURT F, BOLSKE G (1996) Contagious caprine pleuropneumonia and other pulmonary mycoplasmoses of sheep and goats. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **15**, 1397-1414.

THIAUCOURT F, LORENZON S, DAVID A, BREARD A. (2000) Phylogeny within the "Mycoides cluster" as shown by a 298 BP long intergenic sequence. *Proceedings of 7th International Conference on Goats*, France, 15-21 mai, 293.

THIGPEN JE, KORNEGAY RW, CHANG J, MCGHEE CE, THIERRY VL. (1981) Pneumonia in goats caused by *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **178**, 711-712.

TOLA S, IDINI G, MANUNTA D, GALLERI G, ANGIOI A, ROCCHIGIANI AM, LEORI G. (1996) Rapid and specific detection of *Mycoplasma agalactiae* by polymerase chain reaction. *Vet. Micr.*, **51**, 77-84.

TOLA S, ANGIOI A, ROCCHIGIANI AM, IDINI G, MANUNTA D, GALLERI G, LEORI G. (1997) Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.*, **54**, 17-22.

TOLA S, MANUNTA D, ROCCA S, ROCCHIGIANI M, IDINI G, ANGIOI PP *et al.*. (1999) Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using different inactivated vaccines. *Vaccine*, **17**, 2764-2768.

TOMA B, DUFOUR B, SANAA M, BENET JJ. (1996) *Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures*. Maisons-Alfort : Association pour l'Etude de l'Epidémiologie des Maladies Animales, 696 p.

TULLY JG. (1983) Tests for digitonine sensitivity and sterol requirement. *In: Methods in mycoplasmaology*, Academic Press of New-York, **vol. 1**, 355-362.

VIZCAINO LL, ABELLAN G, PABLO MJ, PERALES A. (1995) Immunoprophylaxis of caprine contagious agalactia due to *Mycoplasma agalactiae* with an inactivated vaccine. *Vet. Rec.*, **137**, 266-269.

WEISBURG WG, TULLY JG, ROSE DL, PETZEL JP, OYAIZU H, YANG D *et al.*. (1989) A phylogenetic analysis of the mycoplasmas : basis of their classification. *J. Bacteriol.*, **171**, 6455-6467.

ZAVAGLI V. (1951) L'agalactie contagieuse des brebis et des chèvres. *Bull. Off. Int. Epiz.*, **36**, 336-362.

Rapport-Gratuit.com

ANNEXES

Indices sérologiques et statuts de chaque élevage de chaque élevage

Liste des abréviations:

Ind. : Indemne

PrI. : Présumé Indemne

InfL. : Infecté Latent

FInf. : Fortement Infecté

Indice 1 : I₁

Indice 2 : I₂

Indice 3: I₃

Numéro d'élevage	Espèce de Mycoplasme	Indices sérologiques			Statut de l'élevage		
		I ₁	I ₂	I ₃	I ₁	I ₂	I ₃
	<i>M. agalactiae</i>	2,75	0,15	0,15	InfL		Ind
	<i>Mmm LC</i>	14,35	11,70	10,10	Fort. Inf.		
	<i>M. putrefaciens</i>	2,85	1,85	1,80	InfL		
	<i>M. capricolum</i>	2,85	2,60	2,70	InfL		
264	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	6,25	3,95	2,45	Fort. Inf.		InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,05	0	0	Ind.		
265	<i>M. agalactiae</i>	0,05	0,05	0,05	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	8,05	6,0	2,86	Fort. Inf.		InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	0,05	0	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,09	0	0	Ind.		
266	<i>M. agalactiae</i>	0,36	0,09	0,09	PrI.		Ind.
	<i>Mmm LC</i>	9,23	4,27	3,18	Fort Inf.		InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	0,14	0,05	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,36	0,14	0,09	PrI.		Ind.
267	<i>M. agalactiae</i>	1,18	1,18	0,23	InfL		Ind.
	<i>Mmm LC</i>	7,86	3,95	3,77	Fort. Inf.		InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	1,45	0,27	0,23	InfL		Ind.
	<i>M. capricolum</i>	0,14	0,09	0	Ind.		
268	<i>M. agalactiae</i>	0,09	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	4,95	3,45	1,24	InfL		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,05	0	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0	0	0	Ind.		
269	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	9,55	8,50	8,10	Fort. Inf.		
	<i>M. putrefaciens</i>	3,65	1,90	1,90	InfL		
	<i>M. capricolum</i>	3,40	3,05	1,65	InfL		
270	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	5,86	5,09	4,09	Fort. Inf.		InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0	0	0	Ind.		
271	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		

	<i>Mmm</i> LC	6,91	4,64	4,09	Fort. Inf.	InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	0,05	0	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,09	0,09	0	Ind.	
341	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	1,73	0,64	0,36	InfL	PrI.
	<i>M. putrefaciens</i>	0,05	0,05	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,05	0	0	Ind.	
342	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	0,05	0	0	Ind.	
	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0	0	0	Ind.	
343	<i>M. agalactiae</i>	2,38	1,43	2,50	InfL	
	<i>Mmm</i> LC	6,52	4,38	3,14	Fort. Inf.	InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	0,24	0,05	0,05	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	2,62	1,67	0,52	InfL	
344	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	9,08	8,70	4,10	Fort. Inf.	InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	0,09	0,05	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,32	0,25	0,05	Pres. Ins.	Ind.
345	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	0,10	0,10	0,10	Ind.	
	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,35	0,05	0,05	PrI.	Ind.
346	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	2,00	0,77	0,73	InfL	
	<i>M. putrefaciens</i>	0,18	0,05	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0	0	0	Ind.	
347	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	4,05	2,09	1,91	Inf. Lat	
	<i>M. putrefaciens</i>	0,09	0,09	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,59	0,18	0,18	InfL	Ind.
348	<i>M. agalactiae</i>	0,05	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	1,05	0,68	0,36	InfL	PrI.
	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,05	0	0	Ind.	
349	<i>M. agalactiae</i>	0,06	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	2,33	1,00	0,72	InfL	
	<i>M. putrefaciens</i>	0,06	0	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,39	0,11	0,06	PrI.	Ind.
351	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	0,64	0,27	0,09	InfL.	Ind;
	<i>M. putrefaciens</i>	0,05	0	0	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,32	0,27	0,09	PrI.	Ind.
352	<i>M. agalactiae</i>	0,05	0	0	Ind.	
	<i>Mmm</i> LC	5,50	4,68	2,36	FInf.	InfL
	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.	

	<i>M. capricolum</i>	0,18	0,05	0	Ind.		
356	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	3,77	2,36	1,64	Infl		
	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,09	0,09	0	Ind.		
357	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	1,00	0,82	0,18	Infl	Ind.	
	<i>M. putrefaciens</i>	0,23	0,05	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,09	0,05	0,05	Ind.		
358	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	0,27	0,09	0	Ind.		
	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0	0	0	Ind.		
359	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	2,59	1,64	1,55	Infl		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,27	0,05	0,05	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,05	0,05	0	Ind.		
360	<i>M. agalactiae</i>	0,14	0,05	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	6,32	5,64	5,23	FInfl.		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,18	0,05	0,05	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0	0	0	Ind.		
361	<i>M. agalactiae</i>	0,05	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	3,45	2,82	2,55	Infl		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,27	0,09	0,05	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,05	0	0	Ind.		
362	<i>M. agalactiae</i>	0,09	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	4,86	1,91	1,09	Infl		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,41	0,14	0,05	PrI.	Ind.	
	<i>M. capricolum</i>	0,82	0,18	0,14	Infl.	Ind.	
363	<i>M. agalactiae</i>	0,05	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	12,82	11,50	9,27	FInfl.		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,27	0,09	0,05	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,41	0,41	0,09	PrI.	Ind.	
388	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	2,95	2,32	2,18	Infl		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,05	0,05	0,05	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,23	0,05	0	Ind.		
389	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	1,41	0,45	0,27	Inf. Lat	PrI.	Ind.
	<i>M. putrefaciens</i>	0,27	0,09	0,09	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,05	0,05	0	Ind.		
390	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	2,32	1,77	0,50	Infl		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,09	0,05	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,14	0	0	Ind.		
391	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides LC</i>	0,45	0,14	0,05	PrI.	Ind.	

	<i>M. putrefaciens</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,05	0	0	Ind.		
392	<i>M. agalactiae</i>	0,05	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	2,32	1,95	1,55	Infl		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,05	0,05	0,05	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,05	0,05	0,05	Ind.		
393	<i>M. agalactiae</i>	0,09	0	0	Ind.		
	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides LC</i>	17,77	10,27	9,00	FInf.		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,125	0	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,09	0,05	0	Ind.		
394	<i>M. agalactiae</i>	0,09	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	4,23	1,95	1,18	Infl		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,14	0,09	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,41	0,14	0,09	PrI.	Ind.	
395	<i>M. agalactiae</i>	0,09	0,05	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	7,32	4,95	1,86	FInf.	Infl	
	<i>M. putrefaciens</i>	0,09	0,09	0	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0	0	0	Ind.		
396	<i>M. agalactiae</i>	0,09	0,09	0,05	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	8,95	7,41	4,00	FInf.	Infl	
	<i>M. putrefaciens</i>	11,82	11,50	8,36	FInf.		
	<i>M. capricolum</i>	3,91	2,95	1,68	Infl		
397	<i>M. agalactiae</i>	0	0	0	Ind.		
	<i>Mmm LC</i>	4,77	3,91	2,95	Inf. Lat		
	<i>M. putrefaciens</i>	0,23	0,05	0,05	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	0,09	0,09	0	Ind.		
118	<i>M. agalactiae</i>	0,46	0,25	0,13	PrI.	Ind.	
	<i>Mmm LC</i>	6,71	4,46	3,38	FInf.	Infl	
	<i>M. putrefaciens</i>	0,13	0,08	0,04	Ind.		
	<i>M. capricolum</i>	1,33	0,33	0,25	Infl	PrI.	Ind.

ETUDE DE LA PREVALENCE DES MYCOPLASMOSES CAPRINES EN REGION CENTRE ; COMPARAISON DE PLUSIEURS OUTILS DE DEPISTAGE

Nom et Prénom: HERACEK LAIZEAU Helena

Résumé :

Les mycoplasmoses sont des maladies importantes en élevage caprin notamment à cause des pertes économiques qu'elles engendrent, mais aussi par la diversité des signes cliniques et la difficulté de réaliser avec certitude un diagnostic. La partie bibliographique développe ces points et résume les connaissances actuelles sur les mycoplasmes.

Plusieurs études de prévalence des mycoplasmoses caprines ont été réalisées notamment en Poitou-Charente et Savoie, mais la situation de la région Centre était jusque là peu connue.

Cette étude a concerné 858 chèvres réparties dans 39 troupeaux situés dans la zone de collecte de la laiterie Tribalat (Rians - 18). Des prélèvements de lait individuel, de lait de tank et de sang ont été réalisés pendant l'automne 2001. Les tests bactériologiques ont permis d'isoler des mycoplasmes dans le lait pour 18 % des élevages avec une majorité d'isolement de *Mycoplasma putrefaciens*.

L'indice sérologique mis au point en Savoie se révèle être l'indice sérologique le plus approprié pour déterminer le statut sérologique des troupeaux de cette région à l'aide du test ELISA. Au final, 89 % des élevages sont classés en catégories « infecté latent » ou « fortement infecté » avec, cette fois ci, une majorité d'infection à *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC.

Notre étude n'a pas pu conclure sur une meilleure validité de la bactériologie par rapport au test ELISA pour le diagnostic des mycoplasmoses caprines.

Le nombre d'élevages prélevés se révèle être insuffisant pour extrapoler certains résultats obtenus sur l'échantillon à la population et il serait nécessaire d'augmenter le nombre d'élevages prélevés pour affiner les résultats.

Mots clés : prévalence, mycoplasmoses, caprins, région Centre, ELISA, bactériologie, indice sérologique.

Jury :

Président : Pr

Directeur : Dr B. POLACK

Assesseur: Pr. HJ. BOULOUIS

Invitée : Dr P. MERCIER

Adresse de l'auteur :

Mme LAIZEAU Helena

Le Rozoir

45630 BEAULIEU-SUR-LOIRE

STUDY OF THE PREVALENCE OF CAPRINE MYCOPLASMOSIS IN THE CENTRE REGION COMPARISON OF SCREENING TOOLS

Surname and firstname: HERACEK LAIZEAU Helena

Summary :

Mycoplasmosis are serious diseases which affect goats and generate economic losses. The diversity of the clinical signs and the difficulty of making a diagnosis with certainty are also typical of this disease. These points are developed in the bibliographical section which also gives a summary of the state of the art research.

Various caprine mycoplasmosis prevalence studies were carried out, notably in Poitou-Charente and Savoy. Nonetheless, the situation in the region Centre was not very well known until now.

The study was carried out on 858 goats from 39 herds located in the area of the Tribalat (Rians – 18) dairy processing plant. Individual milk, tank milk and blood samples were taken in autumn 2001. The bacteriological tests made it possible to isolate mycoplasmas that were in the milk for 18% of the herds of which most were *Mycoplasma putrefaciens*.

The serological index which was developed in Savoy through the ELISA test proved to be the most appropriate to determine the serological status of the herds in that region. In the end, it seems that 89% of the cattle turns out to be in the "latent infected" or "highly infected" category. Most of the infections are caused by *Mycoplasma mycoides* subsp *mycoides* LC.

Unfortunately, we were not able to find a bacteriological validity with the ELISA test to diagnose caprine mycoplasmosis. The number of animals on which samples were taken is insufficient to extrapolate some of the results, and samples should be taken on a larger scale to draw a proper conclusion.

Key Words : prevalence, mycoplasmosis, goat, country : Centre, ELISA, bacteriology, serological indice.

Jury :

President : Pr.

Director : Dr B. POLACK

Assessor: Pr. HJ. BOULOUIS

Guest : Dr P. MERCIER

Author's Address :

Mme LAIZEAU Helena

Le Rozoir

45630 BEAULIEU-SUR-LOIRE