

2005

N° 13/T.E/2005
Série : 03 Vet /

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI – CONSTANTINE –
FACULTE DES SCIENCES
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat

Etude épidémiologique des mycoplasmes des petits ruminants
" Application de l'Immunoblot à l'étude des sérums de moutons infectés
expérimentalement par *Mycoplasma agalactiae*"

Option

Microbiologie

Par Rachid KABOUIA

Directrice de thèse : Pr. F. SMATI

Faculté de Médecine
Constantine

Devant le Jury :

Président	R. Ouzrout	Professeur	Centre Universitaire El Tarf
Examineurs	M. Bensouilah	Professeur	Université d'Annaba
	K. Benlabed	Professeur	Faculté de Médecine Constantine
	B. Aït Kaki	Professeur	Faculté de Médecine Constantine

ANNEE : 2005

**CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE
Dr.BENBADIS CONSTANTINE
SERVICE DE MICROBIOLOGIE
Pr.SMATI F.**

Constantine le, 19/05/2004

**RAPPORT DE SOUTENABILITE
THESE DE DOCTORAT D'ETAT
KABOUIA RACHID**

Titre :

**ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DES MYCOPLASMES DES PETITS RUMINANTS
« APPLICATION DE L'IMMUNOBLOT A L'ETUDE DES SERUMS DE MOUTONS
INFECTES EXPERIMENTALEMENT PAR *MYCOPLASMA AGALACTIAE* »**

I) PLAN

Le plan détaille avec précision une partie bibliographique comprenant la bactériologie des Mycoplasmes classiques (classification, caractères cultureux, biochimiques et antigéniques)

avec une mention particulière pour la structure antigénique annonçant un des principaux objectifs de l'étude à savoir l'isolement d'antigène particulièrement immunogènes. Ensuite sont abordés les aspects cliniques et épidémiologiques des Mycoplasmes chez les bovins et chez les petits ruminants.

La partie « Matériel et Méthodes », les résultats bactériologiques de l'enquête et ceux de l'infection expérimentale est bien équilibrée par rapport à la première partie « bibliographique ».

II) OBJECTIFS

Ils sont originaux puisqu'aussi en médecine humaine qu'en médecine animale, l'étude des Mycoplasmes est limitée à des spécialistes.

L'isolement fastidieux est réussi de ces bactéries de même que l'étude sérologique prouve

l'existence des différentes espèces de Mycoplasmes et éventuellement leur rôle pathologique. L'auteur tente dans une 2^{ème} partie d'identifier les antigènes de *M.agalactiae*

reconnus par les animaux infectés expérimentalement.

III) NIVEAU SCIENTIFIQUE DE L'ETUDE

Très bon niveau de la partie pratique bien détaillée et explicite sans omettre la partie bibliographique. L'auteur discute facilement de la pertinence des résultats, permettant au lecteur de faire le point tout au long de son étude.

IV) BIBLIOGRAPHIE

Elle est suffisante et comprend les meilleurs auteurs en Mycoplasmatologie.

En conséquence, ce vaste travail mérite amplement d'être soutenu.

COMPOSITION DU JURY :

Président : Pr. R.OUZROUT (Centre Universitaire El-Taref)

Membres : Pr. K.BENLABED (Faculté de Médecine- Constantine)

Pr. M.BENSOUILAH (Université de Annaba)

Pr.B. AIT-KAKI (Faculté de Médecine- Constantine)

Encadreur : Pr.F.SMATI (Faculté de Médecine- Constantine)

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

ETUDE EXPERIMENTALE

PREMIERE PARTIE

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

I. GENERALITES SUR LES MYCOPLASMES

1.1. DEFINITION – HISTORIQUE – TAXONOMIE.....	12
1.2. CARACTERES PHYSIOLOGIQUES ET CULTURAUX.....	16
1.2.1. NUTRITION ET BESOINS DE CROISSANCE	16
1.2.2. CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE CROISSANCE.....	17
1.2.3. CARACTERES CULTURAUX.....	18
1.3. CARACTERES ANTIGENIQUES ET IMMUNOGENES.....	19
1.3.1. STRUCTURE ANTIGENIQUE.....	19
1.3.1.1. ANTIGENES CYTOPLASMIQUES.....	19
1.3.1.2. ANTIGENES MEMBRANAIRES.....	19
1.3.2. CARACTERES IMMUNOGENES.....	20
1.3.2.1. IMMUNITE HUMORALE.....	20
1.3.2.2. IMMUNITE CELLULAIRE.....	21
1.4. VARIABILITE ANTIGENIQUE DES MYCOPLASMES ²¹	
1.4.1 REACTIONS CROISEES.....	24
1.5. TECHNIQUES D’ETUDE DES CARACTERES ANTIGENIQUES.....	24
1.5.1. ELECTROPHORESE SUR GEL DE POLYACRYLAMIDE (PAGE).....	24
1.5.1.1 PRINCIPE DE LA METHODE.....	24
1.5.1.2. GENERALITES.....	25
1.5.1.3 ELECTROPHORESE SUR GEL DE POLYACRYLAMIDE EN MILIEU DENATURANT(SDSPAGE).....	26
1.5.2. LE WESTERN BLOT (OU IMMUNOBLOT).....	27
1.5.2.1. PRINCIPE DE LA METHODE.....	27
1.5.2.2. LE TRANSFERT.....	27
1.5.2.2.1. LES TYPES DE TRANSFERT.....	28
1.5.2.2.2. LES CONDITIONS DE TRANSFERT.....	28
1.5.2.2.3. LES ARTEFACTS DE TRANSFERT.....	28
1.5.2.3. LES MEMBRANES.....	29
1.5.2.4. LES SYSTEMES DE DETECTION.....	29
1.5.2.4.1. COLORATION ASPECIFIQUE.....	29
1.5.2.4.2. MARQUAGE SPECIFIQUE AVEC UN PREMIER LIGAND.....	30
1.5.2.4.3. MARQUAGE SPECIFIQUE AVEC UN SECONDOU UN TROISIEME LIGAND.....	30
1.5.2.5. LES SYSTEMES DE REVELATION.....	30

1.5.2.5.1. LA RADIOACTIVITE.....	30
1.5.2.5.2. LE MARQUAGE ENZYMATIQUE.....	31
1.5.2.5.3. LE SYSTEME AVIDINE-BIOTINE.....	31
1.5.2.6. LAVAGE DE LA MATRICE.....	31
1.6. ELISA.....	31
1.6.1. PRINCIPE DE LA METHODE.....	31
1.6.2. DOSAGE DE TYPE COMPETITIF.....	31
1.6.3. DOSAGE DE TYPE NON COMPETITIF (OU SANDWICH).....	31
1.7. MECANISMES DU POUVOIR PATHOGENE.....	31
1.7.1. CARACTERES MORPHOLOGIQUES.....	33
1.7.2. FACTEURS METABOLIQUES.....	34
1.7.2.1. TOXICITE GENERALE.....	35
1.7.2.2. TOXICITE SPECIFIQUE.....	35
1.7.3. MECANISMES BIOLOGIQUES.....	37
1.7.3.1. PROCESSUS AUTO-IMMUNITAIRE.....	37
1.7.3.2. IMMUNO-MODULATION.....	38
1.7.3.2.1. IMMUNO-SUPPRESSION.....	39
1.7.3.2.2. IMMUNOSTIMULATION.....	39

CHAPITRE II

ii. ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUES DES MYCOPLASMES DES RUMINANTS

2.1. MYCOPLASMES DES BOVINS.....	40
2.1.1. ASPECT ECOLOGIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE.....	40
2.1.1.1. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE.....	40
2.1.2. TROPISME D'ESPECE.....	42
2.1.3. TROPISME TISSULAIRE D'ORGANE.....	43
2.1.4. ASPECT CLINIQUE.....	44
2.1.4.1. MAMMITES.....	45
2.1.4.2. POLYARTHRIQUES.....	45

2.1.4.3. PNEUMONIE.....	45
2.1.4.4. INFECTIONS OCULAIRES.....	46
2.1.4.5. INFECTIONS DU TRACTUS URO-GENITAL.....	46
2.2. MYCOPLASMES DES PETITS RUMINANTS.....	46
2.2.1. ASPECT ECOLOGIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE.....	48
2.2. 1.1. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE.....	49
2.2.2. TROPISMES D'ESPECE.....	51
2.2.3. TROPISME DU TISSU.....	53
2.2.4. ASPECT CLINIQUE.....	53
2.2.4.1. MAMELLE.....	55
2.2.4.2. APPAREIL RESPIRATOIRE.....	57
2.2.4.3. LESIONS OCULAIRES.....	60
2.2.4.4. LESIONS ARTICULAIRES.....	60
2.2.5. LE PORTAGE DES MYCPLASMES.....	61

CHAPITRE III

III-ETUDES DE L'INFECTION MYCOPLASMIQUES CHEZ LES PETITS RUMINANTS

3.1. INTRODUCTION.....	63
3.2. ETUDE DE MYCOPLASMES DES PETITS RUMINANTS.....	64
3.2.1. MORPHOLOGIE ET STRUCTURE.....	64
3.2.1.1. MORPHOLOGIE.....	64
3.2.1.2. STRUCTURE.....	64
3.2.2. CARACTERES CULTURAUX ET BIOCHIMIQUES.....	65
3.3. ETUDE DE L'INFECTION NATURELLE.....	65
3.3.1. EPIDEMIOLOGIE.....	66
3.3.1.1. RECEPTIVITE.....	66
3.3.1.2. INCIDENCE ET PREVALENCE.....	66

3.3.1.3. SOURCES DE CONTAMINATION ET VOIE DE PENETRATION.....	66
3.3.2. SYMPTOMES.....	67
3.3.2.1. CHEZ LA CHEVRE.....	67
3.3.2.2. CHEZ LES MOUTONS.....	68
3.3.3. LESIONS.....	69
3.3.3.1. LESIONS MACROSCOPIQUES.....	69
3.3.3.2. LESIONS MICROSCOPIQUES.....	69
3.3.4. DIAGNOSTIC.....	69
3.3.4.1. DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUE.....	70
3.3.4.2. DIAGNOSTIC DIRECT.....	70
3.3.4.2.1. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION.....	70
3.3.4.2.2. DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE (INDIRECT).....	70
3.3.5. TRAITEMENT DES INFECTIONS A MYCOPLASMES ET ANTIBIOTIQUES	71
3.3.6. PROPHYLAXIE.....	72
3.4. INFECTION EXPERIMENTALE A <i>M.capricolum</i>	73
3.4.1. INFECTION EXPERIMENTALE DES CAPRINS.....	73
3.4.1.1. INFECTION DES JEUNES CHEVREAUX.....	73
3.4.1.2. INFECTION DES CHEVRES ADULTES.....	74
3.4.2. INFECTION EXPERIMENTALE DES OVINS.....	74
3.5. CONCLUSION.....	76

DEUXIEME PARTIE
PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV

ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE DES MYCOPLASMES DANS LA REGION
DE CONSTANTINE

4.2.2.2. DEPISTAGE SEROLOGIQUE.....	87
4.2.3.. MYCOPLASMES ISOLES SUR LES ANIMAUX DESTINES A ETRE ABATTUS DANS L'ABATTOIR DU KHROUB.....	93
4.2.4. ANTIBIOSENSIBILITE.....	94
4.2.5. DEPISTAGE SEROLOGIQUE DE <i>M.CAPRICOLUM</i> ET <i>M.AGALACTIAE</i>	95
4.2.5.1. RESULTATS DE FIXATION DU COMPLEMENT.....	95
4.2.5.2. RESULTATS DE L'E.L.I.S.A.....	97
CONCLUSION.....	98
4.3. DISCUSSION.....	99
4.3.1. EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS A MYCOPLASMES CHEZ LES PETITS RUMINANTS.....	99
4.3.1.1. PROTOCOLE D'ETUDE.....	99
4.3.1.1.1. FREQUENCE GLOBALE.....	99
4.3.1.1.2. ESPECES ISOLEES.....	100
4.3.1.1.2.1. <i>MYCOPLASMA capricolum</i>	100
4.3.1.1.2.2. AUTRES ESPECES.....	102
4.3..2. INTERVENTION DES MYCOPLASMES DANS LA PATHOGENIE DES PNEUMOPATHIES.....	102
4.3..3. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES DES SOUCHES ISOLEES.....	103
4.3.3.1. CARACTERES CULTURAUX.....	103
4.3.3.2. CARACTERES BIOCHIMIQUES.....	103
4.3.3.3. INHIBITION DE CROISSANCE.....	104
4.3.3.4. ANTIBIOSENSIBILITE.....	104
4.3.3.5. DEPISTAGE SEROLOGIQUE.....	105

CHAPITRE V

APPLICATION DE L'IMMUNOBLOT À L'ETUDE DES SERUMS DE MOUTONS
INFECTES EXPERIMENTALEMENT

5.1. MATERIEL ET METHODES.....	107
5.1.1. MYCOPLASMES UTILISES.....	107
5.1.2. PREPARATION DES MYCOPLASMES.....	107
5.1.3. DOSAGE DES PROTEINES.....	107
5.1.4. ORIGINE DES SERUMS.....	107
5.1.4.1. MYCO I.....	108
5.1.4.2. MYCO II.....	108
5.1.5. ANTICORPS MONOCLONAUX.....	109
5.1.6. ELECTROPHORESE (SDS-PAGE).....	109
5.1.7. WESTERN BLOT (IMMUNOBLOT).....	111
5.2. RESULTATS.....	113
5.2.1. RESULTATS DE L'INFECTION EXPERIMENTALE.....	113
5.2.2. RESULTATS DE L'IMMUNOBLOT.....	114
5.2.3. PROFIL ELECTROPHORETIQUE DES SOUCHES DE MYCOPLASMES	114
5.2.4. COMPARAISON DES SYSTEMES DE REVELATION.....	115
5.2.5. ANTIGENES DE <i>M.AGALACTIAE</i> RECONNUS PAR LE SERUM DE MOUTONS INFECTES EXPERIMENTALEMENT.....	115
5.2.6. COMPARAISON AVEC LES ANTICORPS MONOCLONAUX.....	120
5.2.7. ANTIGENES DE <i>M.AGALACTIAE</i> RECONNUS PAR LES SERUMS DE TERRAIN.....	120
5.2.8. ANTIGENES DE <i>M.AGALACTIAE</i> (S88) RECONNUS PAR LES SERUMS DE MOUTONS INFECTES EXPERIMENTALEMENT.....	124
5.2.9. REACTIONS CROISEES.....	124
5.3. DISCUSSION.....	125
 CONCLUSION.....	 127
 <u>CONCLUSIONS GENERALES</u>	 128
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	130
ANNEXES.....	152

RESUME

SUMMARY

RESUME EN ARABE

LISTE RECAPITULATIVE DES TABLEAUX, FIGURES ET SCHEMAS

INTRODUCTION

Nous assistons depuis quelques années à une augmentation continue du prix de la viande et du lait, cette situation est due essentiellement à une inadéquation entre l'offre et la demande, cette dernière demeurant supérieure malgré les efforts d'amélioration de la productivité entrepris par les autorités.

La cause essentielle à ce déséquilibre est multifactorielle. Il s'agit d'une mauvaise conduite du troupeau : la gestion du troupeau n'a pas bénéficié de progrès et d'amélioration ; la reproduction est mal maîtrisée ; l'inexistence d'une sélection génétique et les maladies infectieuses en général ne sont pas maîtrisées et se maintiennent à l'état endémique.

Dans son programme global de développement de l'agriculture, l'Algérie entreprend un véritable effort d'amélioration de la productivité dans tous les secteurs de l'élevage, malgré la diminution importante de ses effectifs entraînée par les sécheresses successives qui ont décimé une partie importante du cheptel national.

Dans cette amélioration de la productivité, l'élevage ovin occupe une place importante, cependant plusieurs facteurs entravent ce développement. Parmi ces facteurs, les maladies infectieuses trouvent un terrain propice pour provoquer des pertes économiques sévères : mortalités, frais vétérinaires et surtout retard de croissance.

Parmi les dominantes pathologiques, on peut citer les entérotoxémies, la clavelée, les avortements infectieux, le piétin et les entérites infectieuses.

En l'absence des manifestations cliniques des maladies respiratoires, un travail tel que le nôtre n'a jamais été entrepris sur les infections à mycoplasmes des petits ruminants en Algérie.

L'étude des mycoplasmes est surtout intéressante à plus d'un titre :

- sur le plan clinique : on décrit de plus en plus, d'affections associées à l'isolement des mycoplasmes chez l'homme, chez les animaux (COTTEW G.S., 1984 ; POUMARAT F. *et al.*, 1991 ; THIAUCOURT F. 1997) et chez les plantes, avec un rôle bien déterminé.

- Sur le plan scientifique: les mycoplasmes, bactéries sans paroi, sont des organismes fragiles et extracellulaires. Leur génome est limité, mais présentant une faculté d'adaptation très importante (WISE K.S., 1993), en maintenant leur présence chez l'hôte et en provoquant un effet pathogène. La mise en évidence récente de systèmes d'information génétique permettant de modifier la nature et la structure des composants architecturaux de la surface membranaire pourrait expliquer les mécanismes de survie utilisés par ces procaryotes (WATSON H.L. *et al.* 1993 ; YOGEV *et al.*, 1991 ; 2002).

GENERALITES SUR LES MYCOPLASMES

1.1. DEFINITION - HISTORIQUE - TAXONOMIE :

Les mycoplasmes sont des procaryotes qui se distinguent des bactéries par l'absence totale de l'enveloppe externe et de ses précurseurs.

Cette propriété leur confère un ensemble de caractères particuliers de groupe :

- pléomorphisme
- sensibilité aux chocs osmotiques, à l'alcool, aux solvants et aux détergents, aux anticorps spécifiques et au complément.
- filtrabilité à travers des filtres de 450 nm de diamètre de pores.
- aspect en « œuf sur le plat » des colonies, incrustées dans la gélose.
- résistance absolue à la pénicilline et autres substances antibactériennes qui dégradent ou inhibent de manière spécifique la synthèse du peptidoglycane (lysozyme, endolysines.)

Ces micro-organismes sont regroupés dans la classe des Mollicutes (du latin : mollis = mou ; cuti = peau) ; il s'agit d'une classe à part dans le règne des procaryotes (EDWARD et FREUNDT ; 1967). Ce sont les plus petits organismes connus, capables de se multiplier d'une manière autonome, en milieu acellulaire (RAZIN 1981a ; 1983). Certaines formes coccoïdes ont un diamètre de 300 nm.

La structure des mycoplasmes apparaît extrêmement simple : elle comporte une membrane plasmique autour du cytoplasme ; ce dernier renferme des ribosomes et une molécule de DNA à double chaîne circulaire.

Le génome, de type procaryotique, a une taille de l'ordre de $5 \cdot 10^8$ à $1 \cdot 10^9$ daltons, ce qui représente environ le dixième de celui d'*Escherichia coli* et la moitié de celui des rickettsies (BARRE *et al.*, 2004).

Le rapport Guanine - Cytosine (G+C) de leur D.N.A., nettement inférieur à celui de la plupart des autres microorganismes, limite leur capacité d'informations génétiques ; ce qui explique la complexité de leurs exigences nutritionnelles et leur mode de vie parasite ou saprophyte (RAZIN, 1981a).

L'habitat naturel des mollicutes est très diversifié :

Chez l'homme, et pratiquement tous les vertébrés, ces microorganismes ont soit un rôle pathogène, soit le plus souvent, se comportent comme des commensaux.

La plupart des mycoplasmes présentent une spécificité d'hôte, cependant certains (*M. arginini*, *M. bovis genitalium*, *M. gallinarum*) peuvent infecter plusieurs espèces animales (LEACH 1970 - PERREAU et JOUBERT 1982), ou même connaître une distribution ubiquiste, comme *A. laidlawi*.

Chez les plantes et les insectes, la famille des Spiroplasmataeae est la mieux connue. Ses représentants sont à l'origine de nombreuses maladies des plantes, comme le « Stubborn » des agrumes, dû à *S. citri*.

Un second groupe de mycoplasmes des plantes (M.L.O. = Mycoplasma Like Organisms), non encore isolé au laboratoire est à l'origine des « maladies jaunes » des plantes.

Ces mycoplasmes sont transmis par des arthropodes, sur lesquels ils peuvent également exercer un effet pathogène (WITHCOMB et BOVE, 1983).

Enfin, les mycoplasmes contaminent fréquemment les cultures cellulaires et entravent leurs activités, soit en produisant un effet cytopathogène sévère, soit par inhibition de la synthèse des carbohydrates, des protéines ou des acides nucléiques (BARILE, 1981)

Les dates marquantes dans l'histoire de la mycoplasmologie peuvent être présentées comme suit :

1898 : isolement par NOCARD et ROUX de l'agent de la péripneumonie contagieuse bovine (P.P.C.B.) ; premier mycoplasme connu.

1923 : isolement par BRIDRE et DONATIEN de l'agent causal de l'agalactie contagieuse des petits ruminants.

1931 : première description des formes T (de l'anglais : Thin), aujourd'hui dénommés uréaplasmes, dans des cas de métrite humaine.

1935 : attribution du nom P.P.L.O. (Pleuropneumonia Like Organisms) par KLIENBERGER à tous les microorganismes possédant les caractères de l'agent de la P.P.C.B., dénommé plus tard *M.mycoïdes* (EDWARD et FREUNDT, 1956).

1962 : l'agent d'Eaton, isolé aux U.S.A. , vingt ans auparavant, à partir de lésions de pneumonie primaire atypique chez l'homme et considéré comme un virus, est reconnu comme étant un mycoplasme (CHANOCK *et al.*, 1962).

1967 : EDWARD et FREUNDT regroupent tous ces microorganismes dans la classe des Mollicutes.

1973 : SAGLIO *et al.*, proposent de regrouper les mycoplasmes des plantes dans le genre *Spiroplasma*.

La classification actuelle des mycoplasmes, donnée par le « sous comité de taxonomie des Mollicutes » est consignée dans le tableau 1.

CLASSE : Mollicutes

ORDRE : Mycoplasmatales

FAMILLE I : Mycoplasmataceae :

Regroupe des mycoplasmes pathogènes pour l'homme et les animaux

1. Stérol exigé pour la croissance.
2. Taille du génôme approximative : 5.10^8 daltons.
3. NADH oxydase localisée dans le cytoplasme.

GENRE I : Mycoplasma (80 espèces connues)

N'hydrolyse pas l'urée.

GENRE II : Uréaplasma (2 espèces avec plusieurs sérotypes)

Hydrolyse l'urée

FAMILLE II: Spiroplasmataceae :

Isolées surtout chez les insectes et les plantes

1. Forme en hélice durant certaines phases de croissance
2. Stérol exigé pour la croissance.
3. Taille approximative du génome : 10^9 daltons.

GENRE I : Spiroplasma (4 espèces connues)

ORDRE : Acholeplasmatales

Composé d'espèces répandues dans la nature, rarement pathogènes

FAMILLE: Acholeplasmataceae

1. Stérol non exigé pour la croissance.
2. Taille du génome approximative : 10^9 daltons
3. NADH oxydase localisée à la membrane.

GENRE I : Acholeplasma (1 espèce connue)

ORDRE : ANAEROPLASMATALES

Espèces strictement anaérobies, isolées chez les ruminants.

FAMILLE: Anaéroplasmatales

GENRE : Anaéroplasma

- certaines souches exigent les stérols
- taille du génome non encore définie
- sensibilité à la digitonine variable

GENRE : Astéroplasma

- n'exige pas les stérols
- taille du génome est 1.109 d

TABLEAU I : Taxonomie de la classe des Mollicutes (d'après RAZIN et col. 1998).

Durant ces dernières années, de nombreuses propriétés physiologiques sont venues étayer les caractères de différenciation entre les Mycoplasmataceae et les Acholeplasmataceae. La phylogénie de ces microorganismes est en train de connaître de nouveaux développements grâce à certaines méthodes génétiques comme l'analyse du R.N.A. ribosomal 16 S qui a permis d'émettre l'hypothèse d'un ancêtre commun avec les bactéries à gram positif et notamment avec les clostridies (WOESE *et al.*, 1980 ; FOX *et al.*, 1980 ; RAZIN *et al.*, 1984).

Par ailleurs, la comparaison de la composition en lipides révèle des différences notables entre les mycoplasmes et laisse supposer qu'ils seraient des formes dégénératives de divers genres bactériens, ayant perdu la faculté de synthétiser une paroi. En particulier, les acholeplasmes ont une structure lipidique proche de celle des streptocoques (LANGWORTHY, 1983).

1.2. CARACTERES PHYSIOLOGIQUES ET CULTURAUX :

1.2.1. Nutrition et besoins de croissance :

Les capacités de biosynthèse des mycoplasmes sont limitées. Ils nécessitent de nombreux précurseurs pour la synthèse des macromolécules. A titre d'exemple, la présence de stérols est

exigée par tous les mollicutes à l'exception des acholeplasmes. Ceci est mis à profit dans les tests d'identification au laboratoire (TULLY, 1983).

Les sources d'énergie utilisables dans la synthèse des macromolécules sont variables :

- les acholeplames produisent des acides à partir des glucides.
- le genre *Mycoplasma* peut être divisé en 2 groupes :
 - Un groupe fermente les glucides en produisant de l'acide à partir du glucose, du fructose, du mannose, du maltose, de l'amidon et du glycogène.
 - L'autre groupe tire son énergie du métabolisme de l'arginine par la voie de l'arginine dihydrolase. La plupart des espèces non fermentatives possèdent de l'arginine déaminase (TULLY et RAZIN, 1977).

Cependant l'arginine ne représenterait qu'une source complémentaire d'énergie à côté d'autres comme celle proposée pour *M. hominis* grâce à l'action de la phosphate acetyl transférase et de l'acetyl-kinase sur leurs substrats (RODWELL et MITCHEL, 1979).

- La source d'énergie pour *Ueaplasma* serait fournie par l'hydrolyse de l'urée (ROMANO *et al.*, 1980).

De nombreux milieux utilisés pour la culture des mycoplasmes dérivent du milieu d'EDWARD qui contient généralement des peptones, de l'infusion de cœur de bœuf, du D.N.A., de l'autolysat de levure, du sérum animal et du NaCl ou une autre solution non ionique (EDWARD, 1947).

1.2. 2 .Conditions physico-chimiques de croissance :

- une pression osmotique de 10 à 14 atmosphères est nécessaire pour assurer une bonne croissance (LEACH, 1962). Cette pression est habituellement obtenue par incorporation de sels de sodium ou de potassium.

- le pH optimum se situe entre 7 et 8 pour la plupart des mycoplasmes ; une baisse de ce pH à des valeurs inférieures à 6,5 entraîne un arrêt de la croissance, suivi de mort cellulaire. Le même effet est provoqué par une trop forte augmentation du pH par les souches productrices d'ammoniaque à partir de l'arginine ou de l'urée.

- la température optimale de croissance est de 36 à 37°C. Toutefois pour les spiroplasmales, la croissance est meilleure à 30°C (EDEN-GREEN, 1983). Certaines espèces se multiplient même à 22°C (TULLY, 1979).

- l'agitation des cultures améliore généralement la croissance. Certaines espèces comme *M. orale* requièrent de l'oxygène à une pression partielle réduite. (CLYDE, 1983).

En milieu solide, une atmosphère composée de 5 % de CO₂ et de 95 % de N₂ peut être optimale, notamment pour les uréaplasmes (CLYDE, 1983).

Il existe également des mycoplasmes strictement anaérobies (ROBINSON, 1979).

Les agents réducteurs comme la cystéine, le thioglycollate ou l'acide ascorbique peuvent être stimulateurs, même pour des espèces dont la croissance est améliorée par agitation (RODWELL, 1983).

1.2.3. Caractères cultureux :

- en milieu liquide, apparaissent des ondes soyeuses ou un trouble homogène avec un dépôt léger qui se met en suspension à la moindre agitation.

- en milieu solide, les colonies ont l'aspect caractéristique d'un « œuf sur le plat », avec un centre surélevé et une zone périphérique régulière mince, et plus clair. Elles sont incrustées dans la gélose, au moins par leur centre. Cette forme typique est cependant loin d'être constante à l'isolement : les colonies jeunes n'ont souvent que leur centre ; leur zone périphérique s'accroît au cours du vieillissement. Les colonies d'uréaplasmes sont dépourvues de zones périphériques (SHEPARD, 1956). La taille des colonies varie de 10 à 600 microns ; pour *M. mycoïdes* elle peut atteindre jusqu'à 1 à 2 mm (ERNO et STIPKOVITS, 1973).

1.3. CARACTERES ANTIGENIQUES ET IMMUNOGENES

1.3.1. Structure antigénique :

L'étude des antigènes des mycoplasmes est limitée par les problèmes que posent leur préparation et leur purification (KENNY, 1979). Cependant, grâce aux méthodes d'analyse antigénique comme l'immunodiffusion double (CROWLE, 1973), l'immunoélectrophorèse double ou croisée (JOHANNSON et WROBLEWSKY., 1983) et surtout l'électrophorèse en gel de polyacrylamide, après action du dodécyl sulfate de sodium (MOUCHES et BOVE, 1983), il a été possible de fractionner et de tracer l'esquisse de la carte antigénique de nombreuses espèces de mollicutes.

Les antigènes étudiés sont, d'une part les antigènes cytoplasmiques, ayant une structure relativement constante à l'intérieur d'un groupe d'espèce et, d'autre part, les antigènes membranaires, de surface, permettant de distinguer les différences entre souches d'une même espèce (MOUCHES *et al.*, 1979 , 1982).

1.3.1.1. Antigènes cytoplasmiques :

Il s'agit des protéines enzymatiques et des acides nucléiques dont la purification est difficile (KENNY, 1979). Leur intérêt est essentiellement d'ordre taxonomique. A titre d'exemple, la comparaison de l'arginine-déiminase provenant de 3 espèces arginine positive (*M.arginini*, *M.hominis*, *M. gallinarum*) a révélé une parenté entre *M. arginini* et *M. hominis* et une spécificité différente pour *M. gallinarum*. (KENNY, 1979).

1.3.1.2. Antigènes membranaires

Ils revêtent un grand intérêt du fait qu'ils sont directement accessibles au système immunitaire. En outre, leur obtention est aisément réalisable par lyse cellulaire (RAZIN, 1981 b).

Du point de vue chimique, ce sont des glycolipides et des protéines.

- les glycolipides de *M. pneumoniae* dont la fraction glucidique est composée de glucose et de galactose sont des haptènes. Ils sont les supports de la spécificité des réactions sérologiques (FERNALD, 1979).

- les protéines constituent 50 à 80 % du poids sec des membranes (RAZIN, 1981b ; TOLA *et al.*, 1999). Une grande proportion de ces protéines est intimement liée aux lipides membranaires et (FLITMAN-TENE R. *et al.* 1997), par conséquent, insoluble. Les techniques de solubilisations drastiques et le fractionnement par l'électrophorèse en gel de polyacrylamide ont montré l'existence, pour certains mycoplasmes, de plusieurs dizaines de bandes de polypeptides (jusqu'à 60 bandes). C'est ainsi qu'on a pu purifier l'antigène majeur de *S.citri* ou spiraline (WROBLEWSKI *et al.*,1977).

La composition protéique de la membrane est considérée comme un critère stable d'appartenance à une espèce donnée de mycoplasme, avec toutefois des différences entre souches de la même espèce. Il existe, par, exemple, un constituant spécifique à la souche G 230 de *M. arginini*, qui n'a pas été retrouvé chez deux autres souches appartenant à cette espèce (ALEXANDER et KENNY, 1980).

De même, il a été possible d'établir une corrélation entre les groupes sérologiques des uréaplasmes humains et bovins et leurs cartes polypeptidiques (HOWARD *et al.*, 1981 ; MOUCHES *et al.*, 1981).

1.3. 2. Caractères immunogènes :

1.3. 2.1. Immunité humorale :

Les mycoplasmes induisent la production d'anticorps appartenant à différentes classes d'immunoglobulines (Ig G ; Ig M ; Ig A). Ces immunoglobulines présentent deux propriétés fondamentales : le pouvoir opsonisant et la capacité d'inhiber l'attachement aux surfaces des muqueuses (KENNY, 1979 ; MARTIN W.B., 1996)).

L'état d'infection est révélé par différentes catégories de réactions sérologiques :

- réactions basées sur l'inhibition ou la lyse des mycoplasmes :
 - . inhibition de croissance (NICOL et EDWARD.,1953).
 - . inhibition du métabolisme (PURCEL *et al.*, 1966).

- . lyse par le complément (BRUNNER *et al.*, 1971).
- réactions sérologiques classiques :
 - . agglutination
 - fixation du complément
 - . immunofluorescence
 - . E.L.I.S.A.
- réactions basées sur l'identification antigénique :
 - . immunodiffusion double (CROWLE, 1973).
 - . immunoélectrophorèse simple et double (KENNY, 1979)
 - . électrophorèse en gel de polyacrylamide (LAEMMLI, 1970).

La technique des anticorps monoclonaux, appliquée à l'immunologie des infections à mycoplasmes, améliorera vraisemblablement la spécificité de ces réactions sérologiques (Mc GARITTY, 1983) et (SALIH BA. *et al.*, 2001).

Le tableau N°2 (KENNY, 1979) compare la sensibilité et la spécificité de ces différentes techniques sérologiques.

1.3. 2. 2. Immunité cellulaire

Les lésions péri bronchiques et péri vasculaires dans les infections respiratoires à mycoplasmes évoquent une réaction d'hypersensibilité retardée, cependant elles sont essentiellement le siège d'une prolifération des lymphocytes B (FERNALD, 1979).

L'intervention des lymphocytes T dans l'immunité n'a pas été confirmée.

1. 4. VARIABILITE ANTIGENIQUE DES MYCOPLASMES

Une des caractéristiques principales des mycoplasmes est la variabilité génomique et antigénique des souches de mycoplasmes, à l'intérieur d'une même espèce. De nombreux scientifiques se sont penchés sur la question, basant principalement leurs études sur des

mycoplasmes tels *M.bovis* et *M.ovipneumoniae* (IONAS G. *et al*, 1991 ; THIRKEL R.K. *et al*, 1990 ; 1991)).

Ainsi, l'étude de *M.bovis* par Restriction Endonuclease Analysis (REA) a permis de démontrer l'hétérogénéité génomique de différentes souches de la même espèce (POUMARAT *et al.*, 1994). Un groupement des souches de mycoplasmes est toutefois possible en s'appuyant sur une homologie génomique. Mais cela ne préjuge en rien d'une homologie antigénique, dont l'examen est effectué en Western Blot. En effet, la même équipe a démontré que l'hétérogénéité antigénique est aussi grande entre souches appartenant à un même groupe génomique, que ceux venant de groupes différents.

Cette variabilité antigénique est donc caractéristique de *M.bovis* et peut être expliquée selon POUMARAT *et al.*, 1996 par :

1/ le fait que telle ou telle souche présente ou non tel ou tel antigène.

2/ la variation du poids moléculaire des protéines d'une souche à l'autre (POUMARAT *et al.*, 1994).

De la même manière, une grande variabilité des polypeptides constitutifs des mycoplasmes, mais aussi et surtout, une variabilité antigénique des souches de *M.ovipneumoniae* a été démontrée (THIRKELL *et al.*, 1990 ; IONAS *et al.*, 1991). Selon THIRKELL *et al*, 1990, le peu de différences entre polypeptides rend difficile le classement des mycoplasmes en groupe. De plus, ils ont constaté que la plupart des polypeptides étaient antigéniques. Cette assertion a été vérifiée par un comptage des peptides : 50 peptides principaux ont été isolés, 35 ont des propriétés antigéniques avec le sérum poly clonal homologue. Selon les souches, les bandes antigéniques révélées sont différentes.

Cependant ce phénomène de variabilité pourrait être amplifié par le fait que l'apparition d'une bande de PM inférieur pourrait résulter de la transformation d'une bande de PM supérieur.

D'autre part, afin de se prémunir contre cette trop grande variabilité, IONAS *et al*, 1991 ont tenté de grouper les souches de mycoplasmes en fonction de leurs protéines membranaires. Ces dernières semblent, assurément, permettre un meilleur regroupement. L'étude est effectuée en électrophorèse, en comparant les bandes présentées par un même mycoplasme avant et après

traitement à la trypsine. Les bandes qui disparaissent après traitement sont alors supposées être relatives aux protéines membranaires.

TEST	CARACTERISTIQUES		Antigènes	Antigène	REFERENCES
	SPECIFICITE	SENSIBILITE Anticorps			
I.C	Espèce	+	++++	M	NICOL et al. 1953
-IM	Espèce/sous-espèce	+++	++++	M, S	PURCELL et al. 1966
Lyse/complément	Espèce/sous-espèce	++++	++++	M, S	BRUNNER et al. ; 1971
-FC'	Genre/espèce/s.esp.	++	++	M, C	CAMBELL et al. 1953
-IF	Espèce/sous-espèce	++++	++++	M, S	DEL GIUDICE et al. 1967
-E.L.I.S.A.	Genre/espèce	++++	++++	M, C	CLARK et al. 1978
-ID.	Genre/espèce/s.esp.	++	++	M, C	CROWLE., 1973
-IE	Genre/espèce/s.esp.	++	+++	M, C, S	KENNY., 1979

Tableau N° 2 : Tests sérologiques appliquées à l'analyse antigénique des mycoplasmes :

IC : inhibition de croissance ; IM : inhibition métabolique ; FC' : fixation du complément ;

IF : immunofluorescence ; ID : immunodiffusion ; IE : immunoélectrophorèse.

+ à ++++ : degré de sensibilité croissant

M : membrane ; S : surface ; C : cytoplasme (fraction solu

1.4.1. Réactions croisées

On a fréquemment démontré que des polypeptides antigéniques de même PM peuvent être rencontrés dans diverses espèces de mycoplasmes (KANYI-KIBE M. *et al.*, 1985).

Ainsi, *M.ovipneumoniae* a été comparé à d'autres espèces de mycoplasmes (*M.dispar*, *M.flocculare*, et *M.hyipneumoniae*) et a révélé trois protéines communes aux quatre espèces, alors qu'une seule était présente dans tous les mycoplasmes sauf dans *M.ovipneumoniae* (ZANONI C. *et al.*, 1989)

Pour la mise en exergue des réactions croisées, un élément d'investigation peut se révéler très utile : l'anticorps monoclonal (PANANGALA V.S. *et al.*, 1992). En effet, puisqu'il reconnaît spécifiquement l'épitope d'un antigène, il permet d'assurer la détection optimale d'un antigène présent dans plusieurs souches ou espèces de mycoplasmes (THIRKELL *et al.*, 1990).

1.5. TECHNIQUES D'ETUDE DES CARACTERES ANTIGENIQUES

1.5.1 Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE).

1.5.1.1. Principe de la méthode

Les protéines sont des macromolécules constituées d'acides dont certains peuvent être chargés électriquement lorsque le pH de la solution est différent de leur pKa. Il en résulte que toutes les protéines possèdent une charge nette électrique dont le signe et l'intensité varient en fonction du pH de la solution et de leur point isoélectrique (Pi) (TOWBIN H. *et al.*, 1989).

Ainsi, à un pH inférieur à leur Pi, les protéines auront une charge nette positive et se comporteront donc comme des cations lorsqu'elles seront soumises à un champ électrique. A l'inverse, à un pH supérieur à leur Pi, elles se comportent comme des anions.

Leur vitesse de migration dans un champ électrique dépend de leur densité de charge, c'est à dire du rapport [charge nette électrique] / [taille de la protéine]. Comme l'indique la relation suivante :

$$v = h \times E \times Q/r$$

v = vitesse de migration

h = constante de viscosité

E = champ électrique

Q = charge électrique de la molécule

r = rayon de la molécule (assimilée à une sphère).

Plus ce rapport est élevé, plus la protéine migrera vite dans un champ électrique donné.

Donc, en théorie, si l'on applique un champ électrique sur un mélange protéique en solution, les protéines migreront plus ou moins selon leur densité de charge. Cependant, la séparation sera minimale car, à l'origine, les protéines sont dispersées dans la solution.

Il a donc été nécessaire de travailler en électrophorèse zonale pour rendre la séparation efficace : déposées dans une étroite zone localisée à une distance suffisante des électrodes, les protéines ayant des densités de charge différentes vont traverser des zones discrètes qui les séparent graduellement au cours de l'électrophorèse.

En pratique, l'électrophorèse n'est plus effectuée en solution en raison de nombreux inconvénients comme les effets thermiques perturbant la frontière zonale, ou les phénomènes de diffusion élargissant les zones de séparation.

Afin de minimiser ces effets, l'électrophorèse est pratiquée sur un support solide : feuilles de papier ou d'acétate de cellulose, couches de silice, d'alumine ou de cellulose, gels d'agarose, d'amidon ou de polyacrylamide.

1.5.1.2. Généralités

Les gels de polyacrylamide proviennent de polymérisation d'un monomère, l'acrylamide, en présence d'un agent bi fonctionnel réticulant les chaînes polymériques entre elles. Cet agent

chimique est souvent le N,N-méthylène bisacrylamide (ou N,N,N,N-tétraméthyléthylènediamine, ou encore TEMED). La polymérisation est initiée par le persulfate d'ammonium.

La taille des pores du gel varie en fonction de la concentration totale en polyacrylamide. Ainsi, des gels à moins de 2,5% en ce monomère permettent de séparer avec effet de taille des protéines dont la masse moléculaire est environ de 10 et des gels à 30% séparent des polypeptides de 2000 de masse moléculaire.

Pour une concentration donnée en acrylamide, la taille effective des pores, la rigidité, la fragilité et les propriétés de gonflement du gel de polyacrylamide vont varier avec la concentration en TEMED : la taille des pores est ainsi, inversement proportionnelle à la quantité d'agent réticulant. Cette relation s'applique jusqu'à une concentration en TEMED égale à 5% de celle de l'acrylamide.

1.5.1.3. Electrophorèse sur Gel de polyacrylamide en milieu dénaturant (SDS-PAGE)

En présence d'agent dénaturant comme le Sodium Dodécylsulfate (SDS), il est possible de profiter au maximum de l'effet de taille des gels de polyacrylamide.

En présence de ce composé, les protéines d'un mélange vont toutes se comporter comme des anions. Elles auront la même charge nette. Le seul critère de séparation sera donc la taille.

Si l'électrophorèse d'un mélange protéique est effectuée dans ces conditions, et en parallèle d'un mélange de protéines de masse moléculaire connue, il est possible de déterminer la masse moléculaire de ces protéines (LAEMMLI, 1970).

1.5.2. Le Western Blot (ou Immunoblot)

1.5.2.1. Principe de la méthode

Transférer une protéine sur un support solide permet de caractériser rapidement et efficacement cette molécule dans un extrait brut (KOTANI *et al.*, 1980, 1985 ; GERSHONI *et al.*, 1983 ; TOWBIN , 1989).C'est une méthode sensible utilisable au cours d'une analyse immunologique ou biochimique et qui permet de déterminer la taille et les caractéristiques structurales de la molécule étudiée.

Le schéma général est le suivant :

- Séparation des protéines de l'extrait brut par électrophorèse
- Lavage du gel avant transfert, renaturation par élimination des détergents
- Transfert, les conditions de transfert (pH, force ionique, présence de méthanol) sont conditionnées par la nature de la protéine recherchée.

- Pré hybridation avec l'anticorps
- Lavage, élimination du ligand libre
- Visualisation du signal (autoradiographie, fluorescence, coloration).

Pour la séparation, on utilise l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS. Puis le gel est placé dans le système de transfert. Les conditions de transfert dépendent directement de la taille et de la charge des protéines recherchées. La matrice est ensuite prétraitée afin d'éliminer tous les sites de fixation aspécifiques, qui peuvent générer un bruit de fond, et le support est prêt pour l'étape de révélation. La protéine est détectée par incubation en présence d'un anticorps, puis la matrice est lavée pour éliminer la sonde non fixée et procède au test de mise en évidence du ligand. L'étape finale est la visualisation qui peut être faite soit par autoradiographie, soit sous lampe UV, soit encore via une réaction colorée visible à l'œil nu.

1.5.2.2. Le transfert

1.5.2.2.1. Les types de transfert

Les principaux types de transfert sont les suivants :

- par diffusion
- par passage du solvant à travers le gel
- par électroélution des protéines hors du gel : une différence de potentiel est imposée entre les deux surfaces de gel, celui-ci étant maintenu dans un tampon de basse force ionique afin d'éviter des courants électriques trop importants. En effet, ils généreraient une augmentation de température néfaste au transfert et aux protéines. Les protéines vont migrer du gel vers la matrice en fonction de leur charge.

1.5.2.2.2 Les conditions de transfert

Les paramètres les plus importants lors d'un transfert sont l'efficacité d'élution et la capacité de fixation de la matrice pour la protéine à laquelle on s'intéresse.

De façon générale, l'efficacité d'élution va dépendre de la concentration en polyacrylamide du gel, de la force ionique et du pH du tampon de transfert, ainsi que de la présence de constituant comme le SDS ou le méthanol. Ce dernier diminue l'efficacité d'élution, surtout pour les protéines de haut poids moléculaire, car il dénature le gel.

La capacité de fixation est déterminée par le caractère de la membrane et la nature du tampon de transfert. Ainsi, le méthanol améliore la capacité de fixation de la nitrocellulose en augmentant les interactions hydrophobes. Le méthanol présente aussi l'avantage de stabiliser les dimensions du gel, ce dernier ayant tendance à gonfler dans un tampon de basse force ionique, ce qui modifie la forme des bandes.

1.5.2.2.3. Les artefacts de transfert

L'artefact le plus souvent rencontré provient du fait que l'élution est fonction du poids moléculaire de la protéine, et lors de l'électroélution, de sa charge. La réplique que l'on obtient n'est donc pas strictement conforme au gel initial. Il semblerait que les peptides de petits poids

moléculaires soient d'abord élués (PM < 20kD), puis viennent ceux dont le PM n'excède pas 100 kD, et enfin, bien après seulement, les peptides de hauts PM.

1.5.2.3. Les membranes

Les membranes utilisées dans les transferts sont faites de nitrocellulose (NC), mais il en existe d'autres, comme le papier DBM (peu utilisé pour les protéines), les membranes de polyvinylidène difluoride (PVDF) ou les membranes de nylon.

En ce qui concerne les membranes de nitrocellulose, à un pH de 8 (le pH de l'électrophorèse), la nitrocellulose est chargée négativement, comme la majorité des protéines. Les interactions mises en jeu semblent donc être de type hydrophobe : les molécules sont fixées par adsorption et non par rétention mécanique.

1.5.2.4. Les systèmes de détection

Avant de procéder à la coloration des protéines immobilisées sur le support, il faut saturer tous les sites de fixation aspécifiques qui sont responsables du bruit de fond. Pour cela, on incube la membrane avec un agent bloquant (en général, c'est l'albumine bovine). Enfin, pour visualiser les protéines sur la matrice, il existe plusieurs méthodes :

- le marquage direct par un colorant aspécifique
- le marquage direct avec un ligand spécifique (anticorps)
- le marquage indirect avec deux ou trois ligands

1.5.2.4.1. Coloration aspécifique

C'est une méthode simple, qui permet d'apprécier directement l'efficacité du transfert et de connaître la position des marqueurs de taille moléculaire (standard PM). Le colorant le plus utilisé est le bleu de Coomassie.

1.5.2.4.2. Marquage spécifique avec un premier ligand

On peut détecter et donc localiser, caractériser spécifiquement une protéine sur le support en utilisant un ligand physiologique de la protéine, un anticorps spécifique ou toute autre molécule s'hybridant avec une forte affinité sur la protéine cible. On couple un groupement révélateur sur la molécule détectrice qui peut être :

- un groupement radioactif
- un groupement fluorescent
- un marqueur enzymatique

1.5.2.4.3. Marquage spécifique avec un second ou un troisième ligand

C'est la méthode la plus souvent employée, une fois le premier ligand fixé, la révélation se fait grâce à une seconde molécule, sur laquelle est greffée le système de révélation. Cette méthode présente l'avantage : est de permettre l'élimination d'une partie du bruit de fond, améliorant ainsi la résolution.

1.5.2.5. Les systèmes de révélation

1.5.2.5.1. La radioactivité

Pour le marquage des protéines, on utilise souvent l'iode 125, néanmoins cette technique présente les inconvénients liés à la manipulation des produits radioactifs.

1.5.2.5.2. Le marquage enzymatique

Le marqueur est une enzyme dont l'activité donne naissance à un produit coloré. Les enzymes les plus employées sont les peroxydases de Raifort, avec comme substrat la diaminobenzidine, le 4-chloro-1-naphtol ou le 0 – dianisidine, et la phosphatase alcaline avec l'indoxyl phosphate.

1.5.2.5.3. Le système avidine-biotine

Le système avidine-biotine est basé sur la forte affinité de l'avidine pour la biotine.

1.5.2.6. Lavage de la matrice

Une fois l'hybridation réalisée, il est nécessaire d'éliminer tout le ligand non fixé ou fixé aspécifiquement. Pour ce faire, on utilise des bains de lavages répétés et suffisamment longs dans un tampon contenant des détergents.

1. 6. ELISA

1.6.1.. Principe de la méthode

L'ELISA est une technique de dosage immunoenzymatique quantitative en phase hétérogène. En effet, on distingue deux types de procédés :

L'un en phase hétérogène, dans lequel une phase solide est nécessaire à l'immobilisation de l'anticorps associé à l'enzyme, et permet l'évaluation de l'activité du complexe antigène-anticorps-enzyme.

L'autre en phase homogène, dans lequel aucune séparation n'est nécessaire car le dosage du complexe antigène-anticorps-enzyme s'effectue directement dans le mélange réactionnel, son activité étant modifiée selon l'étendue de la réaction antigène-anticorps.

Le dosage de l'antigène par la méthode ELISA peut se faire selon un procédé du type soit non compétitif (indirect), soit compétitif (direct).

1.6.2. Dosage de type compétitif

Selon ce procédé, l'antigène à doser est mélangé avec une quantité déterminée d'antigène marqué à l'enzyme, dans des conditions telles qu'il y ait compétition entre l'antigène à doser et

l'antigène marqué pour un nombre limité de sites d'anticorps et immobilisé sur la phase solide. Quand il n'y a pas d'antigène à doser, l'activité enzymatique est la plus élevée, mais plus la quantité d'antigène est grande, moins l'antigène marqué se combine à l'anticorps immobilisé, et moins l'activité enzymatique est élevée.

L'activité enzymatique est donc inversement proportionnelle à la quantité à doser.

1.6.3. Dosage de type non compétitif (ou sandwich)

Selon ce procédé, l'antigène à doser est capté dans un premier temps par l'anticorps spécifique immobilisé sur un support. La quantité d'antigène complexé est mesurée, dans un deuxième temps, après sa réaction avec un anticorps de même spécificité couplée à une enzyme. Pour ce dosage, il est nécessaire que l'antigène possède plusieurs épitopes, de façon qu'après sa réaction avec l'anticorps immobilisé, il puisse encore réagir avec le deuxième anticorps spécifique couplé à une enzyme (BALL Y.H. *et al.*, 1994 a).

L'activité enzymatique obtenue est donc proportionnelle à la quantité d'antigène fixée sur le premier anticorps

1. 7. MECANISMES DU POUVOIR PATHOGENE

La plupart des mycoplasmes des animaux sont des parasites extracellulaires ; ils colonisent essentiellement les surfaces des muqueuses (BREDT, 1976 ; RUFFIN DC.2001).

Bien qu'ils soient impliqués dans l'étiologie de nombreuses maladies, la relation de causalité, par la mise en évidence de leurs mécanismes pathogéniques, n'a cependant été démontrée que dans un nombre limité de cas (ARCHER, 1979 a). Cela tient au fait que l'incubation prolongée et l'évolution chronique et insidieuse de ces infections rendent complexe la recherche des mécanismes de pathogénicité (BRUNNER, 1976).

Les modèles étudiés sont surtout des espèces pathogènes pour le tractus respiratoire (*M. pneumoniae*, *M. pulmonis*, *M. gallisepticum*).

Les facteurs incriminés dans le pouvoir pathogène sont d'ordre morphologique, métabolique ou biologique.

1.7.1. Caractères morphologiques :

Le fait que certaines espèces pathogènes aient une morphologie stable et caractéristique, du moins dans les conditions optimales de croissance :

- forme ovoïde de *M. gallisepticum* (BREDET, 1974).
- forme globulaire avec une terminaison caudale de *M. pulmonis* (BREDET *et al.*, 1977).
- forme filamenteuse avec une pointe bulbeuse de *M. pneumoniae* (BIBERFELD *et al.*, 1970) suggère que leur configuration moléculaire, support de cette morphologie, aurait un rôle dans le pouvoir pathogène (CLYDE et FERNALD, 1983).

En effet, ces mycoplasmes possèdent des structures terminales qui interviennent, d'une part, dans le phénomène de glissement et, d'autre part, dans les processus d'attachement aux cellules cibles (RAZIN, 1981b ; ARCHER, 1979 ; ROSENGARTEN, 1991)

Le phénomène de glissement est attribué à la nature actine-like des protéines des structures terminales (NEIMARK, 1977).

Lorsque, par glissement, le mycoplasme parvient aux cellules cibles, il s'y attache (CLYDE, 1983). L'attachement spécifique des microorganismes aux cellules-hôtes est sans doute l'une des propriétés essentielles pour démontrer leur pouvoir pathogène. Bien connu pour certains groupes viraux, notamment les Influenzavirus, Poliovirus et Adenovirus, Ce mécanisme a également été démontré pour toute une variété de bactéries : *Neisseria gonorrhoeae*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* (MIMS, 1977).

Dans le cas des mycoplasmes, les données actuelles sont encore fragmentaires, *M. pneumoniae* s'attache par son extrémité bulbeuse (« bled ») aux récepteurs cellulaires de l'acide neuraminique. Une protéine de surface (P1 ou adhésine), ayant un poids moléculaire de 190 Kda permet cet attachement. Cette protéine serait plutôt une glycoprotéine (GOEL et LEMCKE, 1975).

On pense que des glycolipides joueraient le rôle de cette glycoprotéine chez les mycoplasmes qui en sont dépourvus (CLYDE et FERNALD, 1983). *M. gallisepticum*, quant à lui, adhère aux érythrocytes au niveau des glycophorines (BANAI *et al.*, 1980).

Certains mycoplasmes adhèrent également au verre et au plastique, d'une manière non spécifique (ARCHER, 1979).

Dans le cas de *M. dispar*, les érythrocytes de bovins sont agglutinés au moyen d'un site d'attachement, éliminé par la pronase ou la trypsine. Des variations sont notées dans le pouvoir hemagglutinant de différentes souches appartenant à cette espèce (HOWARD *et al.*, 1974).

Une fois attaché aux cellules cibles, le mycoplasme se multiplie et entraîne un effet ciliostatique soit en sécrétant des catabolites toxiques, soit en se nichant entre les cils.

En outre, l'absence de paroi autorise un contact étroit entre la membrane mycoplasmatique et la surface cellulaire, ainsi des transferts antigéniques peuvent avoir lieu (WISE *et al.*, 1978).

1.7. 2. Facteurs métaboliques :

L'élimination par les mycoplasmes de produits toxiques cellulaires ou extracellulaires semble avoir pour effet soit l'exacerbation de l'attachement spécifique aux récepteurs

cellulaires, soit une action pathogène directe, notamment pour les mycoplasmes ne possédant pas d'adhésines. On peut distinguer une toxicité générale et une toxicité spécifique, liée à la production de toxine.

1.7.2.1. Toxicité générale :

- Excrétion d'ammoniaque :

L'ammoniaque est un produit du métabolisme, considéré comme facteur majeur de pathogénicité (RAZIN, 1981 a). A titre d'exemple, les uréaplasmes des bovins stoppent l'activité ciliaire des oviductes en culture d'organes, en dégradant l'urée en ammoniaque (STALHEIM et GALLACHER, 1977).

- Production de peroxyde d'hydrogène :

L'effet pathogène du peroxyde d'hydrogène est important lorsque l'association des mycoplasmes à leurs cellules hôtes est intime (cas de *M.pneumoniae*), ou lorsqu'il est produit en grande quantité comme dans l'infection à *M.mycoïdes subsp. capri* ou celle à *M.capricolum* ; il provoque alors une hémolyse (RODWELL, 1983).

1.7.2.2. Toxicité spécifique :

Un certain nombre de mycoplasmes produisent des toxines, cependant le rôle de ces toxines dans la pathogénicité n'est pas toujours bien élucidé.

- *M.mycoïdes subsp.mycoïdes* synthétise une toxine diffusible qui a été identifiée à du galactane (BUTTERY et PLACKETT, 1960). Cette toxine peut être séparée des mycoplasmes après centrifugation (HUDSON et al. 1967a). Son inoculation, par voie intra-veineuse à des veaux provoque des lésions articulaires et rénales, un oedème pulmonaire et des hémorragies. Dans certains cas, ceci s'accompagne d'hyperthermie, leucopénie et collapsus (LLOYD *et al.*, 1971 ; BUTTERY *et al.*, 1976).

Ce polysaccharide est constitué de 90 % de D- galactose, 4 % de lipides et de traces d'azote et de phosphore (GOURLAY et THROWER, 1968). Il est toxique pour l'œuf embryonné de 11 jours (VILLEMOT *et al.*, 1962). Il correspond à la capsule de *M. mycoïdes subsp. mycoïdes*. Son rôle dans la virulence serait comparable à celui des capsules bactériennes (GOURLAY, 1981).

- *M. neurolyticum*, l'agent de la maladie du roulement (« Rolling Disease ») de la souris produit une exotoxine ayant un tropisme sélectif pour le tissu nerveux (BRUNNER, 1976).

Cette toxine est facilement récoltée d'un filtrat de culture de 20h. Elle est détruite après traitement à la trypsine ou par chauffage à 45°C pendant 15 mn. Son poids moléculaire est estimé à 200.000 Da (KAKLAMANIS et THOMAS, 1970).

- *M. gallisepticum* entraîne chez la dinde un effet neurotoxique, comparable à celui provoqué par *M. neurolyticum* chez la souris (CLYDE et THOMAS, 1983). Cependant cette action n'est pas liée à l'excrétion d'une exotoxine, mais à des produits cellulaires toxiques pour les capillaires du système nerveux central. En effet, l'inactivation du mycoplasme par chauffage ou par congélations-décongélations supprime cette toxicité (KAKLAMANIS et THOMAS, 1970).

La dose toxique est de 10^{10} à 10^{11} microorganismes.

- *M. fermentans*, inoculé à la souris à la dose de 10^4 C.F.U., par voie intra-péritonéale, entraîne un choc analogue au choc endotoxinique (GABRIDGE *et al.*, 1972). Les mêmes symptômes sont provoqués par une préparation de membrane (BRUNNER, 1976).

La toxicité est inhibée par la pronase, trypsine ou lipase, mais non par un chauffage de 30 mn à 50°C (GABRIDGE *et al.*, 1972).

- *M. arthritis* et *M. pulmonis*, après injection intraveineuse à des souris ou des rats provoquent des symptômes toxiques ; par contre les voies intramusculaires et sous-cutanées n'ont aucun effet (KAKLAMANIS *et al.*, 1970). Indépendamment de la dose, les symptômes apparaissent après 1 à 48 heures : faiblesse, coma et mort en 2 à 3 heures. La dose létale est de 10^{10} C.F.U.

On pensait que seuls les mycoplasmes vivants étaient pathogènes, mais, récemment il a été démontré que la toxicité de *M.arthritis* est associée à des structures membranaires et une toxine thermolabile, sensible à la trypsine et à la lipase a été identifiée.

- *M.bovis* sécrète une toxine phlogogène de nature polysaccharidique, ayant un poids moléculaire de 73000 Da. Cette toxine est responsable d'une augmentation de la perméabilité vasculaire et de l'inactivation du complément (GEARY *et al.*, 1981).

Injectée par voie intramusculaire à des bovins, elle occasionne une mammité, en tous points identique à la mammité à *M.bovis*.

- *M.pneumoniae* provoque la nécrose des cultures de trachées de hamster, que l'on inocule des cellules vivantes ou des membranes à la concentration de 25 µg protéine / ml. Les membranes obtenues par congélation - décongélation sont deux fois plus actives que celles obtenues par sonification ou par lyse osmotique (GABRIDGE *et al.*, 1974).

- *M.hyopneumoniae* possède une toxicité similaire, des cellules vivantes, à la concentration de $7,5 \cdot 10^6$ à $1,25 \cdot 10^7$ C.F.U. / ml, additionné de 2 µg / ml de membrane obtenue par congélation décongélation entraînent un effet cytopathogène sur des cultures de fibroblastes humains ou porcins (GEARY et WALCZAK, 1983).

1.7.3. Mécanismes biologiques

Certains mycoplasmes ont la capacité d'échapper aux mécanismes de défense de l'organisme (RUFFIN *et al.*, 2001), entraînant ainsi des infections persistantes, pouvant demeurer durant toute la vie de l'hôte. La P.P.C.B. La bronchiectasie et l'arthrite murines en sont de bons exemples.

Deux processus sont impliqués dans ces phénomènes : le mimétisme biologique et l'immuno - modulation.

1.7.3.1. Processus auto-immunitaire

Il est illustré par les perturbations du système immunitaire chez les personnes atteintes de pneumonie atypique à *M. pneumoniae* :

- des agglutinines anti- streptocoque sont élaborées par l'organisme ; en effet *M. pneumoniae* et *Streptococcus M.G.* possèdent en commun un glycosyl diglycéride, responsable de ces réactions antigéniques croisées (PLACKETT *et al.*, 1969).
- des auto-anticorps anti-poumons, détectables par la fixation du complément sont élaborés par certains patients, de même que des anticorps dirigés contre le système nerveux et le tissu cardiaque (BIBERFELD, 1979). Le mécanisme d'apparition de ces anticorps demeure inconnu. Cependant, du moment que la F.C. met en oeuvre les antigènes glycolipidiques, ayant des similitudes avec la sphingomyéline, la cardiolipine et des substances aussi diverses que le streptocoque ou les épinards, il est évident que la spécificité de la réaction soit douteuse.
- des hémagglutinines froides sécrétées dans les tumeurs. Elles sont responsables de réactions croisées entre *M. pneumoniae* et l'antigène I des érythrocytes humains (CLYDE et FERNALD, 1983).

1.7.3.2. Immuno- modulation

1.7.3.2.1. Immuno- suppression:

M. pneumoniae a provoqué des réactions anergiques à la tuberculine qui ont persisté pendant 3 à 6 semaines et dans certains cas jusqu'à 5 mois (BIBERFELD et STERNER, 1976). Plusieurs hypothèses ont été invoquées pour expliquer cette immuno- suppression.

- Suppression de l'immunité humorale :

- des rats inoculés simultanément avec *M. arthritidis* et le phage $\phi 5$ anti-*pseudomonas* n'ont pas produit d'anticorps vis-à-vis de ce dernier (CLYDE et FERNALD, 1983).
- de même l'inoculation de lapins à l'aide de membranes isolées de ce mycoplasme inhibe la réponse anticorps aux antigènes d'*E.coli* (BERQUIST *et al.*, 1974).

Ainsi le médiateur de cette immunosuppression serait localisé au niveau de la membrane du mycoplasme.

- Suppression de l'immunité cellulaire :

. dans les expériences précédentes, on a également noté une diminution de la réponse des lymphocytes à la phytohemagglutinine, ce qui indique une diminution de la réponse immunitaire à médiation cellulaire.

1.7.3.2.2. Immuno stimulation

M. pulmonis exerce un effet mitogène non spécifique sur les lymphocytes de rat in vitro (CLYDE et FERNALD, 1983). L'activité mitogène du mycoplasme est liée à des protéines membranaires. Elle concerne aussi bien les lymphocytes B que les lymphocytes T (NAOT *et al.*, 1977).

- *M. arthritidis* stimule les lymphocytes T murins.
- *M. neurolyticum* stimule les lymphocytes B murins.
- *M. pneumoniae* induit l'activation poly clonale des lymphocytes B chez la souris. Des anticorps sont produits simultanément contre différentes haptènes conjuguées à des antigènes érythrocytaires (BIBERFELD et GRONOWICZ, 1976).

Cette immuno stimulation a un support génétique : COLE *et al.* (1981) attribuent l'activité mitogénique de *M. arthritidis* à une population de macrophages porteurs du gène Ia, ce qui laisse supposer que certaines lignées de rats seraient plus sensibles à l'infection que d'autres.

En conclusion, la réponse immunitaire aux mycoplasmes apparaît complexe et encore mal connue. La colonisation prolongée des muqueuses peut résulter de leur résistance à la phagocytose, en absence d'anticorps et de l'inhibition de la réponse immune spécifique. Ainsi les lésions produites seraient pour une large part le fait de la réactivité de l'hôte, comme le laissent suggérer les propriétés mitogènes de ces microorganismes (FERNALD, 1983).

ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUES DES MYCOPLASMES DES RUMINANTS

2.1. MYCOPLASMES DES BOVINS

Au moins 18 espèces distinctes de mycoplasmes sont reconnues actuellement chez les bovins (GOURLAY et HOWARD., 1979). L'intérêt considérable que présentait *M. mycoides subsp. mycoides* en pathologie bovine a longtemps relégué au second plan la recherche d'autres agents étiologiques de même nature. Ce n'est qu'en 1947, en Angleterre, (un demi- siècle après la découverte de l'agent de la péripneumonie contagieuse bovine) que furent isolés deux représentants distincts du tractus génital chez des bovins atteints de stérilité : *M. bovigenitalium* et *A. laidlawii* (EDWARD *et al.*, 1947).

Le tableau N° 3 dresse la liste des espèces de mollicutes rencontrées chez les bovins et leurs caractères biochimiques différentiels.

2.1.1.. Aspect écologique et épidémiologique

2.1.1.1. Distribution géographique

- Certains mycoplasmes connaissent une distribution mondiale puisqu'ils ont été identifiés partout où ils ont été recherchés : c'est le cas de *M. bovis*, *M. bovirhinis*, *M. bovigenitalium*, *M. arginini*, *M. dispar* et *A. laidlawii*.

Le tableau 4 présente, à titre indicatif la liste des pays où la présence de *M. bovis* a été rapportée.

- D'autres mycoplasmes semblent avoir en revanche une aire d'extension relativement restreinte.

- *M. alkalescens* : isolé en Australie (HUDSON et ETHERIDGE, 1963), Nouvelle Zélande (BROOKSBANKS *et al.*, 1969), et Canada (LANGFORD, 1975).

ESPECES DE MYCOPLASME	Souche de référence	Catabolisme glucose	Hydrolyse Arginine	Phosphatase	Films and spots	Réduction tétrazolium Aérobie Anaérobie	Activité protéolytique	Hémagglutination
<i>M. alkalescens</i>	P.G 51	-	+	+	-	-/-	-	-
<i>M. alvi</i>	Ilseley	+	+	N.T	-	-/+	N.T	N.T
<i>M. arginini</i>	G.230	-	+	-	-	-/+	-	-
<i>M. bovigenitalium</i>	P.G 11	-	-	+	+	-/+	-	+
<i>M. bovirhinis</i>	P.G 43	+	-	+ ou -	+ ou -	+/+	+ ou -	- ou +
<i>M. bovis</i>	P.G 45	-	-	+	+ ou -	+/+	-	N.T
<i>M. bovoculi</i>	M165/69	+	+ ou -	+ ou -	+	+/+	-	-
<i>M. californicum</i>	B144/p	-	-	+	-	-/N.T	N.T	N.T
<i>M. canadense</i>	275 C	-	+	F	-	-/+	N.T	-
<i>M. dispar</i>	462/2	+	-	-	-	+/+	N.T	-
<i>M. mycoide subsp mycoides (S.C)</i>	P.G1	+	-	-	-	+/+	+ ou K	-

<i>M.verecundum</i>	107	-	-	+	+	-/ N.T	N.T	N.T
<i>U.diversum</i>	-	-	-	+	N.T	N.T	N.T	N.T
<i>A. axanthum</i>	S.743	+	-	N.T	-	+	N.T	N.T
<i>A.laidlawii</i>	P.G8	+	-	N.T	-	+	N.T	N.T
<i>A.modicum</i>	P.G49	+	-	N.T	-	+	N.T	N.T
<i>An.bactoclasticum</i>	J.R	-	-	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T

Tableau N°3 : Principales espèces de mycoplasmes chez les bovines et caractères biochimiques de différenciation (GOURLAY et HOWARD, 1979).

T = réaction positive ; N.T = Réaction négative. F = Réaction faiblement positive

- *M. alvi* :Grande-Bretagne (GOURLAY et WYLD., 1975).

Pays	Année d'isolement	Références
U.S.A	1962	HALE <i>et al.</i>
Israël	1964	BAR- MOSHE
Italie	1968	RINALDI <i>et al.</i>
Australie	1970	COTTEW
Nigeria	1971	KARST et ONOVIRAN
Canada	1971	SINGH <i>et al.</i>
France	1974b	GOURLAT <i>et al.</i>
Grande Bretagne	1975	GOURLAT <i>et al.</i>
Tchécoslovaquie	1977	JUMANOVA <i>et al.</i>
Hollande	1977	Anonyme
Japon	1977	SHIMIZU et NAGATOMO

Tableau N°4 : Répartition géographique de l'infection à *M. bovis*.

M. bovoculi :Grande-Bretagne (GOURLAY et THOMAS, 1969), Canada LANGFORD et DORWARD, 1969), Côte d'Ivoire (NICOLET et BOTTIKER, 1975) .

M. canadense : Canada (RUHNKE et ONOVIRAN, 1975), U.S.A. (JASPER., 1977), Grande-Bretagne (BOUGHTON, 1983).

M. verecundum : Grande-Bretagne (GOURLAY *et al.*, 1974a) et Canada (LANGFORD., 1975).

M. californicum :U.S.A. (JASPER, 1977) et Canada (RUHNKE et ONOVIRAN, 1975).

A modicum : U.S.A. (LANGER et Mc ENTEE, 1961), Hongrie (BOKIRI *et al.*, 1971) et Canada (LANGFORD, 1975).

- Enfin, *M. mycoides subsp. mycoides* (S.C.) existe actuellement à l'état enzootique dans plusieurs pays africains et certains pays asiatiques (Inde, Chine, Mongolie). En Europe, l'infection est signalée en Espagne ; quelques foyers sont apparus récemment dans le sud de la France, probablement suite à l'importation clandestine de bovins d'Espagne (Anonyme 1983 ; DELCLOS, 1984).

2.1.2. Tropisme d'espèce

Les mycoplasmes des bovins manifestent d'une manière générale une spécificité d'hôte relativement étroite. Cependant certains mycoplasmes connaissent une gamme d'hôtes assez large.

- *M. arginini* a été isolé des cultures cellulaires, chez le mouton et la chèvre (BARILE *et al.*, 1968).

- *M. bovis* infecte occasionnellement les caprins (OJO., 1976c). Un cas humain a été signalé (MADOFF *et al.*, 1976).

- Le cas de *M. mycoides subsp. mycoides* est particulier puisque, il est admis que les souches infectant les petits ruminants (L.C.) sont différentes de celles provoquant la péripneumonie contagieuse bovine (S.C.) (COTTEW et YEATS, 1978).

- Il semble que les uréaplasmes des bovins soient spécifiques de ces derniers. L'appellation *U. diversum* a été proposée pour les distinguer de *U. urealyticum* de l'homme (HOWARD *et al.*, 1981).

- Enfin, les acholeplasmes et notamment *A. laidlawii* connaissent une distribution très large dans la nature. *A. laidlawii* est isolé de plusieurs espèces animales, de l'homme et même des plantes (TULLY, 1973). Il contamine fréquemment les cultures cellulaires.

2.1.3. Tropisme tissulaire d'organe:

Les mycoplasmes ont une affinité pour la surface des muqueuses : tractus respiratoire et génital, glande mammaire, articulations et muqueuse oculaire.

Certaines espèces infectent en priorité tel ou tel organe, sans que l'on puisse s'expliquer le mécanisme de cette affinité. Par exemple *M. bovoculi* n'a été isolé que de la muqueuse oculaire. Le tableau N° 5 donne la distribution des mycoplasmes selon les tissus à partir desquels ils peuvent être isolés.

	A.R.*	S.U.G.	M	A	Y	I
<i>M. alkalescens</i>	+	+	+	+		
<i>M. alvi</i>		+				+
<i>M. ariginini</i>	+	+	+		+	
<i>M. bovirhinis</i>	+	+	+	+	+	
<i>M. bovis</i>	+	+	+	+		
<i>M. bovoculi</i>					+	
<i>M. californicum</i>			+			
<i>M. canadense</i>	+	+	+	+		
<i>M. dispar</i>	+					
<i>M. mycoide subsp Mycoides (S.C)</i>		+		+		
<i>M. verecundum</i>		+			+	
<i>A. axanthum</i>	+		+			
<i>A. laidlawii</i>	+	+	+		+	

<i>A.modicum</i>	+	+				
<i>U.diversum</i>	+	+			+	

Tableau N° 5 : Localisation des mycoplasmes des bovins
(GOURLAY et HOWARD, 1983)

* A.R : appareil respiratoire, S.U.G : système uro- génital.

M : mamelle ; A : articulations ; Y : yeux ; I : intestin

2.1.4. Aspect clinique

L'isolement d'un mycoplasme a partir d'un cas pathologique a toujours posé le problème de sa participation dans les troubles cliniques auxquels il est associé. A cet égard le postulat de KOCH n'est pas toujours confirmé. Quoique la P.P.C.B. soit bien connue cliniquement depuis le début du siècle, la reproduction expérimentale de la maladie se heurte a de nombreuses difficultés (GOURLAY,1981).

Aujourd'hui, et mis a part le cas de cette espèce hautement pathogène au sujet de laquelle existent d'excellentes revues bibliographiques (HUDSON, 1971), on constate que le spectre de pathogénicité des mycoplames est tantôt sévère, tantôt modéré voire nul. Ces infections sont surtout l'apanage du système d'élevage intensif ; les manifestations sont alors des mammites, polyarthrites, pneumonies, kérato- - conjonctivites et infections du tractus uro- génital.

2.1.4.1. Mammites :

Les mammites à mycoplasmes se présentent sous une forme clinique relativement caractéristique : d'apparition soudaine, elles évoluent rapidement vers l'hypertrophie et l'induration, sans chaleur ni douleur et sans répercussion sur l'état général.. Le lait se sépare rapidement en grumeaux granuleux qui se déposent au fond du tube ; le liquide surnageant est clair.

La mammite à *M.bovis* est la plus répandue et cliniquement la plus sévère (BOUGHTON, 1979 ; JASPER, 1981).

M. bovigentialium (STUART *et al.*, 1963), *M. bovirhinis*₂ (BROWNLIE *et al.* , 1976). *M. californicum* (JASPER, 1977), *M. canadense* (RUHNKE et ONOVIRAN, 1975) et *mycoplasma sp* Groupe 7 (CONNOLE *et al.*, 1967) sont également incriminés dans de nombreux foyers de mammites bovines.

M. alkalescens, *M. arginini*₂, *A. axanthum* et *A. laidlawii*₂ occasionnellement isolés des laits de mammites ne semblent avoir qu'un rôle de saprophytes (GOURLAY et HOWARD, 1979).

2.1.4.2. Polyarthrites

Les arthrites mycoplasmiques sont surtout le fait d'une infection à *M. bovis*, et sont associées ou non à une localisation mammaire ou pulmonaire (GOURLAY, 1981).

*Mycoplasma sp*_Groupe 7 et *mycoplasma sp*_serotype L sont également associés à des arthrites (COTTEW, 1970).

2.1.4.3. Pneumonie :

M. bovis, *M. dispar* et *Ureaplasma diversum* sont fréquemment isolés de lésions pulmonaires chez le veau. Ils entraînent une pneumonie subclinique qui survient chez les veaux âgés de 3 à 6 mois. *M. bovis* et *Ureaplasma diversum* sont responsables de la "Cuffing pneumonia" tandis que *M. dispar* est impliqué dans la pneumonie interstitielle (HOWARD, 1983). L'infection évolue naturellement vers la guérison. La mortalité est faible. Toutefois les surinfections bactériennes survenant chez les animaux en phase chronique aggravent considérablement le pronostic (HOUGHTON et GOURLAY, 1983).

2.1.4.4. Infections oculaires

Un certain nombre de mycoplasmes (*M. bovis*, *M. bovirhlnis*, *U. diversum*) sont fréquemment isolés de cas de kératoconjunctivite infectieuse bovine, sans que l'on puisse leur attribuer un rôle

pathologique certain. *M.bovoculi* interviendrait dans l'exacerbation de la virulence de *Moraxella bovis* (FRIIS et PEDERSON, 1979).

2.1.4.5. Infections du tractus uro-génital

M.bovis, *M.bovigenitalium*, *M.canadense* et *Ureaplasma diversum* sont fréquemment incriminés dans les infections génitales aussi bien chez le mâle que chez la femelle (DOIG, 1981). Les uréaplasmes sont notamment associés à une vulvite granuleuse, mais la preuve de leur intervention dans les stérilités n'a jamais été apportée d'une manière certaine.

2.2. MYCOPLASMES DES PETITS RUMINANTS

Le premier mycoplasme reconnu chez les petits ruminants a été *M.agalactiae*, BRIDRE et DONATIEN (1923) en réussirent la culture sur un milieu enrichi et reproduisirent la maladie à l'aide d'une culture pure.

Plus tard, LONGLEY (1951) montra que l'agent de la pleuropneumonie contagieuse caprine (P.P.C.C.) possédait une morphologie comparable. A partir de cette date, une grande confusion a régné sur la taxonomie de ces mycoplasmes, jusqu'à ces dernières années, où des progrès décisifs ont été accomplis dans ce domaine, à la suite des améliorations des techniques d'identification. C'est ainsi qu'en 1972, AL-AUBAIDI, ayant examiné 151 souches de mycoplasmes provenant de moutons et de chèvres, a pu les classer en 12 groupes sérologiques.

Repris par d'autres auteurs, ces groupes ont servi de base à la constitution des espèces actuellement reconnues par le sous-comité de taxonomie de la classe des Mollicutes (Anonyme., 1979).

La détermination de l'espèce est basée sur :

- des réactions sérologiques, notamment l'immunofluorescence et l'inhibition de croissance.
- certains caractères biochimiques, tels qu'ils sont résumés dans le tableau N° 6.

En plus des 12 espèces ou sous-espèces officiellement reconnues, de nombreux mycoplasmes se trouvent encore en instance de classification (Tableau N°7).

La séparation au sein de la sous- espèce *mycoides* de *M.mycoides* des souches à grandes colonies (L.C), spécifiques de la chèvre, de celles à petites colonies (S.C) responsables de la péripneumonie contagieuse bovine (PPCB), mais pouvant occasionnellement infecter la chèvre, est restée longtemps fondée uniquement sur les critères : taille des colonies et vitesse de croissance.

Les travaux de COTTEW et YEATS (1978) ont permis d'établir des tests de différenciation simples et reproductibles entre ces 2 mycoplasmes : *M. mycoides subsp. mycoides* (L.C) hydrolyse la caséine et le sérum coagulé et survit à 45°C, ce que ne peut réaliser *M. mycoides subsp. mycoides* (S.C). En outre, la capsule des souches caprines (L.C) est beaucoup moins riche en galactane que celle des souches bovines ou apparentées (RODWELL, 1972).

ESPECES	G	A	T	P	C	F.S	D
<i>M.agalactase</i>	-	-	+	+	-	+	+
<i>M.arginini</i>	-	+	V	-	-	-	+
<i>M.bovis</i>	-	-	+	+	-	V	+
<i>M.capricolum</i>	+	L	+	F	+	-	+
<i>M.conjunctivae</i>	+	-	+	-	-	-	+
<i>M.mycoides subsp capri</i>	+	-	+	F	+	-	+
<i>M.mycoides subsp. Mycoides(L.C)</i>	+	-	-	F	+	-	+
<i>Mycoplasma F.38</i>	+	-	+	-	F	-	+
<i>M.ovipneumoniae</i>	+	-	+	-	-	-	+
<i>M.putrefaciens</i>	+	L	+	V	-	V	+

<i>A.granularum</i>	+	N.T	+	-	-	N.T	-
<i>A.laidlawii</i>	+	-	V	F	-	-	-
<i>A.oculi</i>	+	-	+	-	-	-	-
<i>Mycoplasma 20</i>	-	-	+	+	-	+	+
<i>Mycoplasma G</i>	L	+	+	-	-	V	+
<i>Mycoplasma U</i>	-	+	V	+	-	-	+
<i>Mycoplasma V</i>	+	-	+	-	-	-	+
<i>Mycoplasma G145</i>	-	+	+	-	-	-	+
<i>Mycoplasma A1343</i>	-	-	+	+	-	-	+

Tableau N° 6 : Caractères biochimiques des mycoplasmes de la chèvre et du mouton (d'après COTTEW, 1983)

Abréviation : G : métabolisme du glucose ; A : métabolisme de l'arginine ; T : réduction du chlorure de tétrazolium en milieu liquide ; P : présence de phosphatase, C: digestion de la caséine, F.S : « film and spots » ; D : sensibilité à la digitonine.

L : réaction lente ; V : variable (+ ou-) ; F : faiblement positif ; N.T : non testé.

2.2.1. Aspect écologique et épidémiologique

2.2.1.1. Distribution géographique

Parmi les infections à mycoplasmes, l'agalaxie contagieuse, la pleuropneumonie contagieuse caprine, et à un moindre degré la kératoconjonctivite infectieuse ovine et caprine sont considérées à juste titre comme étant des mycoplasmoses majeures. Leur déclaration est officielle dans de nombreux pays. Les mycoplasmes classiquement associés à ces 3 maladies sont respectivement : *M. agalactiae*, *M. mycoides subsp. capri* et *M. conjunctivae*. La participation exclusive de ces mycoplasmes dans ces syndromes est cependant de plus en plus remise en question . La distribution géographique de ces maladies et

les rapports faisant état de l'identification des mycoplasmes sont souvent en contradiction. Ainsi, d'après l'annuaire de la santé animale F.A.O/ O.M.S/ O.I.E (Anonyme, 1983), 24 pays signalent l'agalaxie contagieuse dont 6 en Afrique (Niger, Sénégal, Togo, Mauritanie, Libye et Lesotho), 9 en Asie et Moyen-Orient (Afghanistan, Iran, Liban, Turquie, Iraq, Syrie, Israël, Inde et Népal) et 9 en Europe (Autriche, Suisse, Espagne, Roumanie, Portugal, France, Italie, Grèce et Albanie). L'isolement de *M.agalactiae* n'est cependant rapporté que dans 9 pays parmi ces 24. Par contre, il a eu lieu aux USA et en Australie, qui ne figurent pas sur cette liste.

De même, en 1979, 38 pays, situés en Afrique, Moyen-Orient et Asie de l'Ouest signalent la PPCC et 41 pays font état de foyers de kératoconjunctivite infectieuse.

DENOMINATION	Référence du premier isolement	Hôte principal	Souche prototype de référence
<i>M.agalactiae</i>	BRIDRE et DONATIEN, 1923	Mouton, chèvre	P.G2 (EDWARD et FREUNDT, 1956)
<i>M.mycoides subsp.capri</i>	LONGLEY, 1951	Chèvre	P.G3 (EDWARD et FREUNDT, 1956)
<i>M.capricolum</i>	CORDY et al, 1955	Chèvre	C.K (TULLY et al, 1974)
<i>M.putrefaciens</i>	CORDY et al, 1955	Chèvre	K.S1 (TULLY et al, 1974)
<i>M.mycoides subsp.mycoides (L.C)</i>	LAWS, 1956	Chèvre	Y- goat (COTTEW et YEATS, 1978)
<i>M.ovipneumoniae</i>	Mc Kay et al , 1963.	Mouton	G230 (BARILE et al, 1968)
<i>M.arginini</i>	ARISOY et al, 1967	Mouton	P.G1 (EDWARD et FREUNDT, 1956)
<i>M.Mycoides subsp mycoides (S.C)</i>	HUDSON et al, 1967b	Chèvre	HRC581 (BARILE <i>et al.</i> , 1968)
<i>M.conjunctivae</i>	SURMAM, 1968	Chèvre	P.G8 (EDWARD et FREUNDT, 1956)
<i>A.laidlawii</i>	KRAUS et WANDERA, 1970	Mouton, chèvre, autres	19L (AL- AUBAIDI, 1975)
<i>A.oculi</i>	AL-AUBAIDI et al, 1973	Chèvre	- -
<i>Ureaplasma sp.</i>	SPRADBROW et MARLEY, 1971	Mouton	- -
<i>Mycoplasma sp.(20)</i>	CARMICHAEL et al 1972	Mouton	- -
<i>Mycoplasma sp.(G145)</i>	AL- AUBAIDI, 1972	Chèvre	- -
<i>Mycoplasma sp.(A1343)</i>	AL- AUBAIDI, 1972	Chèvre	- -
<i>Mycoplasma sp.(F38)</i>	AL- AUBAIDI, 1972	Chèvre	- -
<i>Mycoplasma spp.G.U.V</i>	COTTEW et YEATS, 1981	Chèvre	- -
<i>M.bovis</i>	OJO, 1976 c		P.G 45 (ASKAA, 1976)

Tableau N°7 : Mycoplasmes des petits ruminants.

La distribution géographique des mycoplasmes ovins et caprins est répertoriée dans le tableau N° 8.

Ce tableau est loin d'être exhaustif car certains mycoplasmes sont ubiquitaires notamment *A. laidlawii*, *Ureaplasma sp.* *M. arginini*, *M. ovipneumoniae* et *M. conjunctivae*. L'absence de leur isolement dans tel ou tel pays tient probablement à l'inexistence de laboratoires spécialisés dans ces pays (COTTEW, 1979 ; JONES, 1983).

2.2.2. Tropisme d'espèce

Les mycoplasmes de la chèvre et du mouton sont habituellement étudiés ensemble dans toutes les revues bibliographiques car la majorité leur sont communs. Le tropisme d'espèce mérite cependant d'être étudié :

- Mycoplasmes rencontrés chez les petits ruminants d'une manière non exclusive :

. *A. laidlawii* : son tropisme a déjà été présenté. Sa faible fréquence d'isolement à partir des petits ruminants permet de considérer que ces derniers n'en constituent pas une source principale.

. *M. arginini* : les sources à partir desquelles cette espèce est isolée sont également variées mais sa fréquence d'isolement est particulièrement élevée chez les ovins, notamment en portage au niveau de la bouche et de l'œsophage (COTTEW, 1982).

A. oculi : la plupart des souches ont été isolées chez la chèvre et le mouton (ARBUCKLE et BONSON, 1979). Cependant, cette espèce a également été reconnue chez le porc (KUKSA et GOIS., 1975), le cheval et les bovins (COTTEW, 1979).

. *Ureaplasma sp.* : les ureaplasmes des ovins et des caprins sont sérologiquement distincts de ceux de l'homme, des bovins, du chien, du singe et de la volaille ; alors que les souches ovines semblent s'apparenter aux caprines par un antigène commun (KOTANI *et al.*, 1980).

	<u>M. agalactiae</u>	<u>M. mycoides capri</u>	<u>M. putrefaciens</u>	<u>M. mycoides</u>	<u>M. ovipneumoniae</u>	<u>M. Mycoides subsp</u> <u>parvovirus (S.C)</u>	<u>M. conjunctivae</u>	<u>A. oculi</u>	<u>Mycoplasma</u>	<u>Mycoplasma</u>	REFERENCES
Espagne	+			+							HERNANDEZ,1972,TALAVERA BOTO,1980
France	+		+	+	+						PERREAU <i>et al</i> 1975, PERREAU 1973 ;PERREAU 1971
Grece	+	+		+							DEBONERA 1973.
GrandeBretagne					+		+	+			Mc KAY <i>et al.</i> 1963, Jones <i>et al.</i> 1976b ARBUCKLE et BONSON , 1979.
Hongrie					+				+		STIPKOVITS <i>et al.</i> 1975
Italie	+										MOROZZI <i>et al.</i> 1973
Suisse	+				+		+				NICOLET <i>et al.</i> 1974, NICOLET <i>et al.</i> 1979
Suede		+									
Tchecoslovaquie							+				KUKSA et GOIS, 1975
Kenya				+	+					+	Mc OWAN, 1976, Masiga et Rurangirwa, 1979 Mc Owan et Minette, 1976.
Nigeria		+				+			+		Longley, 1951, Perreau, 1971, OJO, 1976a
Senegal	+										Doutre <i>et al.</i> 1981
Soudan					+	+				+	Mohamed Ali, 1977, Hudson <i>et al.</i> 1967b Harbi <i>et al.</i> 1981.
Inde	+							+			Banerjee <i>et al.</i> 1979, ERNO (Cottew, 1979)
Israel				+							Bar- Moshe et Rappaport, 1978
Japon								+			

Turquie	+	+						+			Arisoy et al. 1967.
Australie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	COTTEW et Lloyd, 1965, BARTON et COTTEW, 1980. COTTEW et YEATS, 1981, LAWS, 1956. COTTEW, 1971. SURNAM, 1968, CARMICHAEL et al. 1972.
Nouvelle Guinee						+					Hudson <i>et al.</i> . 1967 b
NouvelleZelande					+						Clarke <i>et al.</i> 1974.
Mexique U.S.A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	CIPRIAN et PIJOAN, 1978. CORDY <i>et al.</i> 1955. Jones et Barber 1969. CARMICHEAL <i>et al.</i> 1972. BARILE et al. 1972. AL- AUBADI, 1975. JASPER et DELLINGER, 1979. LIVINGSTON et GAUER, 1983.

Tableau N°8: Distribution géographique des principales espèces de mycoplasmes des petits ruminants (à l'exception de *M.capricolum*)

- Tropisme d'hôte ovins/caprins

Jusqu'à présent, tous les mycoplasmes du mouton ont été également retrouvés chez la chèvre. L'inverse n'est pas vrai : *M. mycoides subsp. capri*, *M. putrefaciens* et *Mycoplasma sp.* (F.38) semblent infecter spécifiquement la chèvre.

De même *M. mycoides subsp. mycoides* (L. C. type) n'a été isolé qu'en de très rares occasions chez le mouton (AL-AUBAIDI, 1972 ; COTTEW, 1984), et d'ailleurs à une époque où il n'était pas possible de le distinguer au laboratoire des souches à petites colonies (S.C. type). De ce fait il doit être considéré comme un mycoplasme exclusivement caprin (PERREAU, 1980).

2.2.3. Tropisme du tissu

Chacune des espèces étudiées reconnaît un site d'infection électif et peut occasionnellement envahir d'autres organes. Naturellement, les espèces entraînant une septicémie telles que *M.agalactiae*, *M. capricolum*, *Mycoplasma sp.* (F.38) et *M. mycoides subsp. mycoides* auront davantage tendance à l'extension que les autres.

Le tableau N° 9, emprunté à JONES (1983) présente le tropisme d'organe des principales espèces de mycoplasmes des petits ruminants, avec la référence bibliographique pour les isolements inhabituels.

2.2.4. Aspect clinique

Parmi les mycoplasmes infectant les petits ruminants, les uns sont considérés comme responsables de mycoplasmoses primaires, d'autres de mycoplasmoses secondaires ou d'association, enfin, pour certains, le pouvoir pathogène n'a pas encore été déterminé.

ESPECES DE MYCOPLASMES	ESPECES INFECTEES	SITE D'ISOLEMENT		REFERENCES (isolement inhabituels)
		Principal	Secondaire	
<i>M.agalactiae</i>	Mouton, Chèvre	Mamelle	Articulation, yeux, poumons, tractus urogénital.	JASPER et DELLINGR, 1979. COTTEW, 1979. COTTEW et LLOYD 1965. BANERJEE <i>et al.</i> 1979. SINGH, 1975. CHIMA <i>et al.</i> 1981.
<i>M.arginini</i>	Mouton, Chèvre, autres	Tractus respiratoire	tractus urogénital, Articulation, yeux	
<i>M.capricolum</i>	Mouton, Chèvre	Articulations	Mamelle, poumons, tractus,	

			urogénital. Organes internes	
<i>M.sp. (F38)</i>	Chèvre	Tractus respiratoire	Organes internes	
<i>M. conjunctivae</i>	Mouton, Chèvre, chamois	Yeux	Tractus respiratoire, articulations.	BAAS <i>et al.</i> 1977
<i>M.mycoides subsp.capri</i>	Chèvre	Tractus respiratoire	Articulations	
<i>M.mycoides mycoides (L.C)</i>	Chèvre	Tractus respiratoire	Mamelle articulations, yeux.	
<i>M.mycoides mycoides (S.C)</i>	Bovins, Chèvre	Tractus respiratoire	Articulations	
<i>M.ovipneumoniae</i>	Mouton, Chèvre	Tractus respiratoire	Yeux, tractus uro- génital	
<i>M.putrefaciens</i>	Chèvre	Mamelle	Oreille	COTTEW et YEATS, 1982.
<i>A.laidlawii</i>	Nombreuses	Tractus urogénital	Tractus respiratoire	
<i>a.oculi</i>	Mouton, Chèvre, autres	Yeux	Tractus urogénital, poumons	ERNO (cité par COTTEW, 1979)
<i>Ureaplasma.sp</i>	Mouton, chèvre	Tractus uro- génital	Œil ?	SPRADBROW et MARLEY, 1971. JONES <i>et al.</i> 1979.

Tableau N° 9 : Sites d'isolement des principales espèces de mycoplasmes des petits ruminants.

Les affections causées par ces mycoplasmes se diversifient par type de syndrome observé : atteinte de la mamelle, de l'appareil respiratoire, de l'œil, des articulations ou de l'appareil urogénital.

2.2.4.1. Mamelle

- Agalaxie contagieuse classique due à *M. agalactiae* :

Les signes cliniques de la maladie apparaissent dans un troupeau le plus souvent pendant la période des agnelages et frappent les brebis et les chèvres en début de lactation.

Après une période d'incubation de 4 à 8 jours, l'animal, en hyperthermie (41° à 41,5°C) subit une brève phase de septicémie, suivie de la localisation de *M. agalactiae* au niveau de la mamelle, des articulations et des yeux.

La mamelle est souvent atteinte en premier par une mammite catarrhale ou parenchymateuse. Le lait devient salé, jaune-bleu, grumeleux puis purulent. Finalement la sécrétion lactée s'arrête, la mamelle s'atrophie, avec développement d'une fibrose.

Etant donnée l'évolution subaiguë ou chronique de cette affection dans un troupeau ; à ce syndrome agalaxie s'associent fréquemment une atteinte articulaire avec infiltration œdémateuse du tissu périarticulaire ou ankylose des articulations du carpe et du tarse et parfois également une kératite ou une kératoconjonctivite purulente (PERREAU, 1980 ; YEDLOUTCHNIG, 1976).

L'évolution de la maladie peut être fatale en 3 à 5 jours. Le plus souvent, cependant, les animaux guérissent mais restent amaigris, infirmes et taris. Ce sont surtout les jeunes qui meurent de septicémie en quelques jours (PERREAU, 1979).

Ainsi, les taux de morbidité et de mortalité sont sensiblement différents d'un foyer à l'autre et d'une région à l'autre. En Turquie, sur 12 troupeaux infectés, comprenant 1.160 ovins et 205 caprins, la maladie a engendré 22% de morbidité et 1% de mortalité (ARISOY

et al., 1967). YEDLOUTCHNIG (1976) rapporte que dans un troupeau de 200 caprins ces taux ont atteint respectivement 20% et 10% en 2 semaines. Au Sénégal, un foyer d'agalaxie contagieuse s'est accompagné de taux de morbidité et de mortalité alarmants ; respectivement 50% et 30% (DOUTRE *et al.*, 1981).

- Agalaxie contagieuse à *M. capricolum* et *M. mycoides subsp. mycoides* (L.C.).

Depuis quelques années, d'autres mycoplasmes, notamment *M. capricolum* et *M. mycoides subsp. mycoides* sont incriminés dans l'agalaxie contagieuse (PERREAU, 1974, 1980 ; TALAVERA-BOTO, 1980 ; BAR-MOSHE et RAPPAPORT, 1978).

Dans un foyer d'A.C., rien ne permet de reconnaître cliniquement le mycoplasme en cause. Tout au plus peut on tenter de s'orienter d'après les données proposées par PERREAU (1980), consignées dans le tableau N° 10.

L'infection mixte par *M. agalactiae* et *M. mycoides subsp. mycoides* a été rapportée plusieurs fois (BARTON et COTTEW, 1980 ; JOUGLAR *et al.*, 1982).

JOUGLAR note deux particularités propres aux foyers où ces 2 mycoplasmes interviennent simultanément : éclosion du foyer en fin de lactation et absence d'arthrites et de kératites.

- Mammite à *M. putrefaciens* :

Bien que *M. putrefaciens* soit connu depuis une cinquantaine d'années (CORDY *et al.*, 1955) son rôle dans l'étiologie des mammites caprines n'a été suspecté que récemment. En effet, en 1979, en Californie, un foyer de mammite subclinique sans répercussion sur l'état général des animaux s'est déclaré. L'inoculation expérimentale de *M. putrefaciens* permet de reproduire la maladie naturelle (ADLER *et al.*, 1980). Par ailleurs, dans un troupeau de 65 chèvres, l'atteinte unilatérale d'un seul trayon a touché environ la moitié de l'effectif (JASPER et DELLINGER, 1979); ce qui a permis de préciser le caractère insidieux de cette affection contagieuse.

Espèces affectées	Formes cliniques dominantes	Lésions	Tropisme respiratoire
<i>M. agalactiae</i> chèvre, mouton	Subaiguë ou chronique	Arthrite Kératite Mammite	<u>Nul</u>

<i>M. capricolum</i> chèvre (exceptionnellement mouton)	Aiguë ou suraiguë	Arthrite Kératite Mammite	Possible (jeunes)
<i>M. mycoides subsp. mycoides</i> chèvre	Aiguë ou suraiguë	Arthrite Kératite Mammite Rare	Fréquent (jeunes et adultes)

Tableau N°10 : Critères d'orientation du diagnostic étiologique de
L'agalaxie contagieuse. (D'après PERREAU, 1980)

2.2.4.2. Appareil respiratoire

De nombreuses espèces de mycoplasmes possèdent une affinité pour le poumon et sa séreuse, les unes sont responsables du syndrome P.P.C.C. et les autres participent, en tant que germes d'association à des broncho-pneumonies enzootiques du mouton et de la chèvre.

- Pleuropneumonie contagieuse caprine (P.P.C.C.) :

Quatre mycoplasmes peuvent être à l'origine de ce syndrome : *M. mycoides subsp. mycoides* (S.C.), *M. mycoides subsp. mycoides* (L.C.), *M. mycoides subsp. capri* et *M. mycoides subsp. capri sp(F38)*.

Si le premier de ces mycoplasmes n'est que rarement isolé chez la chèvre (et le mouton?) dans les régions où la P.P.C.B. est enzootique, les 3 autres atteignent spécifiquement la chèvre et sont à l'origine de manifestations cliniques et lésionnelles différentes.

Ainsi, il est actuellement admis que la P.P.C.C. est due à *Mycoplasma sp. (F.38)* et occasionnellement à *M. mycoïdes* avec ses 2 sous-espèces. Les caractères différentiels entre la P.P.C.C. classique à *Mycoplasma sp (F.38)* et la P.P.C.C. due aux sous-espèces de *M..mycoïdes* sont résumés dans le tableau N° 11.

- Pneumonie à *M. ovipneumoniae* :

Elle est observée chez des agneaux âgés de moins de 6 mois, essentiellement en élevage intensif (HERVAS *et al.*, 1996) où elle évolue sous forme d'enzootie. Il s'agit d'une pneumonie interstitielle proliférative, localisée aux lobes apicaux et ventraux des poumons (MARTIN *et al.*, 1996). Elle s'accompagne de toux, de dyspnée et de retard de croissance. Le taux de morbidité est généralement élevé, alors que le taux de mortalité reste modéré (JONES *et al.*,1979).

Le même type d'affection a été rapporté chez le chevreau (LIVINGSTON et GAUER, 1979)

L'étiologie de cette pneumonie est complexe : elle fait intervenir d'une part, un facteur déterminant qui est la capsule qui facilite l'adhésion de la bactérie sur les cils épithéliaux (NIANG et al.1998), et des facteurs de prédisposition extrinsèques d'autre part, notamment une humidité relative élevée et une température basse et divers agents microbiens parmi lesquels le virus *para-influenza 3*, *Pasteurella haemolytica* et *M. ovipneumoniae* (SHARP *et al.* ,1978 ; - JONES et al. 1979).

	<i>Myc. Sp. (F38)</i>	<i>M.mycoïdes</i> <i>subsp.</i> <i>Mycoïdes (L.C)</i>
--	-----------------------	---

		<i>M. mycoïdes subsp. capri</i>
Voie(s) d'inoculation	Respiratoire intrabronchique, aérosols...	multiples, I.V, sous-cutanée respiratoire.
Type de lésions pulmonaires	Oedèmes intralobulaire intersticiel.	Epaississement du septum interlobulaire
Espèce(s) animale(s) réceptive	Uniquement chèvre	Chèvre, mouton, bovins
Transmission par contact	Rapide et régulière	Non observée
Réaction locale par voie sous –cutanée.	Absente	Œdème sévère

Tableau N° 11 : Diagnostic différentiel entre la P.P.C.C classique à *Myco sp. (F38)* et la PPCC due aux sous-espèces de *M.mycoïdes*.

(D'après Mc MARTIN *et al.* ,1980)

La reproduction expérimentale de la maladie sur animaux S.P.F. est difficile. Par contre, sur animaux conventionnels, l'infection à *M. ovipneumoniae* seul ou associé à *P. haemolytica* permet de reproduire régulièrement la maladie (GILMOUR *et al.*,1982). En outre, l'infection préalable d'agneaux S.P.F. par *M. ovipneumoniae* atténue le pouvoir pathogène de *P. haemolytica* (JONES *et al.*,1982). Ces résultats sont attribués aux interactions existant entre ce mycoplasme et les macrophages alvéolaires; il a été démontré en effet que *M. ovipneumoniae* stimule la phagocytose, en présence d'anticorps (AL-KAISSI et ALLEY, 1983).

D'autres travaux concluent que *M. ovipneumoniae* ne serait pas un agent pathogène primaire ou secondaire important pour l'agneau (DAVIES *et al.*,1981).

En fait, il y aurait une certaine variabilité dans la virulence des souches qui expliqueraient ces controverses (JONES *et al.*, 1982 ; BUDDLE., 1984a). *M. ovipneumoniae* est fréquemment isolé à partir de poumons d'animaux adultes, mais aucune corrélation n'existe entre cet isolement et la présence de lésions pulmonaires (JONES *et al.*, 1979).

2.2.4.3. Lésions oculaires

- La forme non folliculaire de la kératoconjonctivite infectieuse ovine et caprine, anciennement attribuée à une rickettsie est fréquemment associée à l'isolement de *M. conjunctivae* (JONES *et al.* ,1976a ; TROTTER *et al.* ,1977).

Cette kératoconjonctivite s'accompagne d'hypersécrétion lacrymale avec photophobie, de dilatation des capillaires de la muqueuse conjonctivale et d'une inflammation de la cornée, avec ulcération dans les cas sévères. La maladie évolue rapidement dans un troupeau et peut s'accompagner de troubles respiratoires et articulaires (BAAS *et al.*, 1977).

- *A. oculi* a été isolé d'un foyer de kératoconjonctivite caprine. Son inoculation à des chèvres a permis la reproduction expérimentale de cette affection (AL-AUBAIDI *et al.* ,1973).

Ce mycoplasme a également été isolé d'un foyer de kératoconjonctivite ovine, en association avec *M. conjunctivae* (ARBUCKLE et BONSON, 1979). Son rôle pathogène n'a cependant pas encore été démontré chez le mouton.

Enfin une atteinte oculaire accompagne fréquemment l'infection à *M. ovipneumoniae* (JONES *et al.*, 1976a). *M. agalactiae* (PERREAU, 1980), *M. capricolum* (PERREAU et BREARD, 1979) et *M. mycoides subsp. mycoides* (PERREAU, 1980).

2.2.4.4. Lésions articulaires :

De nombreuses espèces de mycoplasmes peuvent être isolées à partir des articulations, en association avec une autre localisation : il s'agit de *M. agalactiae*, *M. arginini*, *M. mycoides subsp. mycoides* L.C.), *M. mycoides subsp. mycoides* (S.C.) et *M. capricolum*.

Pour *M. capricolum*, le tropisme articulaire semble prédominant (JONES, 1983 ; CORDY *et al.*, 1955).

2.2.5. Le portage des mycoplasmes :

La plupart des isollements des mycoplasmes sont faits à partir d'animaux cliniquement atteints. Peu de données sont disponibles sur la prévalence de ces infections chez les animaux apparemment sains, pouvant jouer le rôle de porteurs- excréteurs.

M. arginini a été isolé à partir d'écouvillons oculaires sur des chèvres provenant d'un troupeau indemne de conjonctivite, et de différents compartiments du tractus respiratoire chez le mouton et la chèvre (DOUTRE et PERREAU 1981 ; 1983).

Ureaplasma sp. a été isolé des urines et du tractus uro-génital de caprins indemnes de toute affection (LIVINGSTON et GAUER, 1976).

Des écouvillons nasaux effectués sur des chèvres ne présentant aucun symptôme respiratoire ont permis d'isoler 17 souches de mycoplasmes sur les 100 prélèvements étudiés. L'identification de ces mycoplasmes n'a pas été réalisée (OJO, 1976a).

M. conjunctivae persiste dans l'oeil, au delà de la phase clinique de la maladie (TROTTER *et al.*, 1977).

M. capricolum est isolé des poumons et du lait 11 à 13 mois après l'infection (PERREAU, 1980).

Pour *M. agalactiae* et *M. mycoides subsp. mycoides*, ce portage chronique semble être encore plus long (JOUGLAR *et al.*, 1982).

Le portage des mycoplasmes peut être assuré dans une localisation autre que celle pour laquelle ces mycoplasmes sont habituellement pathogènes ; c'est ainsi que dans un troupeau indemne de polyarthrites, de mammites et de pneumonies, *M. capricolum* a pu être isolé exclusivement à partir du tractus urogénital, et l'infection est restée inapparente pendant plus d'un an (JONES *et al.*, 1983).

Un travail effectué en Australie a montré que le canal auriculaire pourrait être un site privilégié de portage pour la plupart des espèces de mycoplasmes réputées pathogènes. En effet, sur des chèvres adultes, COTTEW et YEATS (1981) ont pu isoler jusqu'à 6 espèces de mycoplasmes à partir de

l'oreille interne et moyenne (*M. agalactiae*, *M. mycoïdes subsp. mycoïdes*, *M. capricolum*, ainsi que *M.sp.(G)*, *M. sp.(U)* et *M.sp.(V)* inconnus auparavant).

Les auteurs justifient l'absence de *M. ovipneumoniae* au niveau de l'oreille par les conditions défavorables à sa survie (COTTEW et YEATS, 1982).

Un travail similaire, conduit aux U.S.A., a abouti à des résultats comparables : 3 espèces de mycoplasmes pouvaient être hébergées par un même conduit auditif : *M. mycoïdes subsp. mycoïdes (L.C.)*, *M. capricolum* et *M. putrefaciens* (DA MASSA, 1983a).

La durée de la séropositivité vis-à-vis d'un mycoplasme chez un animal infecté est relativement brève: 3 à 4 mois (PERREAU, 1980). La possibilité de portage au niveau du conduit auditif, habituellement non accompagné de séroconversion font du dépistage de ces infections une entreprise particulièrement ardue.

ETUDE DES INFECTIONS MYCOPLASMIQUES CHEZ LES PETITS RUMINANTS

3.1. INTRODUCTION :

En 1974, alors que la taxonomie des mycoplasmes des petits ruminants était en plein développement, différentes souches d'origine caprine, auparavant déposées dans des collections officielles, ont été étudiées et identifiées comme une espèce nouvelle : *M. capricolum* (TULLY *et al.*, 1974).

Ces souches avaient été longtemps confondues, avec la sous-espèce *capri* de *M. mycoides* (LEMCKE, 1974). L'une d'elles qui provenait du foyer de mycoplasmosse aiguë décrit par CORDY *et al.*, (1955) est devenue la souche de référence officielle : California Kid.

L'infection spontanée à *M. capricolum* s'observe chez la chèvre et chez le mouton. L'infection de la chèvre a été rapportée aux U.S.A (CORDY *et al.*, 1955) en France (PERREAU.,

1974 ; PERREAU et BREARD, 1979), Turquie (COTTEW et LEACH,1969), Australie (LITTLEJOHN et COTTEW, 1977), Inde (BANERJEE *et al.*, 1979), Egypte (AL ZEFTAWI., 1979), Espagne (TALAVERA BOTO., 1980) et Italie (CONTINI *et al.* ,1982). L'infection du mouton a été décrite au Zimbabwe.(SWANE POEL *et-al.*, 1977) et, tout récemment, signalée en Angleterre (JONES *et al.*,1983). Il est probable que *M. capricolum* existe dans d'autres pays, ou l' infection est confondue avec d'autres syndromes (PERREAU et BREARD., 1979). Comment expliquer autrement qu'en Californie, après l'épisode de 1955, l'infection n'a été diagnostiquée de nouveau qu'en 1983 (DA MASSA *et al.*,1983a).

Expérimentalement, en dehors de la chèvre et du mouton, la maladie a été reproduite chez le porc, lors d'une observation princeps, qu'aucun travail n'a permis, par la suite, de confirmer (CORDY et ADLER., 1960). En revanche, la reproduction de l'infection a échoué chez de nombreuses autres espèces éprouvées : chien, cheval, veau, dindon, poule, rongeurs domestiques et de laboratoire (CORDY et ADLER., 1960).

3.2. ETUDE DES MYCOPLASMES DES PETITS RUMINANTS

3.2.1. Morphologie et structure

3.2.1.1. Morphologie

Au microscope à contraste de phase les cellules sont pléomorphes : coccobacilles, courts filaments, ou formes allongées, en chapelets, évoquant l'aspect de *M_myoïdes* (PERREAU et BREARD, 1979).

En microscopie électronique, les cellules sont rondes ou ovalaires,. D'un diamètre de 200 à 1000 nm. Quelques filaments sont également observés. Les formes les plus grandes ont un cytoplasme homogène dont la densité correspond à celle des ribosomes. Ce cytoplasme est entouré d'une triple membrane typique des mollicutes.

La filtration différentielle aboutit aux résultats suivants :

partant d'un bouillon contenant $2,34 \cdot 10^{11}$ CFU/ml, la filtration à travers une membrane de 800nm permet de recueillir $2,5 \cdot 10^{10}$ CFU/ml, ce nombre est réduit à $1,95 \cdot 10^8$; $9,5 \cdot 10^7$ et $2,43 \cdot 10^5$, respectivement après filtration à 450 nm, 300 nm et 200 nm (TULLY *et al.*,1974).

3.2 1.2. Structure

Le poids moléculaire du D.N.A., déterminé par la technique de Kleinschmidt, est de $6,8 \cdot 10^8$ daltons (RYAN et NOROWITZ, 1969).

Le rapport G + C% du D.N.A. à été estimé a 25,5 mol. % (NEIMARK et PENE., 1965) avant d'être déterminé à 24 mol. % (KAWAUSHU *et al.*, 1982). L'analyse électrophorétique des protéines cellulaires totales révèle une étroite parente entre *M. capricolum* et *Mycoplasma sp. (F.38)* et une nette démarcation des sous-espèces de *M. mycoïdes* et du séro groupe 7 de LEACH.

Cependant, 6 protéines majeures sont communes à tous ces mycoplasmes (ANDERSON *et al.* ,1984).

Enfin, on note l'absence des lipopolysaccharides membranaires (KENNY, 1979).

3.2.2. Caractères cultureux et biochimiques

M. capricolum cultive aisément en atmosphère aérobie, à 37°C. Il produit un trouble intense en milieu liquide en 24 à 48 heures. En milieu solide, les colonies présentent l'aspect caractéristique d'un "oeuf sur le plat". Leur taille est souvent inégale, même dans les souches plusieurs fois clonées (PERREAU et BREARD, 1979). Les stérols sont requis à une concentration relativement modérée ainsi, dans un milieu sans sérum, additionné de 0,5 p100 d'albumine et de 10 µg/ml d'acide palmitique, la croissance optimale a lieu lorsque la concentration en cholestérol est de 5 a 10 µg/ml (TULLY *et al.*, 1974).

Un milieu de composition partiellement définie a. été mis au point pour la culture de *M. mycoïdes subsp. mycoïdes* et *M. capricolum* (RODWELL, 1983) . Les exigences nutritionnelles de la souche

California Kid de *M.capricolum* sont similaires à celles de la souche Y de *M. mycoïdes subsp. mycoïdes* ; l'adénine ou l'hypoxanthine ne sont néanmoins nécessaires que pour C.K.

La fermentation du glucose et du mannose s'observe avec toutes les souches. L'hydrolyse de l'arginine est inconstante et tardive.

La liquéfaction du sérum coagulé, la réduction du chlorure de tétrazolium (en aérobiose comme en anaérobiose) et la production d'une phosphatase sont considérés comme des caractères de l'espèce *M.capricolum*. Cette espèce ne produit pas le phénomène de "Film and Spots". En présence de globules rouges de mouton on obtient une hémolyse de type bêta. Enfin le test d'hémadsorption est négatif. Ces caractères biochimiques sont présentés dans le tableau N°6

3.3. ETUDE DE L'INFECTION NATURELLE

3.3.1. Epidémiologie

3.3.1.1. Réceptivité

La chèvre, mais aussi le mouton sont infectés (PERREAU et BREARD, 1979 ; SWANEPOEL *et al.*, 1977 ; JONES, 1983).

La maladie atteint aussi bien le mâle que la femelle ; cependant les chèvres et les brebis à hautes performances zootechniques sont les plus sensibles. La maladie est grave chez des jeunes ayant ingéré du lait contaminé (COTTEW 1979; PERREAU et BREARD, 1979). De ce fait, elle apparaît souvent au début de la période de parturition (LITTLEJOHNS et COTTEW., 1977) ou avec le démarrage de la lactation (PERREAU et BREARD, 1979 ; CONTINI *et al.*, 1982).

3.3.1.2. Incidence et prévalence

Peu de données sont disponibles sur l'infection d'où la difficulté d'évaluer son importance. En France, d'après PERREAU et BREARD., 1979 et PERREAU et JOUBERT., 1982, la rapidité de la contagion au sein d'un troupeau entraîne un taux de morbidité variant de 30 à 60% et un taux de

mortalité de 80 à 100 % chez les chevreaux. Par contre, en Australie, les taux de morbidité et de mortalité apparaissent modérés (COTTEW., 1979).

La prévalence de cette infection est inconnue dans la plupart des pays. En France, l'infection à *M. capricolum* était la mycoplasmosse la plus fréquente chez la chèvre de 1972 à 1977, mais depuis, elle est supplantée par l'infection à *M. mycoides subsp. mycoides*, (PERREAU, 1980).

Le nombre d'isollements de ce dernier est actuellement le double de celui de *M. capricolum* (NICOLAS *et al.*, 1982).

3. 3. 1.3. Sources de contamination et voies de pénétration :

Les conditions dans lesquelles apparaissent les foyers de mycoplasmosse montrent que des porteurs sains colportent l'infection. Les femelles laitières conservent le germe dans leurs mamelles et leurs ganglions rétromammaires pendant la période de tarissement. De même le bélier peut héberger le germe au niveau du prépuce pendant au moins un an (JONES *et al.*, 1983).

Le portage chronique au niveau des poumons est classiquement observé (PERREAU et BREARD., 1979) et sa durée peut être très longue ; jusqu'à 3 ans (CONTINI *et al.*, 1982). Le portage sain, au niveau du conduit auditif externe a été démontré chez la chèvre (COTTEW et YEATS., 1982 ; DA MASSA *et al.*, 1983a).

La persistance au niveau de ce site résulterait de la présence d'acides gras qui confèrent une pression osmotique adéquate, d'une part et de l'insuffisance des défenses de l'organisme, d'autre part (DA MASSA, 1983a). Quoique le mode de transmission soit mal connu, il semble bien que les voies digestive et mammaire jouent un rôle important (DA MASSA *et al.*, 1983b ; PERREAU et BREARD., 1979). De même la transmission par inhalation du germe présent dans les fécès, urines et décharges respiratoires a été rapportée (ADLER et BROOKS., 1982). Enfin, le rôle des acariens a été suspecté car l'infection au niveau de l'oreille s'accompagne de l'infestation par ces arthropodes (COTTEW et YEATS., 1982).

3.3.2. Symptômes

3.3.2.1. Chez la chèvre

La plupart des descriptions cliniques de la maladie ont été faites chez les caprins. L'infection est caractérisée par une septicémie à évolution aiguë, avec un tropisme articulaire marqué et une atteinte mammaire, respiratoire et oculaire. Cette dernière n'étant qu'occasionnellement observée (CORDY *et al.*, 1955; PERREAU et BREARD, 1979).

- Chez les jeunes animaux ayant ingéré du lait infectieux, la septicémie est mortelle dans un délai souvent très bref (2 à 4 jours). Les femelles gestantes avortent avec des signes de prostration, anorexie et une hyperthermie pouvant atteindre 41° à 42° C (DA MASSA *et al.*, 1983a ; PERREAU, 1979 ; PICAUVET *et al.*, 1983 ; CONTINI *et al.*, 1982).

- Les arthrites multiples et sévères sont à l'origine de la dénomination : "Arthrite infectieuse de la chèvre", souvent notifiée dans la littérature. Ces arthrites se manifestent par des boiteries ou une impossibilité du déplacement. L'inflammation articulaire, plus fréquente au niveau des articulations du grasset, se manifeste par une tuméfaction péri-articulaire et une douleur à la palpation (DA MASSA *et al.*, 1983a ; OJO, 1982).

- La localisation mammaire se traduit par une mammite aiguë (mamelle chaude et douloureuse) accompagnée d'adénite rétromammaire. La sécrétion lactée prend un aspect jaunâtre et sirupeux, puis le lait est remplacé par une petite quantité de liquide séreux (PERREAU et BREARD, 1979 ; COTTEW, 1979 ; CONTINI *et al.*, 1982).

- Le tropisme oculaire est moins fréquent, il s'agit plus souvent de conjonctivite que de kératite (COTTEW, 1979).

- La localisation respiratoire est difficile à caractériser, sauf lorsqu'elle est observée dans un troupeau où sévit le syndrome d'agalaxie contagieuse. Dans ce cas elle permet d'orienter le diagnostic vers

une affection à *M.capricolum*_ou *M.mycotdes subsp. mycoides*, plutôt que vers le syndrome d'AC classique à *M. agalactiae* (PERREAU, 1980 ; TALAVERO-BOTO, 1980 ; BAR MOSHE et RAPPAPORT, 1978).

3.3.2.2. Chez le mouton

Le mouton serait moins sensible à l'infection que la chèvre. La septicémie des agneaux et la forme articulaire sont bien connus (SWANEPOEL *et al.* ,1977).

D'autre part, on a décrit des vulvo-vaginites apparaissant 2 à 4 semaines avant l'agnelage et se manifestant par des boursouflures ou des abcès à la base de la queue. Des œdèmes des lèvres vulvaires ont été observés chez des brebis à partir desquelles *M. capricolum* a été isolé (JONES *et al.*, 1983).

3.3.3. Lésions

3.3.3.1. Lésions macroscopiques

- Les animaux morts en phase septicémique présentent des lésions hémorragiques sur tous les viscères.
- Les lésions articulaires sont les plus caractéristiques. Elles se manifestent par une arthrite fibrino-purulente, avec des synovites tendineuses, une érosion des cartilages et des péri- arthrites avec œdème hémorragique.
- La mamelle est flasque ; le tissu interstitiel s'épaissit avec un noyau résiduel indure a la base du trayon (COTTEW, 1979; PERREAU et JOUBERT, 1982).
- Le poumon présente des lésions discrètes avec atélectasie et hépatisation rouge localisée essentiellement aux lobes apicaux et cardiaques (DA MASSA *et al.*, 1983b ; GOURLAY et HOWARD, 1982 ; CORDY, 1984).

3.3.2.2 Lésions microscopiques

- Une prolifération de la membrane synoviale des articulations est notée, elle s'accompagne d'un exsudat séro-fibrineux et d'infiltration des cellules mononucléaires.

- Les lésions pulmonaires se traduisent par une pneumonie interstitielle diffuse avec absence de fibrine et d'exsudat alvéolaire (DA MASSA *et al.*, 1983b ; CORDY, 1984 ; BANERJEE *et al.*, 1979).

3.3.4. Diagnostic

3.3.4.1. Diagnostic épidémiologique et clinique

L'association dans le même troupeau d'atteinte articulaire, mammaire; respiratoire et éventuellement oculaire, au début de la période de parturition, généralement à la suite de l'introduction d'animaux nouveaux permet de suspecter l'infection. Mais c'est le diagnostic de laboratoire qui, dans tous les cas, confirmera ou infirmera cette suspicion.

3.3.4.2. Diagnostic direct

3.3.4.2.1. Isolement et identification

- Les prélèvements sont fonction des localisations observées. Leur acheminement au laboratoire doit se faire à une température de 4 à 8°C, sinon il ne devra pas se prolonger au delà de 24h (JONES., 1983 ; PERREAU, 1980).
- Les techniques d'isolement et d'identification sont celles appliquées à tous les mycoplasmes des ruminants ; elles seront exposées dans la partie matériel et méthodes.

3.3.4.2.2. Diagnostic sérologique ou indirect

La nature et l'évolution des immunoglobulines anti- *mycoplasmae* sont conformes à la réponse immunitaire classique : apparition précoce des Ig M, plus tardive des Ig G ou coexistence des 2 classes d'immunoglobulines (HARBI, 1976).

Théoriquement, le diagnostic sérologique pourrait mettre en oeuvre un grand nombre de méthodes : agglutination sur lame ou en tubes, fixation du complément, inhibition de croissance, immunofluorescence.

En pratique, seules la fixation du complément (PERREAU P. *et al.*, 1976) et la technique E.L.I. S.A (BERGONIER D. *et al.*, 1996). sont actuellement employées.

- Les anticorps fixant le complément apparaissent entre le 10^{ème} et le 15^{ème} jour après l'infection ; ils atteignent leur maximum entre la 4^{ème} et la 6^{ème} semaine avec des titres de 1 : 320. ou 1 : 640, et persistent 3 à 4 mois à des titres supérieurs ou égaux à 1 : 80. L'antigène est constitué par des mycoplasmes lysés par les ultrasons ou par le laurylsulfate de sodium.

Cette technique à été normalisée par PERREAU *et al.*, (1976) en microplaques. Le seuil de positivité d'un sérum a été fixé à 1:40, en raison des réactions croisées observées entre *M. capricolum*, d'une part et *M. mycoides* et *M. agalactiae*, d'autre part.

Cependant, ce diagnostic sérologique n'a de valeur qu'à l'échelle du troupeau, car il est souvent défaillant à l'échelle individuelle ; en outre, il est incapable de dépister les porteurs sains (PERREAU, 1980). La technique E.L.I.S.A. (méthode indirecte) a été développée pour le séro-diagnostic de l'infection à *M. capricolum*. Cette technique apparaît plus sensible mais moins spécifique que la fixation du complément. Elle permet un diagnostic rétrospectif 6 à 8 mois après l'évolution clinique de la maladie (BRUGGMANN *et al.*, 1977 ; BERGONIER D. *et al.*, 1996).

3.3.5. Traitement des infections à Mycoplasmes et antibiotiques

Les techniques classiques d'antibiogramme sont peu applicables en mycoplasmodologie, vu la lenteur des cultures sur gélose qui peut altérer l'activité des antibiotiques. Plusieurs techniques

alternatives ont été développées tel que l'évaluation de la concentration minimale inhibitrice en bouillon (HANNAN, 2000).

- Résistances innées :

Les mycoplasmes sont résistants aux bêta-lactamines car ils ne possèdent pas de peptidoglycane. Ils sont également résistants à l'acide nalidixique, aux polymyxines, aux rifamycines, au triméthoprim et aux sulfamidés.(POUMARAT *et al.*,1996).

- Sensibilité et résistance acquises :

Les mycoplasmes, dont ceux responsables d'infections chez les petits ruminants, sont sensibles aux antibiotiques qui agissent sur la synthèse des protéines ou des acides nucléiques. Ils sont le plus souvent sensibles aux pleuromutilines, dont la tiamuline et la valnémuline, et aux fluoroquinolones (WAITES K.B. *et al.*, 2003 ; TAYLOR-ROBINSON et BEBEAR,1997 ; TER LAAK E.A.,*et al.*,1993)). Les cyclines (tétracycline), les macrolides (tylosine) et les aminoglycosides (spiramycine) sont également actifs, bien que certaines publications énoncent l'apparition de souches de *Mycoplasma bovis* résistantes à ces substances en Europe (BALL *et al.*, 1995).

Un traitement précoce à base d'antibiotiques du groupe des macrolides ou des tétracyclines donne généralement de bons résultats (TAYLOR-ROBINSON *et al.*, 1997).

Sont utilisés par voie générale, pendant 3 à 5 jours, l'un ou l'autre des antibiotiques suivants :

Terramycine : 5 à 10 mg par kilogramme de poids vif (Kg / P.V.); Erythromycine : 25 mg/Kg P.V. ; Spiramycine : 25 mg/Kg P.V. ; Tylosine 20 mg / Kg P.V.

Cependant, si ce traitement permet de limiter les pertes engendrées par la maladie, il se révèle le plus souvent incapable de faire disparaître l'infection du troupeau (PERREAU et BREARD., 1979 ; NICOLAS *et al.*, 1982). En outre, certains auteurs rapportent l'échec de l'antibiothérapie dans le traitement de l'agalaxie contagieuse à *M.capricolum* (CONTINI *et al.* ,1982 ; PICA VET *et al.*, 1983).

3.3.6. Prophylaxie

Aucun vaccin ne permet, à l'heure actuelle, de conférer une immunité active vis-à-vis de cette infection. De ce fait ce sont les mesures sanitaires qui doivent être appliquées pour protéger les troupeaux sains (THIAUCOURT F., 1997).

- La quarantaine doit être imposée pour les animaux nouvellement introduits dans un troupeau.
- En milieu infecté, seul l'abattage, suivi de désinfection permet de se débarrasser de l'infection (PERREAU et BREARD, 1979).

3.4. INFECTION EXPERIMENTALE A *M. capricolum*

3.4.1. Infection expérimentale des caprins

La majorité des travaux sur l'infection expérimentale a été réalisée avec *M. capricolum* et sur l'espèce caprine.

3.4.1.1. Infection des jeunes chevreaux

Les résultats de l'infection expérimentale des jeunes chevreaux âgés de quelques jours à quelques semaines sont assez constants et montrent que ces derniers sont très sensibles à l'infection.

Les voies sous-cutanée, intraveineuse, intracérébrale et intrapéritonéale déclenchent une septicémie mortelle avec l'apparition de polyarthrites (PERREAU et BREARD, 1979).

L'inoculation dans le cul de sac conjonctival entraîne aussi une infection mortelle mais avec une durée d'évolution plus longue (COTTEW, 1979).

La voie orale se révèle d'une efficacité certaine dans l'infection de chevreaux âgés de 7 à 14 jours. L'inoculum, constitué d'un mélange de culture de *M. capricolum* dans 100 ml de lait de chèvre fait apparaître une septicémie précoce, dès le 2^{ème} jour qui suit l'inoculation, des arthrites se

développent vers le 3^{ème} jour, et la température atteint son pic de 41 °C en 5 jours. Tous les animaux inoculés meurent dans un intervalle de temps compris entre 6 et 16 jours. Deux chevreaux sur trois, placés au contact de ces animaux meurent en 11 et 18 jours après avoir présenté les mêmes symptômes. Le délai de la mort semble étroitement lié à la dose infectante (DA MASSA *et al.*, 1983b ; DA MASSA *et al.*, 1984b).

Les lésions observées à l'autopsie sont localisées aux poumons et aux articulations :

Les poumons sont caoutchouteux, avec des zones de dépression rouges aiguës. Il s'agit d'une pneumonie interstitielle diffuse.

Les articulations montrent une inflammation des tendons et des capsules articulaires avec une érosion hémorragique des cartilages.

L'examen histopathologique révèle une synovite sérofibrineuse, une bursite et une tendinovaginite avec accumulation de cellules mononucléées et polynucléées (DA MASSA *et al.*, 1983b).

3.4.1.2. Infection des chèvres adultes

L'injection intraveineuse d'une forte dose de *M. capricolum*, suivie de la même dose, en sous-cutanée, 5 jours plus tard reproduit la maladie naturelle (PERREAU et BREARD ; 1979).

Par contre, l'inoculation en sous-cutanée et par instillation nasale pendant 3 jours de suite n'aboutit qu'à des signes cliniques discrets avec cependant une réponse immunitaire assez nette (HARBI, 1976). L'inoculation par voie intra mammaire à un seul quartier entraîne l'apparition d'une mammite qui gagne rapidement le quartier non inoculé. L'agalaxie est totale (en 3 à 7 j) avec induration du pis et hypertrophie des ganglions rétro mammaires.

Une hyperthermie et une inflammation articulaire transitoires sont notées et l'excrétion dans le lait se poursuit au moins pendant 4 mois (DA MASSA *et al.*, 1984a).

3.4.2. Infection expérimentale des ovins

Les agneaux succombent de la même manière que les chevreaux après l'injection de culture virulente par des voies très diverses : voie intra bronchique, sous-cutanée, orale, intraveineuse, intra trachéale, intramusculaire, ou intracérébrale (PERREAU et BREARD,1979). Les ovins adultes, inoculés par voie intraveineuse développent après 5 jours une fièvre, de la prostration, de la polypnée et des boiteries (SWANEPOEL *et al.*, 1977).

<i>et</i> (arthrite <i>al.</i> 1977 agneau)		i.v.		0,5ml PBS		prostration, boiteries

Tableau N° 12 : Infections expérimentales à *Mycoplasma capricolum*

BUTS DE L'ETUDE

Le présent travail a pour buts :

- de montrer la présence et l'importance des mycoplasmes dans les pneumopathies des petits ruminants, en les identifiant et en précisant leur fréquence d'isolement dans la région de Constantine
- de réaliser un dépistage sérologique afin de révéler la présence d'anticorps antimycoplasmiques.
- D'identifier, à l'aide d'une infection expérimentale, les antigènes majeurs reconnus par les anticorps et cela dans un but vaccinal.

4.1. MATERIEL ET METHODES

4.1.1. METHODES D'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE

4.1.1.1. Enquête chez les petits ruminants

4.1.1.1.1. Présentation des régions d'étude

Le travail vise à estimer l'importance des infections à mycoplasmes chez les petits ruminants en Algérie. Ainsi, 3 régions où l'élevage ovin présente un intérêt particulier ont été choisies. Il s'agit des régions de Constantine, du Khroub et de Aïn Mlila.

Ce sont des régions qui reçoivent de très nombreux animaux d'origine diverse, destinés surtout à la consommation.

4.1.1.1.2. Protocole de l'enquête

L'étude s'est déroulée en 2 étapes :

1ère étape :

Les mycoplasmes ont été recherchés dans les troubles respiratoires :

1/ Par l'examen des lésions pulmonaires chez des animaux abattus dans 3 abattoirs : (Constantine, Khroub et Ain Mlila).

Au total 150 poumons d'ovins ont été prélevés. Les renseignements concernant ces organes sont recueillis sur des fiches (ANNEXE N°1).

2/ Par des visites d'exploitations (situées dans les mêmes régions), en procédant à des prélèvements sur animaux présentant des symptômes suspects (ANNEXE N°2).

Au total 142 prélèvements (écouvillonnage nasal) de moutons, provenant de 9 troupeaux ont fait l'objet de ces investigations pour l'isolement des mycoplasmes.

Parallèlement, 83 sérums ont été prélevés. (Tableau 13)

	Animaux abattus	Animaux vivants (9 troupeaux)
--	-----------------	-------------------------------

Région	Prélèvement poumon	Nbre animaux	Prélèvement écouvillon nasal
Constantine	90	–	–
Khroub	40	78	78
Ain M'Lila	20	64	64
Total	150	142	142

Tableau N°13 : Origine des prélèvements effectués sur les troupeaux ovins

2ème étape :

- Les mycoplasmes ont été recherchés par l'isolement et la sérologie sur des animaux. L'abattoir du Khroub a été choisi pour poursuivre l'enquête. Des prélèvements ont été réalisés aussi bien sur des animaux présentant des symptômes respiratoires, que sur d'autres, apparemment sains. Ainsi, 50 moutons ont fait l'objet de ces investigations pour l'isolement et la sérologie.

4.1.1.1.3. Réalisation et transport des prélèvements

4.1.1.1.3.1. Prélèvements destinés à l'isolement des mycoplasmes

Un fragment de poumon par animal, est découpé à l'aide de ciseaux puis mis dans un sachet.

Les sécrétions nasales sont prélevées à l'aide d'écouvillons stériles qui, juste après sont mis dans un tube contenant un milieu spécial de transport (milieu liquide à base d'eau peptonnée, d'antibiotique et un antifongique).

4.1.1.1.3.2. Prélèvements destinés à l'étude sérologique

10 ml de sang sont prélevés par la veine jugulaire dans des tubes sous vides, sans anticoagulant. Après décantation, le sérum est centrifugé à 3000t/mn pendant 15 mn, puis placé à - 20°C.

4.1.2. METHODES D'ISOLEMENT ET D'IDENTIFICATION

4.1.2.1 Méthodes d'isolement

4.1.2.1.1 Milieux d'isolement

L'isolement des mycoplasmes a été réalisé en utilisant un milieu de base (Prodilab) sous deux formes (liquide et solide) (dont la composition est identique à celle du milieu décrit par HAYFLICK

(1965), enrichi par 20 p. 100 de sérum de cheval, 10 p.100 d'extrait de levure, et 0,15 g p.100 de flabelline, 625 U.I. p.100 de bacitracine, 0,25 p.100 d'acétate de thallium comme agents antibactériens.(ANNEXE N°3, N°4 N°5, N°6, N°7)

4.1.2.1.2 Protocole d'isolement

Dés la réception des prélèvements au laboratoire, on procède à la recherche uniquement des mycoplasmes (car les autres bactéries n'ont pas fait l'objet de recherche) en ensemençant (technique de la carotte) des bouillons mycoplasme par dilution (10^{-1} et 10^{-2}) (schéma N °1) qu'on inocule simultanément sur la surface de gélose mycoplasme et qu'on place dans une atmosphère humide à 37°C et en absence de CO_2 .

Technique d'isolement :

On cautérise la zone atteinte et, à l'aide d'une pipette Pasteur, on effectue le prélèvement, c'est la technique de la carotte.

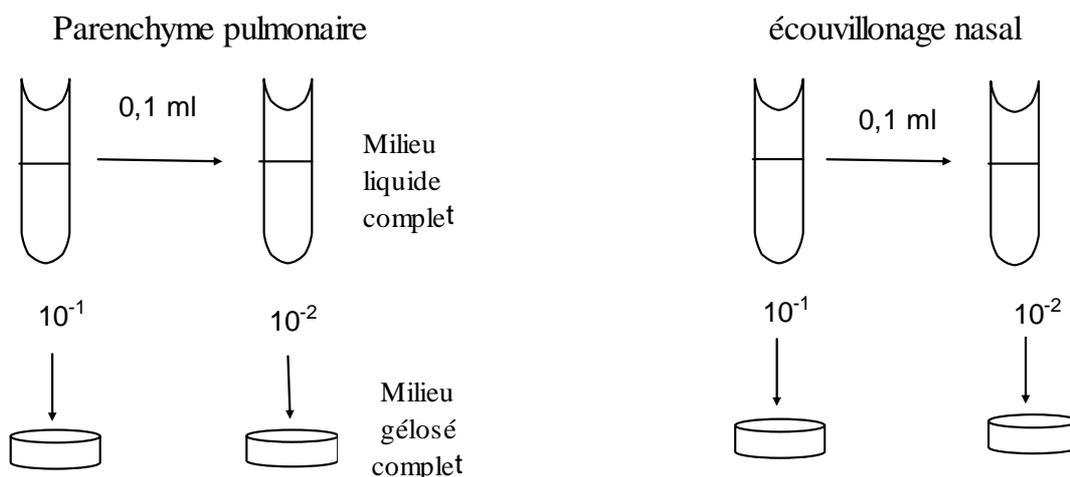
4.1.2.2. Méthodes d'identification

4.1.2.2.1 Examen des caractères cultureux et biochimiques

4.1.2.2.1.1 Caractères cultureux

Pour contrôler la croissance de chaque souche, on fait une première lecture à 24 heures d'incubation, puis tous les quatre jours jusqu'au quinzième jour.

La présence éventuelle de mycoplasmes dans le bouillon se traduit par un léger trouble ; parallèlement, on examine au microscope optique (type Leitz, Gr. : 6,3 x 4) les milieux solides correspondants. Au cas où il y a présence de culture, toute colonie suspecte est ensemencée dans un milieu liquide et subit plusieurs passages.



incubation de 24 à 48 heures (37°C)

Pour exclure la présence d'une bactérie en phase L, plusieurs subcultures en milieu sans antibiotiques sont réalisés (2 passages en milieu liquide et un dernier sur gélose).

La distinction entre acholeplasmes et mycoplasmes est mise en évidence en déposant un disque imprégné de digitonine à 1,5 p.100 (ANNEXE N°10) sur une surface de gélose préalablementensemencée d'une culture. Au bout de 24 à 48 heures, les mycoplasmes vrais sont inhibés autour du disque, alors que les acholeplasmes ne sont pas inhibés par cette concentration.

4.1.2.2.1.2. Caractères biochimiques (schéma N°2)

Plusieurs tests biochimiques sont nécessaires pour permettre d'orienter le diagnostic :

Il s'agit de la fermentation du glucose, de l'hydrolyse de l'arginine, de la réduction du tétrazolium (TTC), de la réaction de la phosphatase et de la production de « film and spots ».

Ces tests nécessitent l'utilisation du bouillon mycoplasme (ANNEXE N°8)

- Fermentation du glucose

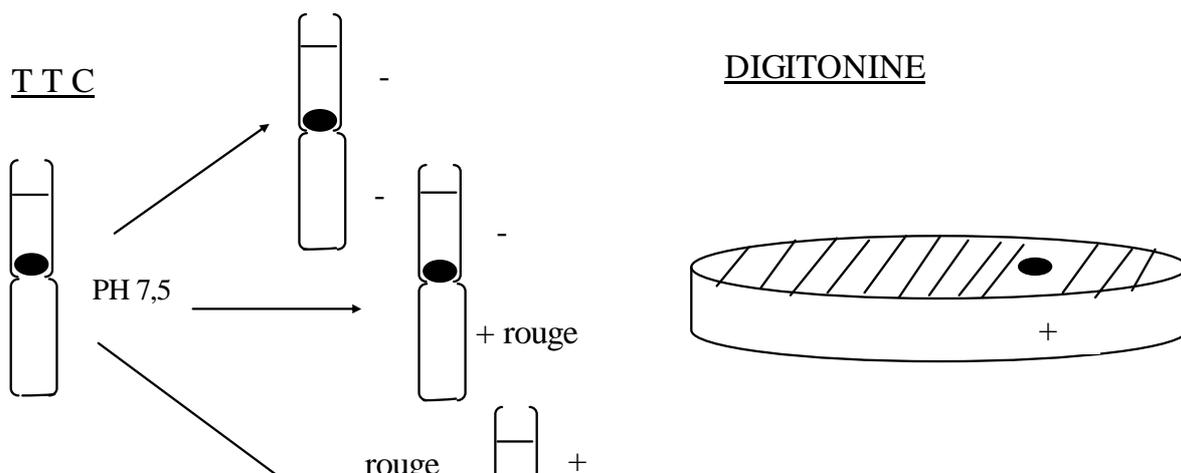
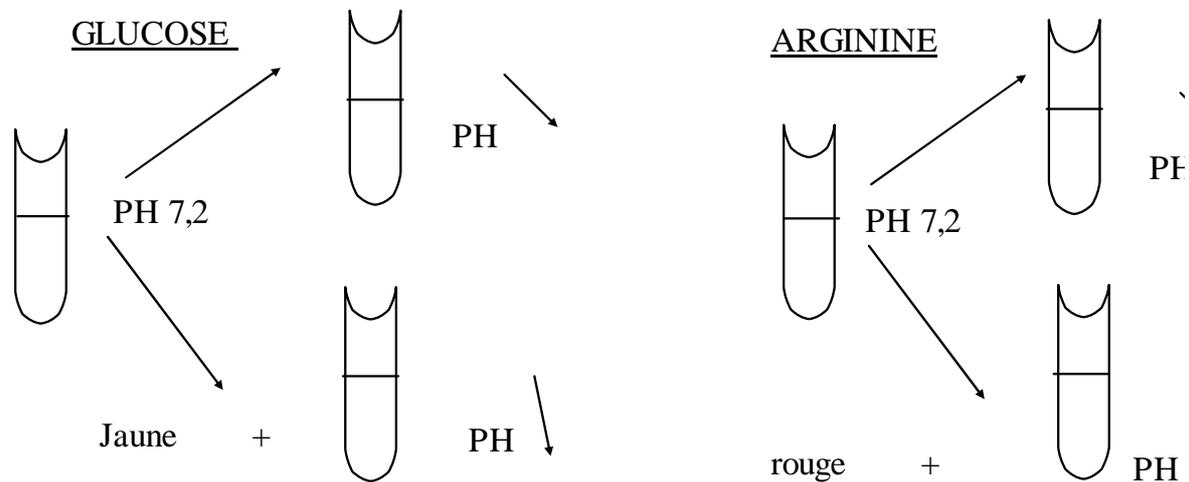
Ce test nécessite un bouillon glucosé qui est ensemencé par 0,1 ml de suspension bactérienne. Si la souche testée a la propriété de fermenter le glucose, on observe un virage de coloration du rouge au jaune.

-Hydrolyse de l'arginine

C'est le même procédé que pour le glucose. Si la souche testée a la propriété d'utiliser l'arginine, on observe une coloration rouge.

- Réduction du chlorure de triphényltétrazolium

Un bouillon mycoplasme est supplémenté d'une solution de 2 % de chlorure de triphényltétrazolium. On ensemence dans un tube à bille (tube Yvan Holl) en déposant 0,1ml de suspension de mycoplasme au dessus et dessous de la bille. L'apparition d'une coloration rouge indique une réduction du chlorure de triphényltétrazolium.



- Recherche de la phosphatase

Elle est mise en évidence quand on dépose une goutte de NaOH ou KOH sur la surface de gélose où les colonies sont bien développées. Si la souche à tester est positive, toute la goutte deviendra rouge ou rose (ANNEXE N°9)

4.1.2.2.2. Examen des caractères antigéniques

L'identification définitive des souches a été réalisée à l'aide du test d'inhibition de croissance. Les sérums hyper-immuns anti-Mycoplasma ont été produits sur lapin (ANNEXE N°11)

4.1.2.2.2.1. Test d'inhibition de croissance

La surface de la gélose est inondée d'une culture de mycoplames, qu'on laisse sécher pendant 15 minutes ; ensuite, on dépose les disques imprégnés d'antisérum (les antisérums ont été préparés au service de bactériologie de l'Ecole Vétérinaire de Lyon).

La lecture est faite 3 à 4 jours après incubation : on observe des zones d'inhibition de la croissance autour du disque, dont on note le diamètre, qui indique la spécificité de l'immun-sérum testé envers la souche à identifier.

4.1.3. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

Toutes les souches isolées ont été soumises à des antibiotiques selon la méthode classique d'antibiogramme. On détermine la zone d'inhibition autour des disques imprégnés d'antibiotiques et disposés sur la gélose ensemencée au préalable avec une culture de mycoplasmes. Les antibiotiques utilisés sont : Terramycine, Gentamycine, Spiramycine, Chloramphénicol, et Triméthoprim.

4.1.4. METHODES DE DEPISTAGE SEROLOGIQUE

4.1.4.1. Préparation des antigènes :

- Pour la fixation du complément : les antigènes ont été obtenus par lyse au laurylsulfate de sodium et aux ultrasons .

- Pour l'E.L.I.S.A. : les antigènes ont été obtenus par lyse aux ultrasons

4.1.4.1.1. Technique de fixation du complément

La méthode proposée par PERREAU *et al.* (1976), qui est une modification de celle de CAMPBELL et TURNER (1953) appliquée à la Péripleumonie contagieuse bovine a été utilisée.

4.1.4.1.2. Technique E.L.I.S.A.

Une technique de distribution manuelle, à lecture visuelle a été employée

4.2. RESULTATS

Dans ce chapitre, sont présentés les résultats des différentes enquêtes épidémiologiques réalisées chez les petits ruminants par isolement et identification des

mycoplasmes en estimant la prévalence des infections à mycoplasmes chez des animaux présentant des lésions suspectes et cela dans différentes régions.

Cette étude a été conduite dans les abattoirs de Constantine, du Khroub et de Ain Mlila, sur des carcasses d'animaux présentant des lésions suspectes d'une part, et d'autre part dans les troupeaux où évoluaient essentiellement des troubles respiratoires.

4.2.1. Mycoplasmes isolés chez des animaux abattus présentant des lésions pulmonaires.

Les résultats de l'isolement des mycoplasmes à partir des 150 poumons lésés examinés figurent dans le tableau N°14.

Région	Nbre de poumons	Nbre de souches	Fréquences %	Identification
Constantine	90	23	25.5	- <i>M.capricolum</i> (11) - <i>M.arginini</i> (8) - <i>M.ovipneumoniae</i> (4)
Khroub	40	8	20	- <i>M.capricolum</i> (4) - <i>M.arginini</i> (3) - <i>M.ovipneumoniae</i> (1)
Ain M'Lila	20	2	10	- <i>M.capricolum</i> (1) - <i>M.arginini</i> (1)
Total	150	33	33	

Tableau n°14 : Distribution par région de l'isolement des mycoplasme à partir de poumons lésés
() : Nombre de souches

Plus de la moitié des prélèvements proviennent d'ovins abattus à Constantine. 33 souches de mycoplasmes appartenant à 4 espèces différentes (*Mycoplasma capricolum*, *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Mycoplasma arginini*) ont été isolées.

Si nous considérons les 33 souches isolées au cours de cette étude, nous retrouvons *M.capricolum* dans 16 cas (48,48 %), *M.arginini* dans 12 cas (36,36 %), et *M.ovipneumoniae* dans 5 cas (15,15 %).

Les caractères cultureux et biochimiques ainsi que le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en présence du sérum homologue de ces 33 souches sont consignés dans le tableau N°15.

Les lésions associées à ces isolements peuvent se ranger en 3 catégories : hépatisation rouge localisée généralement aux lobes apicaux, hépatisation grise et pleurésie

Dans la région on retrouve une fréquence de 33%.

4.2.2. Mycoplasmes isolés chez les animaux d'exploitation et dépistage sérologique :

4.2.2.1. Isolement des mycoplasmes

Le tableau N° 16 donne la fréquence des isolements de mycoplasmes chez les ovins examinés dans 2 régions d'étude. On retrouve une fréquence de 21,12 % en moyenne.

Le tableau N°17 expose les circonstances d'isolement de ces germes ainsi que leur identification.

M.capricolum représente 16 souches parmi les 30 isolées chez le mouton (53,3%), *M.agalactiae* : 6 souches (20 %), *M.arginini* : 6 souches (20 %), et *M.ovipneumoniae* : 3 souches (10 %),

4.2.2.2. Dépistage sérologique :

Le test de fixation du complément a donné des résultats similaires avec les AG lysés au lauryl sulfate de sodium qu'avec ceux lysés aux ultra sons. Nous présenterons les résultats obtenus avec ces derniers. (tableau N° 18).

- Le troupeau N°1 a donné des résultats totalement négatifs pour l'AG *M.agalactiae* et 3 réactions positives (60 %) vis-à-vis de *M.capricolum*.

- Le troupeau N°2 a donné uniquement 3 cas positifs (60%) vis-à-vis de *M.capricolum*.

- Le troupeau N°3 a donné un seul résultat positif vis-à-vis des 2 AG et cela avec le même sérum.

- Le troupeau N°4 a donné un seul résultat positif vis-à-vis de *M.capricolum*.

- Le troupeau N°5 a donné 4 cas positifs vis-à-vis de *M.capricolum*.
- Le troupeau N°6 a donné 15 cas positifs (68,18 %) vis-à-vis de *M.capricolum*.
- Le troupeau N°7 a donné une seule réaction positive (20 %) vis-à-vis de *M.capricolum*.
- Le troupeau N°8 a donné 6 résultats positifs (40 %) vis-à-vis de *M.capricolum*.
- Le troupeau N°9 a donné 3 cas positifs (33,3%) vis-à-vis de *M.capricolum*.

A l'issue de l'étape préliminaire, on peut noter que :

63 souches de mycoplasmes ont été isolées.

4 espèces ont été identifiées : *M.capricolum*, *M.ovipneumoniae*, *M.arginini*, et *M.agalactiae*.

Les mycoplasmes sont isolés dans toutes les régions étudiées.

Le dépistage sérologique de l'infection à *M.capricolum* est positif dans toutes les régions de l'enquête avec des fréquences de positivité dans les troupeaux infectés variant entre 8 % et 60 %. Par contre l'infection à *M.agalactiae* n'a été détectée qu'en une seule occasion où il y avait un troupeau mixte (ovins et caprins).

Identification	Caractères cultureux		Caractères biochimiques				Diamètre inhibition croissance (mn)
	Délai apparition	D (mm)	G	A	T	F.S	
<i>M.capricolum</i>	2	3	+	-	+	-	3
<i>M.capricolum</i>	2	2	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	3	3	+	-	+	-	3
<i>M.capricolum</i>	2	3	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	2	2	+	-	+	-	3
<i>M.capricolum</i>	3	3	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	4	2	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	2	3	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	3	3	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	3	3	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	2	2	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	2	2	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	3	2	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	4	2	+	-	+	-	3
<i>M.capricolum</i>	2	2	+	-	+	-	2
<i>M.capricolum</i>	2	2	+	-	+	-	2
<i>M.arginini</i>	2	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	2	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	2	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	2	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	3	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	2	4	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	3	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	2	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	2	5	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	3	5	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	2	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.arginini</i>	2	3	-	+	+/-	+	3
<i>M.ovipneumoniae</i>	2	2	+	-	+	-	2
<i>M.ovipneumoniae</i>	2	2	+	-	+	-	3
<i>M.ovipneumoniae</i>	2	2	+	-	+	-	3
<i>M.ovipneumoniae</i>	2	2	+	-	+	-	2
<i>M.ovipneumoniae</i>	2	2	+	-	+	-	2

Tableau N° 15 : Caractères microbiologiques des mycoplasmes isolés des poumons d'ovins.

Légende : D : digitonine ; G : Glucose ; A : arginine

T : Chlorure de triphényltétazolium ; F.S : « Film and spot »

	Troupeaux	Mycoplasmes isolés
--	-----------	--------------------

Région	N°	Effectifs	Nbre prélèvements	Nbre	Fréquence %	Identification
Khroub	1	50	8	3	37.5	- <i>M.capricolum</i> (2) - <i>M.arginini</i> (1)
	2	60	11	3	27.27	- <i>M.capricolum</i> (2) - <i>M.ovipneumoniae</i> (1)
	3	100	10	2	20	- <i>M.capricolum</i> (1)
	4	36	7	3	28.57	- <i>M.arginini</i> (1)
	5	120	12	2	16.66	- <i>M.capricolum</i> (2) - <i>M.arginini</i> (1)
	6	200	30	6	20	- <i>M.ovipneumoniae</i> (1) - <i>M.agalactiae</i> (1)
						- <i>M.capricolum</i> (3) - <i>M.ovipneumoniae</i> (1) - <i>M.arginini</i> (1) - <i>Magalactiae</i> (1)
Total		566	78	19	24,25	
Ain M'Lila	7	100	12	3	25	- <i>M.capricolum</i> (2) - <i>M.agalactiae</i> (1)
	8	200	31	6	19,35	- <i>M.capricolum</i> (4) - <i>M.agalactiae</i> (2)
	9	150	21	2	9,52	- <i>M.arginini</i> (2)
Total		450	64	11	17,18	

Tableau N° 16 : Fréquence d'isolement des mycoplasmes chez les ovins examinés appartenant aux 9 troupeaux (écouvillonnage nasal)

() : Nombre de souches

Tableau N° 17 : Circonstance d'isolement des mycoplasmes chez les ovins des différents troupeaux

Origine du troupeau	N°	Souche de Mycoplasme	Circonstances d'isolement	
			Age de l'animal	Symptômes observés
Khroub	1	<i>M. capricolum</i> (2)	3mois	toux, jetage, hyperthermie
		<i>M. arginini</i> (1)	3 mois	
	2	<i>M. capricolum</i> (2)	4mois	toux, dyspnée, hyperthermie
		<i>M. ovipneumoniae</i> (1)	3 mois	toux, jetage, dyspnée
	.3	<i>M. capricolum</i> (1)	4 mois	toux, jetage, dyspnée, hyperthermie
		<i>M. arginini</i> (1)	4 mois	
	4	<i>M. capricolum</i> (2)	4 mois	toux, jetage, hyperthermie
		<i>M. arginini</i> (1)	4 mois	-
	5	<i>M. ovipneumoniae</i> (1)	3 mois	jetage
		<i>M. agalactiae</i> (1)	4 mois	Jetage, hyperthermie
	6	<i>M. capricolum</i> (3)	adulte	Dyspnée, jetage
		<i>M. ovipneumoniae</i> (1)	adulte	Jetage
<i>M. arginini</i> (1)		4 mois		
<i>M. agalactiae</i> (1)		adulte	hyperthermie	
AinMlila	7	<i>M. capricolum</i> (2).	adulte	Jetage, toux, hyperthermie
		<i>M. agalactiae</i> (1)	adulte	
	8	<i>M. capricolum</i> (4)	adulte	jetage
	9	<i>M. agalactiae</i> (2)	4 mois	Jetage, toux, hyperthermie
<i>M. arginini</i> (2)		3 mois	-	

examinés.

() : Nombre de souches

REGION	TROUPEAUX			SERUM + (> 1/40 EN FC')			
				AG <i>agalactiae</i>		AG <i>capricolum</i>	
	Numé- ro	Nbre Anx	Nbre prélèvements	Nbre	Fréquence %	Nbre	Fréquence %
Khroub	1	50	5	0	0	3	60
	2	60	5	0	0	3	60
	3	100	12	1	8	1	8
	4	36	3	0	0	1	33
	5	120	7	0	0	4	57,14
	6	200	22	0	0	15	68,18
Ain Mlila	7	100	5	0	0	1	20
	8	200	15	0	0	6	40
	9	150	9	0	0	3	33,3

TABLEAU N°18 : Fréquence des sérums d'ovins positifs (en FC') vis-à-vis de *M.agalactiae* et *M.capricolum*

CONCLUSION

Cette étude préliminaire, la première à être réalisée en Algérie sur la prévalence des infections à mycoplasmes chez les ovins, a permis de constater une large distribution de ces infections, du moins dans les régions étudiées.

2ème étape

4.2.3. Mycoplasmes isolés sur les animaux destinés à être abattus dans l'abattoir du Khroub :

Chez les 50 ovins étudiés, la fréquence d'isolement est 16 %.

Le tableau N°19 donne les résultats de l'identification des souches ovines, en relation avec les symptômes observés.

Numéro souche	Symptômes observés	Ages des Anx	Caractères biochimiques					Inhibition de croissance (mm)	Identification
			D (mm)	G	A	F.S	T		
1	Jetage Séreux. Polypnée	Jeune	3	+	+	-	+	2	<i>M.capricolum</i>
2	Jetage séreux, polypnée.	Jeune	2	+	+	-	+	3	"
3	Cliniquement sain	Jeune	2	+	+	-	+	2	"
4	Jetage mucopurulent . Dyspnée	Jeune	2	+	+	-	+	2	"
5	Jetage mucopurulent	Jeune	3	+	-	-	+	3	<i>M.ovipneumon- iae</i>
6	Jetage séreux	Jeune	2	-	-	-	+	2	"
7	Jetage séreux, toux	Jeune	3	-	+	+	+/-	2	<i>M.arginini</i>

Tableau N°19 : Mycoplasmes isolés chez les ovins selon l'âge et l'état clinique des animaux

On constate que :

- tous les mycoplasmes isolés se trouvent à la fois dans l'écouvillonnage nasal et dans le parenchyme pulmonaire.

- selon l'état clinique des animaux, 7 souches proviennent d'animaux présentant des symptômes suspects, tandis qu'une a été isolée sur un animal apparemment sain (tableau N° 20).

- selon les lésions, toutes les souches sont isolées des poumons avec des lésions d'hépatisation rouge.

- selon l'âge, 7 souches sont issues d'animaux jeunes (dent de lait), et une d'animaux adultes. (Tableau N° 21).

Animaux sains			Animaux suspects			Total	
Nbre de prélèvements	Nbre isolement	Fréquence %	Nbre de prélèvements	Nbre isolement	Fréquence %	Nbre prélèvement	Fréquence %
12	1	8.33	38	7	18.42	50	16

Tableau N°20 : Fréquence des isolements selon l'état clinique des animaux

Animaux jeunes			Animaux adultes			Total		
Nbre de prélèvements	Nbre isolement	Fréquence %	Nbre de prélèvements	Nbre isolement	Fréquence %	Nbre prélèvement	Nbre isolements	Fréquence %
40	7	17.5	10	1	10	50	8	16

Tableau N° 21 : Fréquence des isolements selon la tranche d'âge

- selon l'espèce de mycoplasme identifié, on retrouve 4 souches de *M.capricolum* (50%) 2 souches de *M.ovipneumoniae* (25%), 1 souche de *M.arginini*. (12,5 %) et 1 souche de *M.agalactiae* (12,5%).

4.2.4. ANTIBIOSENSIBILITE

Tous les antibiotiques utilisés, sauf le trimethoprim, se sont révélés actifs sur toutes les souches isolées.

4.2.5. DEPISTAGE SEROLOGIQUE DE *M. capricolum* ET *M.agalactiae*

4.2.5.1. Résultats de la fixation du complément

Elle n'a été conduite que vis-à-vis de l'antigène *M.capricolum*

- Distribution selon les titres d'AC fixant le complément (Fig.1)

Sur les 50 sérums examinés, 17 fixent le C à un titre supérieur ou égal à 1/40 (seuil de positivité), 7 au 1/40, 6 au 1/80, 3 au 1/160 et 1 au 1/320.

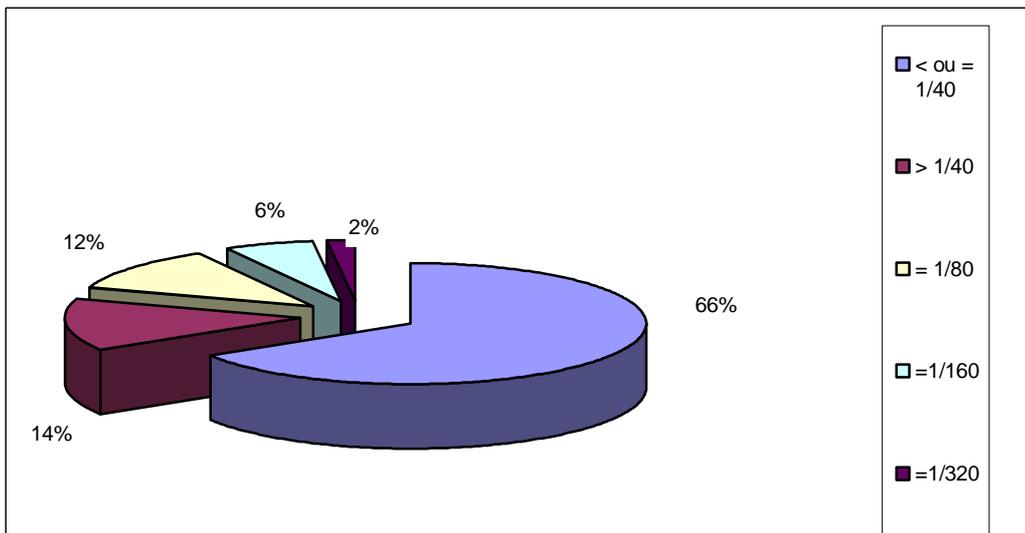


Figure N°1 : Distribution des titres sériques en fixation du complément (AG *M. capricolum*)

- Distribution des titres sériques selon l'état clinique des animaux (Fig.2a, 2b)

Chez les ovins, les sérums négatifs représentent 75 % chez les animaux cliniquement sains et 63,15 % chez les animaux suspects.

Le test de X2 révèle une différence assez significative.

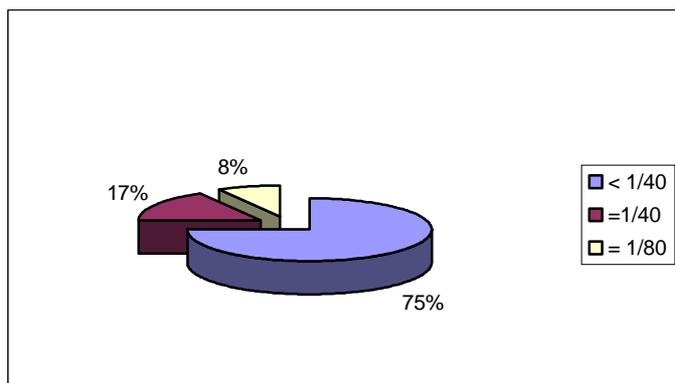


Figure N° 2A : Distribution des titres sériques en fixation du complément selon l'état clinique des animaux (animaux sains).

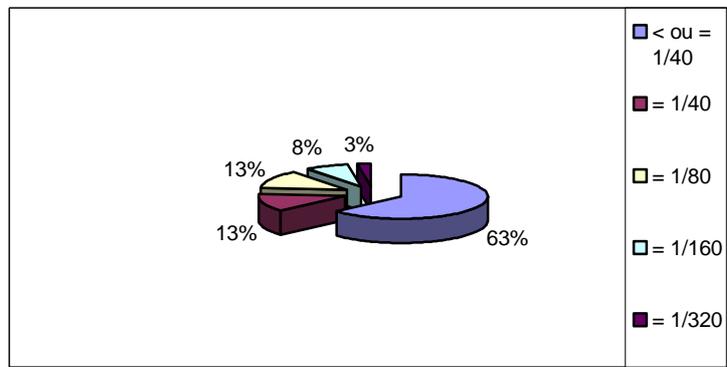


Figure N°2B : Distribution des titres sériques en fixation du complément selon l'état clinique des animaux (animaux suspects).

- Distribution des titres sériques selon les résultats de l'isolement :

Parmi les 4 animaux chez lesquels *M. capricolum* a été isolé, 2 ont un sérum négatif, 1 seul à un titre de 1/40 et 1 seul à 1/80.

4.2.5.2. Résultats de l'E.L.I.S.A.

- à l'aide de l'antigène *M. capricolum*

12 sérums sur les 50 examinés en E.L.I.S.A. sont positifs à des titres variant entre 32 et 512 (5 au 1/32 ; 3 au 1/64 ; 1 au 1/128 et 3 au 1/256).

Parmi ces sérums positifs, 1 seul titrant au 1/64 provient d'un mouton chez lequel *M. capricolum* a été isolé.

La figure N°3 représente la distribution des titres d'AC chez les ovins

- à l'aide de l'antigène *M. agalactiae*

3 sérums ont été trouvés positifs : 2 au 1/64 et 1 au 1/256 (Fig.4)

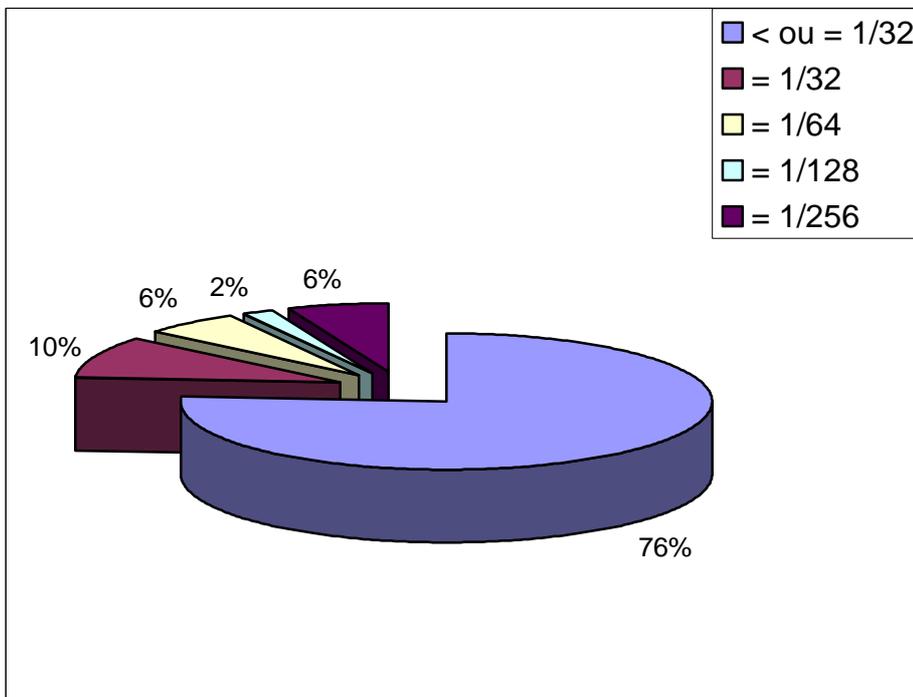


Figure N° 3 : Distribution des titres sériques en ELISA (AG *M. capricolum*)

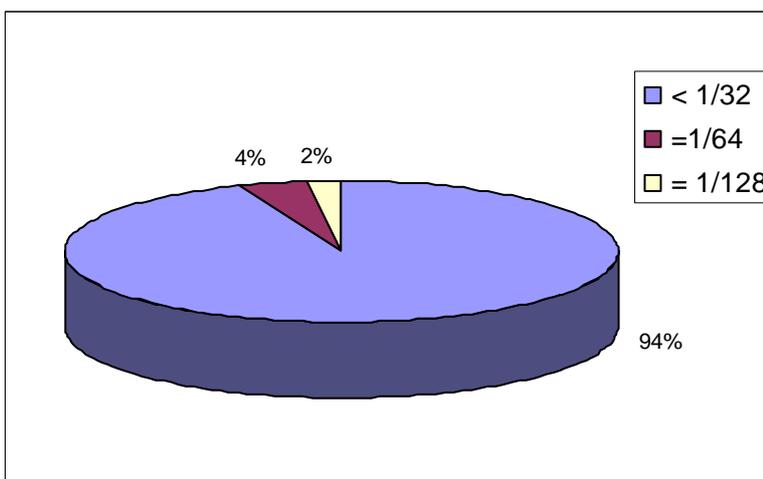


Figure N° 4 : Distribution des titres sériques en ELISA (AG *M. agalactiae*)

CONCLUSION

A l'issue de l'étude de la 2^{ème} partie la prédominance de *M. capricolum* a été confirmée : 4 souches sur 8 isolées, *M. agalactiae* a été également isolée, avec *M. ovipneumoniae* et *M. arginini*, mais avec des fréquences plus faibles.

On remarque qu'une espèce réputée pathogène a été retrouvée tantôt chez les animaux présentant des symptômes suspects, tantôt chez d'autres, apparemment sains. Ces derniers se trouvaient probablement en phase anté-clinique ou post-clinique d'une affection à laquelle ces mycoplasmes sont associés.

Lorsque les résultats de l'isolement sont confrontés à ceux obtenus en sérologie, par l'évaluation des titres en AC, grâce à 2 techniques sérologiques (FC et ELISA), et par la comparaison de ces 2 titres, on constate :

- que 75% des sérums provenant d'animaux sains sont négatifs en FC. En fait, l'état clinique de ces animaux était inconnu.

- La concordance sérologique positive/ isolement est imparfaite, probablement en raison du stade d'infection, inconnu.

4.3. DISCUSSION

4.3.1. Epidémiologie des infections à mycoplasmes chez les petits ruminants

4.3.1.1. Protocole d'étude

L'enquête s'est étalée sur 2 années dans 2 régions : (Constantine et Aïn Mlila). Les investigations ont connu de nombreuses difficultés qui tenaient aux réticences des propriétaires lors des prélèvements non assortis de soins gratuits et au mode d'élevage semi extensif.

La poursuite de l'enquête s'est effectuée alors dans les abattoirs de Constantine et du Khroub, mais avec l'inconvénient de ne pouvoir tirer aucun renseignement d'ordre épidémiologique, dans l'ignorance de l'origine des animaux.

Après le constat de l'existence de certaines affections, avec prédominance des symptômes respiratoires, l'enquête a été centrée sur des élevages suspects.

Enfin, le rôle des porteurs de germes étant encore mal connu (PERREAU, 1980), ces derniers ont été recherchés par des écouvillonnages nasaux lors de sorties sur les exploitations.

4.3.1.1.1. Fréquence globale

Dans le travail, les mycoplasmes ont été trouvés associés à différents types de lésions pulmonaires dans 21 % des prélèvements d'ovins. Étant donné la distribution déséquilibrée des prélèvements issus de différentes régions, aucune comparaison de la prévalence de ces affections ne peut être établie.

Les lésions d'hépatisation rouge ou grise, localisées surtout aux lobes apicaux, accompagnées parfois de pleurésie correspondent aux descriptions classiques (BABU *et al.*, 1982 ; BARTON et COTTEW, 1982).

Des fréquences d'isolement des mycoplasmes comparables aux nôtres ont été signalées au Mexique (CIPRIAN et PIJOAN, 1978) et en Inde (BANERJEE *et al.*, 1979).

Chez les ovins, une différence significative de réceptivité est notée entre les jeunes et les adultes. Ceci est en accord avec les constatations de plusieurs auteurs (JONES *et al.* 1979 ; COTTEW, 1979 ; PERREAU, 1980 ; BUDDLE, 1984 a).

4.3.1.1.2. Espèces isolées

4 espèces de mycoplasmes ont été isolées lors de notre enquête : *M. capricolum*, *M. ovipneumoniae*, *M. agalactiae* et *M. arginini*

4.3.1.1.2.1. *Mycoplasma capricolum*

C'est de loin l'espèce la plus fréquemment isolée dans toutes les régions. *M. capricolum* est l'un des 3 mycoplasmes (avec *M. agalactiae* et *M. ovipneumoniae*) incriminés dans l'apparition des maladies respiratoires, essentiellement dans les pays méditerranéens comme la France, l'Italie et l'Espagne (PERREAU, 1980 ; PERREAU et BREARD, 1979 ; NICOLAS *et al.*, 1982 ; TALAVERA-BOTO, 1980 ; TALAVERA-BOTO et GONCER, 1984 ; CONTINI *et al.*, 1982) l'Afrique (EGWU G.O., *et al.*, 2001 ; KUSILUKA *et al.*, 2000 ; HOUSHAYMI B. *et al.*, 2002).

L'analyse de nos résultats fait ressortir que *M. capricolum* est associé à tous les symptômes et lésions classiques de pneumonie. Il est aussi trouvé associé à des localisations, symptômes et des stades évolutifs très divers.

Nous pouvons, ainsi dire qu'en Algérie, *M. capricolum*, seul ou en association avec les autres mycoplasmes et bactéries est responsable chez les ovins des maladies respiratoires qui se déclarent suite à l'intervention de causes favorisantes (parturition, froid, sous-alimentation et parasitoses) engendrant des pertes économiques sévères. Cela correspond aux renseignements recueillis auprès des éleveurs, qui connaissent bien ces affections à prédominance respiratoire surtout chez les jeunes mais aussi les adultes.

Par ailleurs, comparativement à la chèvre, les symptômes sont toujours plus discrets, ceci suggère une plus grande résistance des ovins à l'infection. Plusieurs auteurs rapportent des observations similaires (CONTINI *et al.*, 1982 ; PICALET *et al.*, 1983).

Le rôle de l'âge est un facteur fondamental, les jeunes payent le plus lourd tribut à l'infection avec des taux de mortalité élevé. De nombreux travaux font état de cette sensibilité accrue du jeune âge (CONTINI *et al.*, 1982 ; DA MASSA *et al.*, 1983a ; GUPTA et VERMA, 1984 ; PERREAU, 1979 ; ROSENDAL *et al.*, 1979 ; RUHNKE *et al.*, 1983 ; TSCHOPP R., 2001).

Les facteurs de prédisposition extrinsèques représentés par le stress, les carences, les intempéries ou les maladies intercurrentes apparaissent nettement dans cette étude, mais leur mécanisme d'action reste à élucider (ADLER et BROOKS, 1982 ; EAST *et al.*, 1983 ; ROSENDAL *et al.*, 1979 ; NAGATOMO H. *et al.*, 2001).

Nous n'avons pu déterminer avec certitude la source de contamination. Selon de nombreux auteurs, la maladie se déclare le plus souvent suite à l'introduction d'animaux porteurs dans un troupeau sain (PERREAU, 1974 ; 1979 ; PICALET *et al.*, 1983 ; THIAUCOURT F. *et al.*, 1996

4.3.1.1.2.2. Autres espèces

- *M. arginini*, isolé occasionnellement du poumon et du mucus nasal, est un germe saprophyte pour l'arbre respiratoire des ovins et des caprins (COTTEW, 1979 ; DOUTRE et PERREAU, 1981 ; 1983 ; NAGATOMO H. *et al.*, 2001).

- *M. ovipneumoniae* : est représenté par 10 souches provenant de poumons d'ovin et du mucus nasal d'agneaux âgés de trois mois et présentant de légère hyperthermie, de la toux, du jetage et de la dyspnée.

La fréquence apparaît faible en comparaison à celles décrites dans d'autres pays comme la Grande Bretagne (Mac KAY *et al.*, 1963), la Hongrie (STIPKOVITS *et al.*, 1975), la France (PERREAU, 1973 ; KABOUIA, 1984), et la Suisse (NICOLET *et al.*, 1979). Ces pays pratiquent surtout l'élevage intensif d'agneaux dits de « 100 jours » où la promiscuité dans les troupeaux favorise la propagation du germe et ainsi la contagion. En revanche, au Mexique (CIPRIAN *et al.*, 1978) et au Soudan (MOHAMED ALI, 1977) où l'élevage des ovins est de type extensif, les résultats sont comparables. En outre, la fréquence relativement faible de nos isollements peut être attribuée au fait que les prélèvements ont été réalisés uniquement chez des malades ; or *M. ovipneumoniae* n'est pathogène que dans certaines conditions et n'entraîne généralement que des troubles discrets (SHARP *et al.*, 1978 ; BUDDLE, 1984 b ; JONES *et al.*, 1979).

- *M. agalactiae* : l'isolement de ce germe signifie la présence de l'agalaxie contagieuse en Algérie, puisqu'il en est l'agent classique (COTTEW, 1979 ; PERREAU, 1980).

4.3.2. Intervention des mycoplasmes dans la pathogénie des pneumopathies

Les résultats de nos recherches sur la pneumonie des ovins sont compatibles avec le concept d'une infection mycoplasmaïque primaire précoce dès la naissance.

La comparaison de ces résultats avec ceux rapportés par (MARTIN, 1982 ; JONES *et al.*, 1983 ; et SULLIVAN (1973) laisse supposer que les mycoplasmes sont présents dans les voies respiratoires de très jeunes agneaux. Les poumons peuvent être ensuite colonisés par d'autres agents : virus ou en particulier Pasteurella.

L'association *Pasteurella hemolytica* et *M.ovipeumoniae* est mise en évidence, selon les auteurs anglo-saxons (HAZIROGLU R. *et al.*, 1996 ; NIANG M. *et al.*,1999) lors de pneumonie atypique, vers l'âge de deux mois ; puis, vers le cinquième mois, seul *M.ovipneumoniae* est isolé (schéma N°3).

4.3.3. Caractères bactériologiques des souches isolées

4.3.3.1. Caractères culturaux :

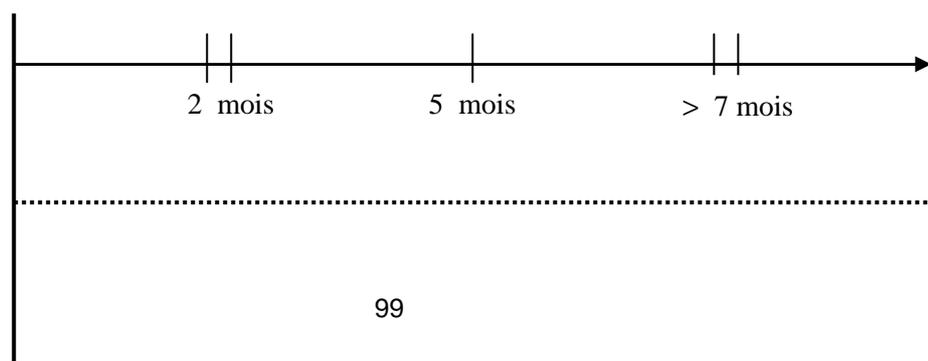
Nos observations sur les caractères morphologiques des mycoplasmes (aspect caractéristique de colonies et test de la sensibilité à la digitonine) confirment leur appartenance à la famille des Mycoplasmataceae. Cependant, on note une différence de morphologie, qui a été signalée par SAINT-GEORGES *et al.*, 1975 entre le types de souches isolées : l'un, sans centre net, qui correspond à *M.ovipneumoniae*, et l'autre, avec un centre très net, qui est *M.arginini*.

4.3.3.2. Caractères biochimiques :

Les caractères biochimiques retenus sont simples et commodes. Ils nous ont permis, sans tenir compte du caractère morphologique, d'orienter l'identification des souches isolées. Les résultats obtenus grâce à ces tests concordent avec ceux apportés par d'autres auteurs : ALLEY MR. *et al.*, 1975 ; COTTEW GS., *et al.*, 1979 ; ERNO H. *et al.*, 1978.

Cependant, les souches de *M.arginini* réduisent faiblement le chlorure de triphényltétrazolium, caractère qui semble différencier les souches européennes des souches africaines (DOUTRE *et al.*, 1981).

TEMPS



<i>BACTERIOLOGIE</i>	<i>M. ovipneumoniae</i>	<i>M. ovipneumoniae</i> <i>P. hemolytica</i> et autres bactéries	<i>M. ovipneumoniae</i>
<i>SIGNES CLINIQUES</i>	(-)	(Toux (+) (Troubles respiratoires (Fièvre	(-)

Schéma N° 03 : Pathogénie des pneumopathies des ovins

4.3.3.3. Inhibition de croissance

L'inhibition de croissance nous montre qu'il existe une grande parenté antigénique dans le groupe défini arginini. Par contre, parmi les groupes *M. ovipneumoniae* et *M. capricolum*, ce test fait apparaître plusieurs types d'inhibition, différences qui sont signalées par certains auteurs pour certaines souches aviaires. Ces variations pourraient provenir soit du manque de spécificité de la méthode sérologique employée, soit de l'existence de variants antigéniques.

4.3.3.4. Antibiosensibilité

Les tests de sensibilité aux antibiotiques, bien que critiquables (POUMARAT F. *et al.*, 1989), car réalisés par la méthode des disques, nous a permis cependant, en première approximation, de confirmer les études réalisées par plusieurs auteurs (FRIIS *et al.*, 1994 ; SIKDAR A. *et al.*, 1996) et montrer que les antibiotiques les plus actifs sont terramycine, la

spiramycine, le chloramphénicol, la gentamycine. La sensibilité des mycoplasmes respiratoires ovins étant semblable, tout au moins *in vitro*, à celle des mycoplasmes isolés chez les bovins (THOMMAS A. *et al.*, 2003) et chez d'autres espèces animales (LORIA GR. *et al.*, 2003).

4.3.3.5. Dépistage sérologique

Deux techniques sérologiques ont été choisies pour dépister ces infections, la FC' et le test E.L.I.S.A.

- Pour la FC', la dilution au 1/40 a été retenue comme seuil de positivité comme le suggère PERREAU *et al.* (1976), dont nous avons appliqué la technique.

En effet, il existe des réactions croisées entre les différents mycoplasmes (PERREAU, 1980) et même des réactions faussement positives ont été observé vis-à-vis de *M.agalactiae* chez des animaux infectés par *Corynebacterium ovis* (ANONYME, 1979).

Les résultats de la FC' confirment ceux de l'isolement : tous les animaux chez qui on a isolé *M.capricolum*, ont été positifs en FC', mais aussi avec une évolution qui varie avec le stade clinique de la maladie. Ces constatations sont en accord avec les interprétations du test de FC' proposé par PERREAU *et al.* (1976) et par PERREAU (1980) : il s'agit d'un test de dépistage de groupe qui n'a que peu de valeur à l'échelle de l'individu.

- Pour l'E.L.I.S.A, on constate une bonne corrélation entre la sérologie et l'isolement à l'échelle individuelle. Certains animaux récemment infectés peuvent toutefois échapper au dépistage sérologique comme l'ont signalé SCHAEREN et NICOLAS (1982).

Dans le cas où la FC et l'ELISA ont été conjointement employées, elles ont fourni une fréquence de positivité comparable.

Cependant, la positivité simultanément aux 2 tests n'est que rarement observée, ceci est en désaccord avec les résultats de SCHAEREN *et al.*, (1982) qui attribuent à ces 2 tests une sensibilité comparable. Ceci est du à la présence d'autres mycoplasmes chez les animaux (NIANG M. *et al.*, 1999).

CONCLUSIONS GENERALES

L'étude épidémiologique des infections à mycoplasmes chez les petits ruminants nous a permis de constater :

- une présence élevée de ces infections et une distribution large dans toutes les régions étudiées.
- L'isolement de *M.agalactiae*, de *M.capricolum* et de *M.ovipneumoniae* dans différents troubles respiratoires.
- L'association de ces mycoplasmes dans ce type de pathologie, dont l'apparition coïncide avec la période des disettes alimentaires et des perturbations climatiques.
- la possibilité de dépister ces infections à l'échelle d'un troupeau par la sérologie qui peut être mise en défaut à l'échelle individuelle.

L'étude expérimentale de l'infection avec *M.agalactiae* confirme son rôle pathogène pour les moutons inoculés par voie intra conjonctivale.

L'utilisation des caractères biochimiques a permis d'identifier ces mycoplasmes, cependant des différences sont notées lors de tests sérologiques montrant ainsi une certaine hétérogénéité entre les différentes souches de mycoplasmes.

Les résultats de l'immunoblotting montrent une légère variabilité antigénique de *M.agalactiae* et la présence régulière de certains antigènes reconnus par les sérums d'animaux infectés.

Cette étude doit se poursuivre :

- par une évaluation plus précise du rôle joué par *M.agalactiae* et *M.capricolum* et *M.ovipneumoniae* chez les petits ruminants, afin d'envisager la mise en œuvre de mesures thérapeutiques et prophylactiques
- par l'étude du portage asymptomatique.
- Par le développement des techniques de biologie moléculaire qui permettront une meilleure connaissance de la constitution antigénique des mycoplasmes des petits ruminants.
- Par une meilleure connaissance de la pathogénie des infections à mycoplasmes et les mécanismes immunitaires.
- Par le test de la capacité vaccinale de souches atténuées naturelles ou d'extraits de *Mycoplasma agalactiae*

SUMMARY

An epidemiologic study on mycoplasmas of sheep, was conducted for the first time in Algeria

M.agalactiae, *M.capricolum*, *M.ovipneumoniae* and *M.arginini* were found in animals with symptoms and lesions respiratory. A serological investigation by F.C. and E.L.I.S.A. revealed the presence of antibodies against mycoplasma.

Furthermore, this strains were identified by biochemical test (arginin hydrolysis, tetrazolium reduction, film and spots and phosphatase) and serologic(inhibition of growth in antiserums presence) .

The mycoplasma are the origine of great pathology at the ruminants. To better elucidate the mecanism of persistency of these bacterial in the animal organism, two experiments had been realised with P89 strains (*M.agalactiae*) and differents doses. During the two experiments, specific serum antibodies were detected by western blot, determining a few immunodominant antigen recognised by the immunserums wich will survive for the further studies in the approach vaccination.

Key words: mycoplasma, sheep, immunoblotting, antibody, major antigen.

.

