VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2015 - Thèse n° 77

CONTROLE DE L'AGALACTIE CONTAGIEUSE CAPRINE : EVALUATION D'UN PROTOCOLE DE SUIVI SANITAIRE DES TROUPEAUX PAR RECHERCHE SYSTEMATIQUE DANS LES LAITS DE TANK
- Etude préliminaire en région Poitou-Charentes -

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 27 novembre 2015
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Tessa TROUCHON
Née le 15 novembre 1988
à Brioude (43)

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2015 - Thèse n° 77

CONTROLE DE L'AGALACTIE CONTAGIEUSE CAPRINE : EVALUATION D'UN PROTOCOLE DE SUIVI SANITAIRE DES TROUPEAUX PAR RECHERCHE SYSTEMATIQUE DANS LES LAITS DE TANK
- Etude préliminaire en région Poitou-Charentes -

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 27 novembre 2015
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Tessa TROUCHON
Née le 15 novembre 1988
à Brioude (43)

LISTE DES ENSEIGNANTS DU CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Mise à jour le 09 juin 2015

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
M.	ALOGNINOUWA	Théodore	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BERTHELET	Marie-Anne	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CADORE	Jean-Luc	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	COMMUN	Loic	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	Unité pédagogique Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	HUGONNARD	Marine	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KECK	Gérard	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	LACHERETZ	Antoine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LATTARD	Virginie	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Unité pédagogique Equine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	MOUNIER	Luc	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PEPIN	Michel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences stagiaire
M.	ROGER	Thierry	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Serge	Unité pédagogique Equine	Professeur associé
Mme	SEGARD	Emilie	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	TORTEREAU	Antonin	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences stagiaire
M.	VIGUIER	Eric	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Alain CALENDER,

De la faculté de médecine de Lyon,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,

Avec toute ma gratitude et mes hommages respectueux.

A Madame le Professeur Dominique LE GRAND,

De VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon,

Qui m'a confié ce travail passionnant,

Mes sincères remerciements pour sa bienveillance, sa disponibilité, son soutien et son aide.

A Monsieur le Professeur Philippe BERNY,

De VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon,

Qui a accepté de faire partie de ce jury de thèse,

Mes remerciements sincères pour son enthousiasme et son indéfectible soutien.

A Monsieur Michaël TREILLES,

Directeur du Domaine Santé Animale au Laboratoire d'Analyses Sèvres Atlantique (LASAT),

D'avoir accepté d'être membre invité de ce jury,

Mes remerciements sincères pour son accueil à Niort, sa disponibilité et ses conseils.

A Madame Jacquemine VIALARD,

Directrice de l'ANSES laboratoire de Niort,

D'avoir accepté mon invitation,

Mes remerciements sincères pour sa gentillesse, sa disponibilité et son aide.

Sincères remerciements aux partenaires financiers et techniques du projet MYCAPTANK : Région Poitou-Charentes, Conseil Département des Deux-Sèvres, OMACAP, organismes de Contrôle Laitier (79, 85 et 86) et éleveurs.

A ma famille, à ma belle-famille et à mes amis,
Je vous remercie pour votre aide et pour votre soutien pendant ces longues années d'études !

A la mémoire de mon arrière-grand-mère maternelle,
Qui m'a toujours appréciée et qui m'a transmis sa force de caractère.

En hommage à mon grand-père maternel,
Qui nous a quittés brutalement avec le plus grand courage pour nous protéger,
Qui m'a transmis sa passion pour les animaux, sa curiosité et sa soif de connaissance.

En hommage à mes grands-parents paternels,
Qui nous ont quittés trop vite mais qui auraient tout donné pour être là aujourd'hui,
Vous avez toujours cru en moi et vous m'avez transmis votre générosité.

A ma grand-mère maternelle,
C'est à toi que je dédie ce travail, en témoignage de mon immense affection et reconnaissance,
Pour ton soutien indéfectible et pour m'avoir transmis cette incroyable capacité à faire face.

A ma sœur,
Malgré nos différences, mon admiration pour toi est sans égale et je serai toujours là pour toi.

A mes parents,
Pour votre confiance, votre engagement et votre soutien sans failles, pour m'avoir supportée pendant toutes ces années et surtout pour m'avoir toujours acceptée telle que je suis,
Je vous dois une immense partie de ma réussite, je vous remercie infiniment.

A mon mari,
Les mots ne suffisent pas pour exprimer tout l'amour que je te porte et toute mon admiration,
Pour m'avoir soutenue pendant toutes ces années avec ton amour indéfectible et ta patience,
Pour ce que nous avons vécu et ce que nous allons vivre, tu as ma reconnaissance éternelle.

TABLE DES MATIERES

Remerciements 4
Table des annexes 10
Table des figures 11
Table des tableaux 13
Table des abréviations 14
Introduction 16

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Que sont les mycoplasmes ? 18
Quelles sont les espèces isolées chez les caprins ? 23
I- Généralités sur l'Agalactie Contagieuse ou Syndrome Agalactie Contagieuse des petits ruminants : 24
I.1 Définition et importance : 24
I.2 Espèces de mycoplasmes impliquées dans le Syndrome Agalactie Contagieuse : 25
I.2.1 Classification et arbre phylogénique : 25
I.2.2 Répartition des espèces de mycoplasmes responsables du Syndrome Agalactie Contagieuse chez les petits ruminants : 27
I.3 Epidémiologie descriptive : 27
I.3.1 Répartition géographique de l'Agalactie Contagieuse : 27
I.3.2 Evolution de l'Agalactie Contagieuse dans un troupeau atteint : 29
I.4 Epidémiologie analytique : 30
I.4.1 Sources de contamination : 30
I.4.1.1 Voies d'excrétion en phase clinique et matières virulentes. 30
I.4.1.2 Sites de portage asymptomatique. 31
I.4.1.3 Rôle de l'environnement. 32
I.4.2 Voies de pénétration : 33
I.4.3 Facteurs de réceptivité et de sensibilité : 34
I.4.4 Modalités de transmission : 34
I.4.5 Espèces réservoirs : 36
I.5 Pathogénie et signes cliniques de l'Agalactie Contagieuse : 37
I.5.1 Pathogénie : 37
I.5.2 Généralités sur l'expression clinique de l'Agalactie Contagieuse : 38
I.5.3 Expression clinique selon l'espèce pathogène : 38
I.5.4 Caractéristiques des signes cliniques observés : 40

I.5.4.1 Symptômes généraux. 40
I.5.4.2 Signes mammaires. 40
I.5.4.3 Signes articulaires. 41
I.5.4.4 Signes oculaires. 43
I.5.4.5 Signes respiratoires. 44
I.5.5 Autres signes cliniques plus rarement observés : 46
I.5.5.1 Avortements et symptômes génitaux. 46
I.5.5.2 Signes nerveux. 46
I.6 Diagnostic de l'Agalactie Contagieuse : 46
I.6.1 Suspicion clinique et épidémiologique : 46
I.6.2 Diagnostic étiologique : 47
I.6.2.1 Prélèvements. 47
I.6.2.2 Diagnostic direct. 48
I.6.3 Diagnostic sérologique : 51
I.6.3.1 Réaction de fixation du complément. 52
I.6.3.2 Techniques ELISA. 52
I.6.3.3 Technique Western Blot. 53
I.7 Mesures de lutte et de contrôle de l'Agalactie Contagieuse : 54
I.7.1 Traitement de l'Agalactie Contagieuse : 54
I.7.1.1 Choix des antibiotiques. 54
I.7.1.2 Protocoles de traitement. 55
I.7.1.3 Limites de l'antibiothérapie. 57
I.7.2 Prophylaxie médicale : 57
I.7.2.1 Vaccins à germes inactivés. 57
I.7.2.2 Vaccins à germes vivants atténués. 59
I.7.3 Prophylaxie sanitaire : 59
I.7.3.1 Mesures d'abattage. 59
I.7.3.2 Réduction des sources mycoplasmiques. 60
I.7.3.3 Limitation de la transmission au sein du troupeau. 60
I.7.4 Situation réglementaire du Syndrome Agalactie Contagieuse : 61
I.7.4.1 Recommandations internationales. 61
I.7.4.2 Réglementation au niveau national. 62
II- Situation du Syndrome Agalactie Contagieuse en France : 63
II.1 Epidémiologie de l'Agalactie Contagieuse en France : 63
II.1.1 Présentation du réseau VIGIMYC : 63
II.1.2 Données sur la fréquence des différentes espèces isolées : 64

II.1.3 Particularités du Syndrome Agalactie Contagieuse en fonction des espèces impliquées : 67
II.1.3.1 Mycoplasmes du groupe « mycoides » et *Mp*. 67
II.1.3.2 *Mycoplasma agalactiae*. 68
II.2 Mesures de prophylaxie mises en place en France : 68
II.2.1 Mesures de prophylaxie dans les départements réglementés : 68
II.2.1.1 Situation dans les Pyrénées-Atlantiques chez les ovins. 69
II.2.1.2 Situation en Savoie et Haute-Savoie chez les caprins. 70
II.2.2 Mesures de prophylaxie dans les autres départements : 71
III- Comment pourrait-on objectiver le statut d'un cheptel caprin vis-à-vis de l'Agalactie Contagieuse ? 72
III.1 Avec quels outils analytiques ? 72
III.2 Quels sont les échantillons biologiques les mieux adaptés ? 72
III.3 Avec quelle fréquence de prélèvement ? 74

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

I- Objectifs : 77
II- Matériel : 77
II.1 Zone géographique et durée de l'étude : 77
II.2 Sélection des élevages mis en suivi dans la population cible : 78
II.2.1 1ère étape – sélection des élevages ayant présenté un épisode clinique récent de mycoplasmose : 78
II.2.2 2ème étape – sélection des élevages dont l'échantillon de lait de tank est positif : 79
II.3 Les prélèvements : 80
III- Méthodes : 81
III.1 Protocole de suivi des élevages : 81
III.2 Analyse des échantillons de lait de tank : 81
III.2.1 Traitement des laits de tank : 81
III.2.2 Mise en culture des échantillons de lait de tank : 83
III.2.3 PCR en temps réel (Q-PCR) : 84
III.2.4 Isolement et identification des mycoplasmes : 84
IV- Résultats : 85
IV.1 Intervalle moyen entre les prélèvements : 85
IV.2 Nombre de traites dans le tank au moment du prélèvement : 85
IV.3 Résultats des analyses par Q-PCR réalisées directement sur lait de tank : 85
IV.4 Variations d'excrétion des mycoplasmes : 86
IV.4.1 Elevages « négatifs » : 87

IV.4.2 Elevages « positifs » : 87
IV.4.3 Elevages présentant des variations ponctuelles d'excrétion : 87
IV.4.4 Elevages alternant des périodes d'excrétion et des périodes de non-excrétion : 88
IV.5 Excrétion des mycoplasmes et taux cellulaire du tank : 89
IV.6 Influence des paramètres de conduite d'élevage : 90
IV.7 Validation du support buvard FTA® Elute : 91
V- Discussion : 93

Conclusion 97
Bibliographie 98
Annexes 108

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Fiche descriptive élevage 109

Annexe 2 : Fiche de suivi d'élevage 111

Annexe 3 : Milieu OXOID Mycoplasmes 113

Annexe 4 : Supplément G pour milieu OXOID Mycoplasmes 115

Annexe 5 : Protocole d'extraction de l'ADN FTA Elute 116

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Conséquences pratiques liées à l'absence de paroi bactérienne chez les mycoplasmes 19

Figure 2 : Photographies de *Mycoplasma agalactiae* 20

Figure 3 : Arbre phylogénique de la classe des *Mollicutes* comprenant les espèces pour lesquelles au moins une séquence du génome est disponible 26

Figure 4 : Répartition mondiale de l'Agalactie Contagieuse (données de 1996) 28

Figure 5 : Voies d'excrétion (en rouge) et voies de pénétration (en bleu) des mycoplasmes 33

Figure 6 : Modalités de transmission de l'Agalactie Contagieuse 36

Figure 7 : Mammites chez des chèvres en lactation 41

Figure 8 : a) Lait issu de mammite à *Mp* ; b) Lait issu de mammite à *Ma* 41

Figure 9 : a) Arthrite ; b) et c) Arthrites déformantes 42

Figure 10 : Polyarthrite, amaigrissement, atrophie mammaire et mortalité dus à *Mmc* chez une chèvre 42

Figure 11 : Kératoconjonctivites ovines à *Ma* : principaux stades lésionnels successifs 44

Figure 12 : Lésions de bronchopneumonie chez un chevreau (*Mmc*) 45

Figure 13 : Lésions de pleuropneumonie chez une chèvre (*Mmc*) 45

Figure 14 : Répartition des isolats mycoplasmiques reçus pour identification, par département de prélèvement et selon la densité de l'élevage 65

Figure 15 : Incidence et prévalence de l'Agalactie Contagieuse chez les ovins dans les Pyrénées-Atlantiques 70

Figure 16 : Prévalence de l'Agalactie Contagieuse chez les caprins en Savoie et Haute-Savoie 71

Figure 17 : Résultats de l'enquête réalisée entre 2007 et 2008 dans le cadre d'un projet transversal entre l'ANSES Niort et l'ANSES Lyon 73

Figure 18 : Détail de la zone de collecte au sein des régions Poitou-Charentes et Pays de la Loire 78

Figure 19 : Buvard FTA® Elute 82

Figure 20 : Résumé du protocole de traitement des laits de tank 83

Figure 21 : Courbes d'excrétion des mycoplasmes obtenues pour les élevages A et B 88

Figure 22 : Courbes d'excrétion des mycoplasmes obtenues pour les élevages D et E 89

TABLE DES TABLEAUX

Tableau I : Ordres, Familles et Genres composant la Classe des *Mollicutes* 22

Tableau II : Espèces mycoplasmiques, pathogènes et non pathogènes, isolées chez les caprins 23

Tableau III : Cas d'Agalactie Contagieuse des petits ruminants déclarés entre 1996 et 2004 dans les pays méditerranéens 29

Tableau IV : Signes cliniques de l'Agalactie Contagieuse chez les caprins 39

Tableau V : Protocoles et résultats publiés de traitements contre l'Agalactie Contagieuse chez les caprins 56

Tableau VI : Différents symptômes associés à l'isolement de mycoplasmes chez des caprins au cours de l'année 2013 66

Tableau VII : Résultats des identifications de mycoplasmes en 2013 67

Tableau VIII : Résultats des analyses par PCR des 10 laits de tank positifs correspondant aux 10 élevages « positifs » inclus dans l'étude 79

Tableau IX : Caractéristiques des 10 élevages caprins laitiers inclus dans l'étude 80

Tableau X : Résultats des analyses par PCR sur lait de tank des 10 élevages en suivi 86

Tableau XI : Résultats des comparaisons de fréquences réalisées avec le logiciel R 91

TABLE DES ABREVIATIONS

ADILVA : Association des directeurs et cadres des laboratoires vétérinaires d'analyses

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMM : Autorisation de mise sur le marché

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ARN : Acide ribonucléique

CMI : Concentrations minimales inhibitrices

CO_2 : Dioxyde de carbone

DDH : DNA-DNA hybridization

DGAL : Direction générale de l'alimentation

DGGE : Denaturing gradient gel electrophoresis

ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay

FNGDS : Fédération nationale des groupements de défense sanitaire

G + C : Guanine + Cytosine

GDS : Groupements de défense sanitaire

IgG : Immunoglobulines G

INRA : Institut national de la recherche agricole

kpb : Kilo-paire de bases

LASAT : Laboratoire d'analyses Sèvres Atlantique

M. : *Mycoplasma*

MAKePS : Mammite, Arthrite, Kératite, Pneumonie et Septicémie

MALDI-TOF : Matrix-assisted laser desorption ionization - time of flight

Ma : *Mycoplasma agalactiae*

Mcc : *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum*

MF Dot : Dot immunobinding on membrane filtration

Mmc : *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*

Mp : *Mycoplasma putrefaciens*

µm : Micromètre

mm : Millimètre

OIE : Organisation mondiale de la santé animale (Office International des Epizooties)

OMACAP : Observatoire régional des maladies caprines

PCR : Polymerase chain reaction

RAPD : Random amplified polymorphic DNA

QPCR : Real-Time quantitative PCR

SNGTV : Société nationale des groupements techniques vétérinaires

sp. : Species (espèce)

subsp. : Subspecies (sous-espèce)

UI : Unité internationale

UMR : Unité mixte de recherche

UV : Ultraviolets

VIGIMYC : Vigilance des mycoplasmoses des ruminants

INTRODUCTION

Le Syndrome Agalactie Contagieuse représente l'une des dominantes pathologiques majeures en élevage caprin. Il est à l'origine de pertes économiques importantes pouvant parfois compromettre l'avenir d'une exploitation. Quatre espèces de mycoplasmes sont responsables de ce syndrome : *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*, *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* et *Mycoplasma putrefaciens*. Souvent introduit dans un troupeau à la suite d'achats, ce syndrome mycoplasmique se caractérise généralement par des symptômes mammaires, articulaires, pulmonaires ou oculaires diversement associés au sein d'un troupeau ou chez un même animal. L'existence de porteurs asymptomatiques représente un risque de dissémination de la maladie voire de résurgence après un premier épisode clinique.

En France, il n'existe actuellement aucune mesure de contrôle, volontaire ou obligatoire, du statut sanitaire des cheptels caprins vis-à-vis des infections à mycoplasmes. Seuls les Pyrénées-Atlantiques et les Savoies appliquent, pour l'Agalactie Contagieuse à *Mycoplasma agalactiae*, des mesures de contrôle et de surveillance coordonnées localement.

En l'absence de mesures de contrôle à l'introduction dans un cheptel, la problématique des mouvements d'animaux apparaît donc comme un point central de la lutte contre l'Agalactie Contagieuse caprine. Dans la mesure où il n'est pas envisageable économiquement de tester individuellement chaque animal entrant dans un cheptel, il conviendrait d'agir à l'échelle des troupeaux afin de mieux sécuriser les échanges. Pour cela, il faudrait pouvoir disposer d'une méthode standardisée et fiable permettant d'avoir une première approche du statut sanitaire des troupeaux vis-à-vis de ces infections à mycoplasmes, hors épisode clinique, et permettant d'identifier les troupeaux comme étant « à risque élevé » ou « à risque faible ». Ce sera l'objet de notre travail expérimental.

La première partie de ce document sera consacrée à l'étude bibliographique du Syndrome Agalactie Contagieuse : caractéristiques cliniques et épidémiologiques, mesures de contrôle et situation épidémiologique sur le territoire français.

La seconde partie sera consacrée au travail expérimental dont l'objectif est, sur la base d'un suivi mensuel des laits de tank d'une dizaine d'élevages caprins, de tenter de définir un protocole d'évaluation de l'état sanitaire des troupeaux. Ce protocole devra permettre, sur un prélèvement facile à obtenir comme le lait de tank, de pouvoir suivre en continu et de manière fiable, l'excrétion mammaire d'un cheptel infecté tout au long de sa lactation.

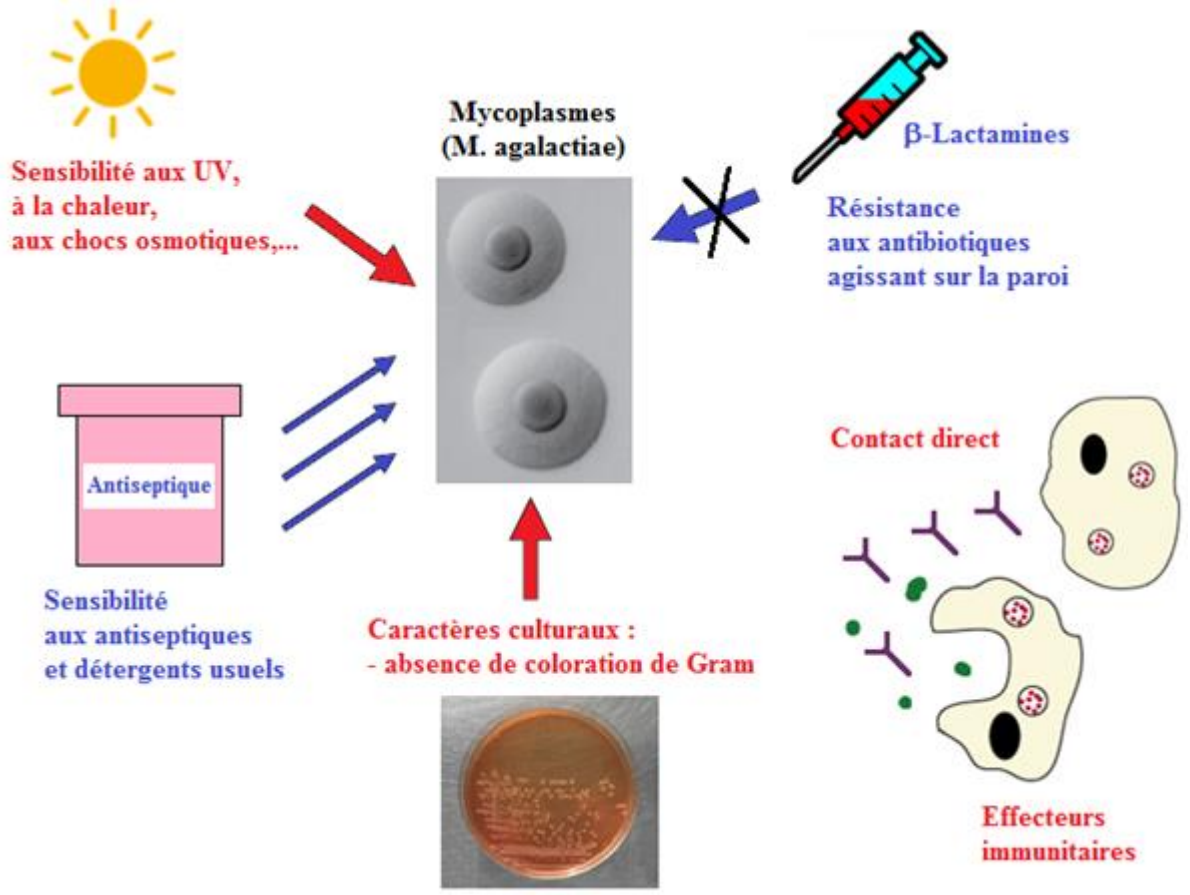
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Que sont les mycoplasmes ?

On regroupe classiquement sous le terme de « mycoplasmose » toute pathologie dont l'agent étiologique est un « mycoplasme ». Ce terme générique de « mycoplasme » est couramment utilisé pour désigner les bactéries de la classe des *Mollicutes* [23, 25].

Les mycoplasmes constituent les plus petits microorganismes vivants capables de se multiplier de façon autonome, c'est-à-dire sur des milieux inertes, sans avoir besoin d'utiliser le métabolisme d'une cellule hôte, à la différence des rickettsies et des chlamydies [9, 13, 25, 27, 115]. Ils se distinguent également des autres procaryotes par :

- L'absence de paroi bactérienne (*Mollicutes* signifiant en latin « organismes à peau molle »), conséquence de leur incapacité à synthétiser le peptidoglycane [27]. Cette particularité structurale leur confère un certain polymorphisme, la capacité de se déformer et une résistance naturelle aux antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne comme les bêta-lactamines [13, 15, 25, 27, 72]. Cependant, ils sont sensibles aux chocs osmotiques, aux rayons ultraviolets et à la chaleur, ainsi qu'aux antiseptiques et détergents usuels [15, 27, 72]. L'absence de paroi bactérienne est également à l'origine d'une absence de coloration de Gram et d'un contact direct avec les effecteurs de l'immunité lors de l'infection d'un organisme [15]. Toutes les conséquences pratiques liées à l'absence de paroi bactérienne chez les mycoplasmes sont résumées dans la **figure 1**.

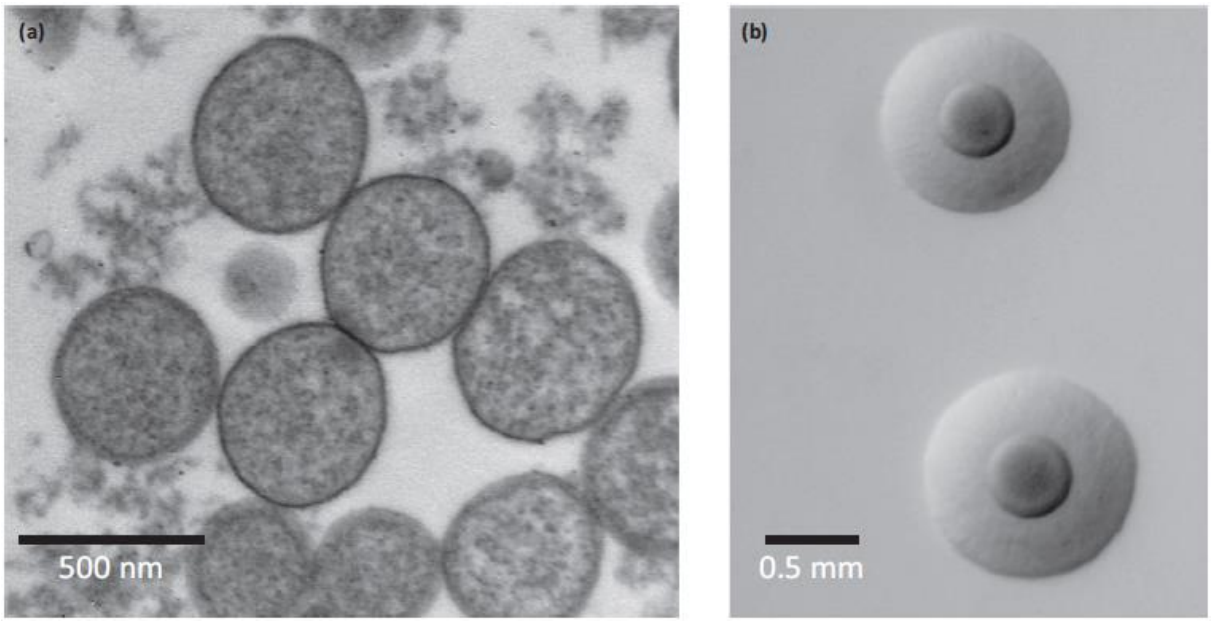


<u>Figure 1</u> : Conséquences pratiques liées à l'absence de paroi bactérienne chez les mycoplasmes [15]**.**

- Leur taille très réduite (0,3 µm à 0,85 µm) (**figure 2**) [127] qui, associée à leur capacité à se déformer, leur permet de traverser des filtres biologiques de porosité 0,45 µm contrairement aux bactéries classiques [27].

- Leur génome réduit (580 à 2200 kpb) [9] et à faible teneur en guanine (G) et cytosine (C) (de 23 à 40 %) [127]. En outre, le codon UGA (codon « stop » dans le code génétique universel) est lu comme un codon tryptophane [58, 127, 133]. A l'heure actuelle, les génomes de plusieurs espèces de mycoplasmes ont été séquencés, comme c'est le cas pour *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*, *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* et *Mycoplasma putrefaciens* [35, 75, 115]. Ces génomes sont regroupés et stockés sous format informatique dans plusieurs bases de données dont la base « MolliGen » [9].

- Leur capacité de biosynthèse qui est limitée [25, 27]. Ils sont stérols-dépendants (excepté les genres *Mesoplasma*, *Acholeplasma* et *Asteroleplasma*) [127] et se cultivent sur des milieux de composition complexe [13, 25], en donnant de petites colonies de 0,1 à 1 mm de diamètre à centre incrusté dans la gélose ayant un aspect typique en « œufs sur le plat » (excepté pour *Mycoplasma ovipneumoniae* [84]) (**figure 2b**) [25, 27, 127].



<u>Figure 2</u> : Photographies de *Mycoplasma agalactiae* [25]**.**

(a) Photographie de *Mycoplasma agalactiae* au microscope à transmission.
(b) Colonies de *Mycoplasma agalactiae* sur milieu de culture spécifique : aspect typique en « œuf sur le plat » après plusieurs jours de culture.

L'analyse des séquences du gène hautement conservé codant pour l'ARN de la sous-unité 16S du ribosome est actuellement la méthode de base pour déterminer les liens phylogéniques entre les différentes bactéries [61, 73, 130, 131]. Elle indique que les *Mollicutes* résulteraient de l'évolution dégénérative de bactéries Gram positif à génome à faible teneur en G + C [9, 25]. Les *Mollicutes* sont phylogénétiquement très proches du sous-groupe *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus* et d'un petit sous-groupe de clostridies représenté par *Clostridium innocuum* et *Clostridium ramosum* [61, 131].

La taxonomie actuelle, révisée par Tully et al. (1993), place les mycoplasmes dans le règne des Procaryotes, division III des *Ténéricutes* (organismes à « peau tendre »). Cette

division ne comprend qu'une seule classe, les *Mollicutes*, subdivisée en cinq ordres et six familles (**tableau I**) [43, 61]. Le premier mycoplasme fut isolé par Nocard et Roux en 1898. Il s'agissait de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype Small Colony, l'agent de la Péripneumonie Contagieuse Bovine [87].

Actuellement, plus de deux cent espèces ont été répertoriées chez l'homme, les animaux, les insectes et les plantes chez lesquels ils sont parasites, saprophytes ou commensaux [9, 23, 124].

<u>Tableau I</u> : Ordres, Familles et Genres composant la Classe des *Mollicutes* [5, 43, 61]**.**

Ordre [a]	Famille(s)	Genre(s)	Nombre d'espèces	Hôtes
Mycoplasmatales	*Mycoplasmataceae*	***Mycoplasma***	124 (4)	Animaux, Homme
		Ureaplasma	7	Animaux, Homme
		Eperythrozoon	5	Animaux, Homme
		Haemobartonella	3	Animaux, Homme
Haloplasmatales	*Haloplasmataceae*	***Haloplasma***	1	? (Mer Rouge)
Entomoplasmatales	*Entomoplasmataceae*	***Entomoplasma***	6	Insectes, Plantes
		Mesoplasma	12	Insectes, Plantes
	Spiroplasmataceae	***Spiroplasma***	38	Insectes, Plantes
Acholeplasmatales	*Acholeplasmataceae*	***Acholeplasma***	18	Animaux, Plantes
		« Phytoplasma » [b]	(6)	Insectes, Plantes
Anaeroplasmatales	*Anaeroplasmataceae*	***Anaeroplasma***	4	Bovins, Ovins
		Asteroleplasma	1	Bovins, Ovins

[a] : Un sixième ordre incluant la famille d'affiliation incertaine des *Erysipelothrichaceae* est parfois inclus dans la classe des *Mollicutes* comme *Order incertae sedis*.

[b] : Genre de taxonomie incertaine car composé d'espèces non cultivables *in vitro*. Phylogénétiquement proches des acholeplasmes, ils sont donc provisoirement classés dans la famille des *Acholeplasmataceae*.

Quelles sont les espèces isolées chez les caprins ?

A ce jour, une quarantaine d'espèces mycoplasmiques affectant les ruminants domestiques (bovins, ovins et caprins) ont été identifiées [23]. Parmi ces espèces, celles isolées chez les caprins (pathogènes et non pathogènes) sont répertoriées dans le **tableau II**.

Tableau II : Espèces mycoplasmiques, pathogènes et non pathogènes, isolées chez les caprins [50, 86]**.**

Espèces mycoplasmiques	**Hôtes**	**Pathologie associée / pouvoir pathogène**
Mycoplasma agalactiae	Ovins / Caprins	Agalactie Contagieuse
Mycoplasma mycoides subsp. *capri*	Caprins / Ovins	Agalactie Contagieuse
Mycoplasma capricolum subsp. *capricolum*	Caprins	Agalactie Contagieuse
Mycoplasma putrefaciens	Caprins	Agalactie Contagieuse
Mycoplasma capricolum subsp. *capripneumoniae*	Caprins	Pleuropneumonie Contagieuse Caprine
Mycoplasma ovipneumoniae	Ovins / Caprins	Pneumonie
Mycoplasma conjunctivae	Ovins / Caprins	Kératoconjonctivite infectieuse
Mycoplasma arginini	Ovins / Caprins	Pathogène opportuniste
Mycoplasma cottewii	Caprins / Ovins	Portage auriculaire (commensal ?)
Mycoplasma yeatsii	Caprins / Ovins	Portage auriculaire (commensal ?)
Mycoplasma auris	Caprins	Portage auriculaire (commensal ?)

Chez les caprins, cinq espèces majeures de mycoplasmes sont à l'origine des deux plus importantes mycoplasmoses affectant les petits ruminants : *Mycoplasma capricolum capripneumoniae* responsable de la **Pleuropneumonie Contagieuse Caprine** et *Mycoplasma agalactiae* (*Ma*), *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (*Mmc*), *Mycoplasma putrefaciens* (*Mp*) et *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* (*Mcc*) responsables du **Syndrome Agalactie Contagieuse** des petits ruminants [23, 50, 86].

I- Généralités sur l'Agalactie Contagieuse ou Syndrome Agalactie Contagieuse des petits ruminants :

I.1 Définition et importance :

L'Agalactie Contagieuse des petits ruminants est connue depuis environ deux siècles en Europe. En effet, d'après Zavagli (1951), les signes cliniques de cette pathologie ont été décrits pour la première fois en Italie par Metaxa en 1816 et ils ont été regroupés sous la dénomination d'« Agalactie Contagieuse » par Brusasco en 1871 [67, 72]. Ce syndrome mycoplasmique infectieux et contagieux des petits ruminants est dû à l'un ou plusieurs des quatre agents suivants : *Ma*, *Mmc*, *Mp* et *Mcc* [23, 50, 86]. Chez les adultes, l'atteinte clinique est dominée par des signes mammaires et/ou respiratoires et/ou articulaires et/ou oculaires [15, 50, 72] ; et chez le jeune, par des signes d'arthrites et/ou de pleuropneumonie voire de septicémie [12, 52, 123]. Ces nombreux signes cliniques sont parfois regroupés sous la dénomination de « syndrome MAKePS » pour Mammite, Arthrite, Kératite, Pneumonie et Septicémie [123].

L'Agalactie Contagieuse constitue, chez les petits ruminants, la mycoplasmose la plus fréquente et la plus grave en Europe, touchant particulièrement les pays méditerranéens [15, 23, 50]. La morbidité peut atteindre 50% chez les ovins, 90% chez les caprins adultes en lactation et 98% chez les jeunes caprins. Si la mortalité, chez les caprins, est moins sévère avec *Ma* (jusqu'à 40% chez les adultes et jusqu'à 50% chez les jeunes), avec *Mmc* et *Mcc*, elle peut atteindre plus de 90% chez les jeunes et jusqu'à 50% chez les adultes [16]. Ainsi, l'importance de l'Agalactie Contagieuse est médicale et économique à cause des pertes qu'elle occasionne dans les élevages d'ovins et caprins laitiers : réduction voire arrêt complet de la production de lait, taux de mortalité importants lors d'épisodes sévères, réformes, avortements, coûts des traitements,… [50, 72, 78]. Il a été estimé que les pertes financières s'élèvent à plus de trente millions de dollars par an dans les pays méditerranéens [86]. Compte tenu de son impact économique majeur, l'Agalactie Contagieuse fait partie des maladies de la liste de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE) et donne donc lieu à des mesures internationales de contrôle [23, 64, 86, 88].

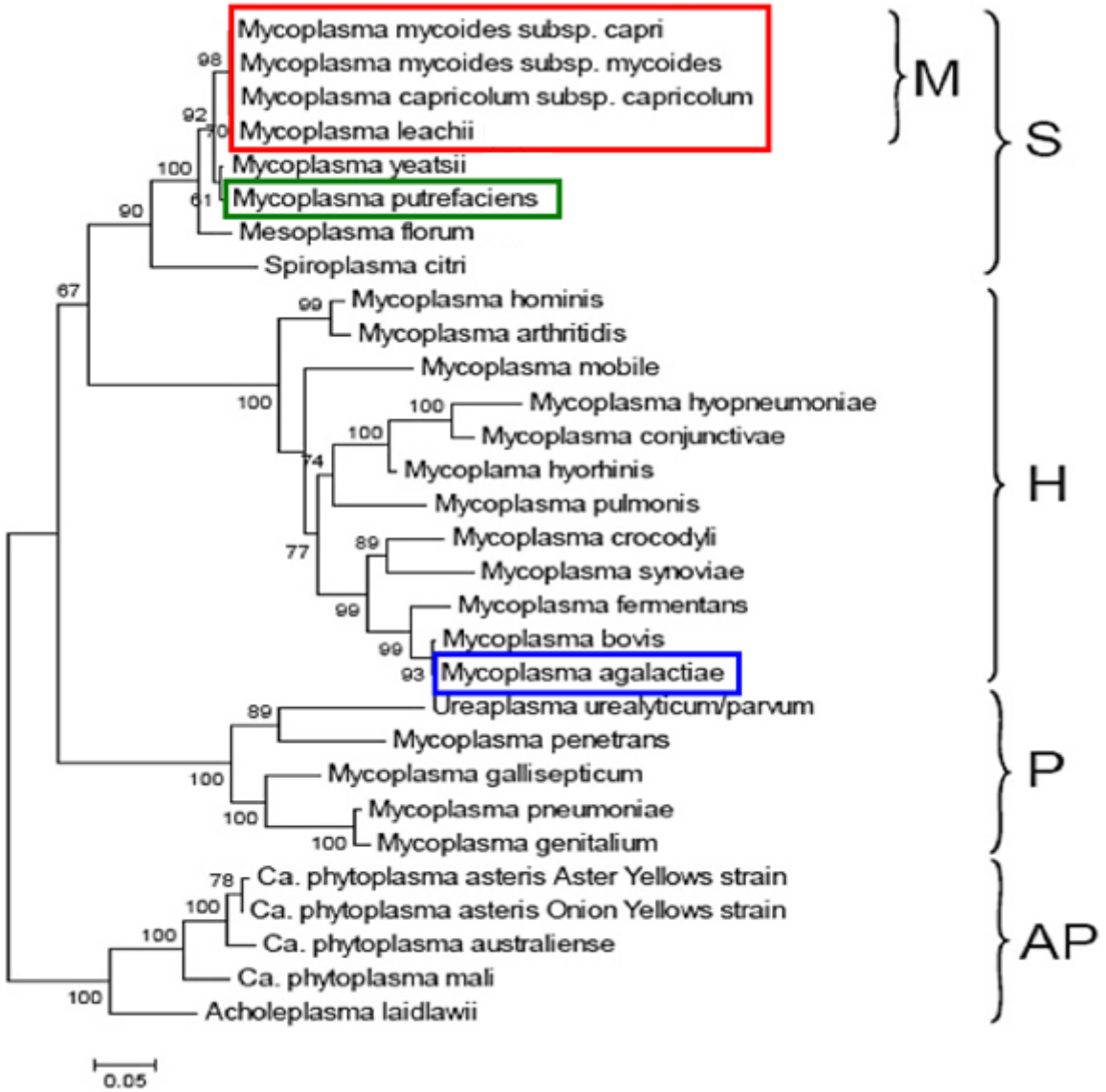
I.2 Espèces de mycoplasmes impliquées dans le Syndrome Agalactie Contagieuse :

Le premier agent historiquement décrit, isolé par Bridre et Donatien en 1923, et longtemps considéré comme le seul, a été *Ma* [15, 64, 72]. Dans les années 1970 et 1980, l'implication de trois nouvelles espèces dans des épisodes cliniques d'Agalactie Contagieuse a été établie : *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype Large Colony (*MmmLC*), *Mmc* et *Mcc* [15]. L'implication de *Mp* dans des foyers cliniquement similaires a été démontrée plus tardivement [15, 30, 33].

Sur la base d'importantes homologies géniques et protéiques, *Mmc* et *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype Large Colony ont été récemment regroupés dans un même taxon sous la dénomination commune de *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* [73, 114, 130].

I.2.1 Classification et arbre phylogénique :

L'analyse des séquences du gène hautement conservé codant pour l'ARN de la sous-unité 16S du ribosome a permis la construction d'un arbre phylogénique et la répartition des espèces de mycoplasmes en différents groupes phylogéniques (**figure 3**).



<u>Figure 3</u> : Arbre phylogénique de la classe des *Mollicutes* comprenant les espèces pour lesquelles au moins une séquence du génome est disponible [20]**.**

Cet arbre phylogénique a été construit à partir de l'Acide DésoxyriboNucléique (ADN) ribosomal 16S en utilisant la méthode du maximum de ressemblance à partir du modèle de Tamura-Nei. La longueur des branches représente le nombre de substitutions par site. Les différents groupes phylogénétiques des *Mollicutes* sont indiqués par les lettres à droite sur la figure : S, *Spiroplasma* ; H, *Hominis* ; P, *Pneumoniae* ; AP, *Acholeplasma-Phytoplasma* ; M, *Mycoplasma mycoides* cluster.

Cependant, cette technique ne s'est pas montrée suffisante pour distinguer les espèces au sein du groupe « mycoides » [74] et d'autres techniques ont donc dû être utilisées : l'amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) [114], l'hybridation ADN-ADN (DDH : DNA-DNA hybridization) [124] et l'analyse de séquences provenant de cinq gènes hautement conservés (fusA, glpQ, gyrB, lepA et rpoB) [74, 130].

Les quatre agents impliqués dans le Syndrome Agalactie Contagieuse ne sont pas tous phylogéniquement proches. *Ma* (**figure 3**, encadré bleu) représente l'espèce phylogéniquement la plus éloignée du groupe « mycoides » (**figure 3**, encadré rouge), auquel appartiennent *Mmc* et *Mcc*. *Mp* (**figure 3**, encadré vert) est par contre phylogéniquement plus proche du groupe « mycoides » [20, 50].

Une étude menée en 2007 révèle que des transferts horizontaux de gènes ont eu lieu entre *Ma* et le groupe « mycoides » ; ils auraient ainsi en commun environ 18% de leurs génomes [115].

I.2.2 Répartition des espèces de mycoplasmes responsables du Syndrome Agalactie Contagieuse chez les petits ruminants :

Chez les ovins, *Ma* est le principal agent responsable du Syndrome Agalactie Contagieuse [13, 120]. Bien que plus rarement impliqué, *Mmc* peut également affecter les ovins [23, 50]. Chez les caprins, les agents les plus fréquemment impliqués sont, par ordre décroissant, *Mmc*, *Mcc* et *Mp*; *Ma* étant plus sporadique [23, 50].

Par ailleurs, les associations de plusieurs espèces de mycoplasmes ne sont pas rares et il est donc possible d'isoler deux agents ou plus dans un même troupeau caprin, voire chez une même chèvre [15, 45, 50, 78].

I.3 Epidémiologie descriptive :

I.3.1 Répartition géographique de l'Agalactie Contagieuse :

De distribution mondiale, l'Agalactie Contagieuse est présente dans au moins cinquante-cinq pays répartis sur les cinq continents (**figure 4**) [16]. Le bassin méditerranéen, au sens large, correspond à la zone géographique où la maladie est la mieux décrite et la plus anciennement implantée (description de l'Agalactie Contagieuse par Brusasco en 1871), et où elle est considérée comme endémique (**tableau III**) [8, 16, 17, 27].

La prévalence des différentes espèces de mycoplasmes responsables de l'Agalactie Contagieuse varie selon la zone géographique concernée [8]. Aux Etats-Unis, *Mmc* est le plus fréquent chez les caprins alors que *Ma* n'est décrit que depuis 1994 [8, 62, 116]. Dans le nord de la Jordanie, *Ma* et *Mmc* jouent un rôle majeur, tant chez les ovins que chez les caprins [81, 82]. En Espagne, *Ma* est le plus fréquent chez les ovins et on retrouve *Ma* et *Mmc* chez les caprins [8, 45, 50].

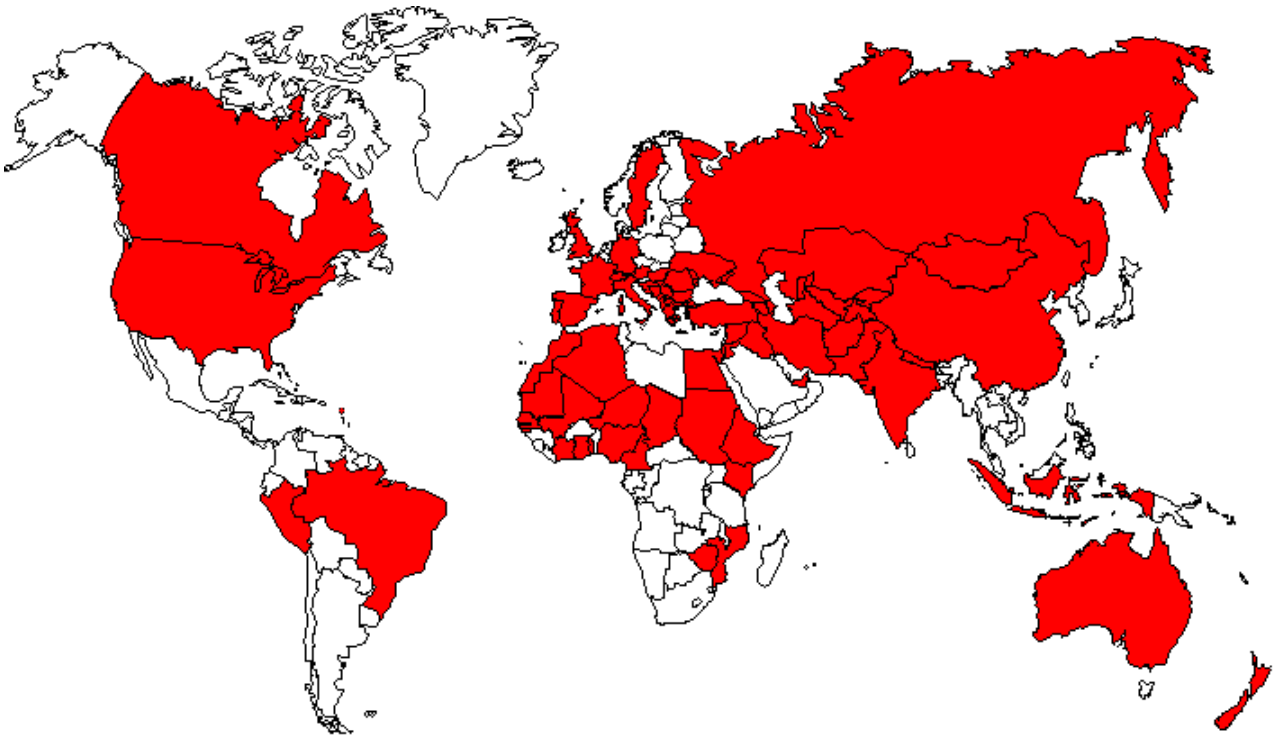


Figure 4 : Répartition mondiale de l'Agalactie Contagieuse (données de 1996) [16].

<u>Tableau III</u> : Cas d'Agalactie Contagieuse des petits ruminants déclarés entre 1996 et 2004 dans les pays méditerranéens [27].

Country	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Albania	+()	+	+	+	+				
Algeria	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Bosnia and Herzegovina	0					–		–	
Bulgaria	+	+	+	+	+	2000	2000	2000	2000
Croatia	+	?	?	–	–	–		–	
Cyprus	0	0	0	0	0	0	0	0	
Egypt	0	0	0	0	0	0	0	0	
Form. Yug. Rep. Macedonia	...	–		0	0	+	+	+	+
France	+	+	+()	+()	+()	+()	+()	+()	
Georgia	...				1965	1965	1965	1965	1965
Greece	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Israel	+	+()	+()	+()	+()	+()	+()	+()	
Italy	+	+	+	+	+	+	+	+	2003
Jordan	0	0	0	0	0	0	0	0	
Lebanon	+	+	+()	+()	1999	1999	1999	1999	
Libya		–	–	–	–	–	–	–	
Malta	–	1988	1988	1988		1988	1988	1988	
Moldavia	1995	+()	1997	1997	1997	1997	1997	1997	
Morocco	–	–	–	–	–		...	...	...
Palestinian Auton. Territories								+	+
Portugal	+	+	+	1998	1998	1998	1998	1998	1998
Romania	+()	+()	+()	+()	+()	+()	+()	+()	
Russia	–	–	–						
Serbia and Montenegro	...						...	...	
Syria				–	–	–	–	–	–
Slovenia	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Spain	+	+	+	+	+	+	+	+	
Tunisia	+	1996	1996	1996	1996	1996	1996	1996	1996
Turkey	+	1996	1996	1996	1996	1996	1996	1996	1996
Ukraine	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 : pathologie jamais rapportée ; − : pathologie non rapportée (date du dernier épisode non connue) ; année : date de la dernière apparition de la pathologie ; ? : pathologie suspectée mais non confirmée ; + : pathologie présente ; () : pathologie limitée à certaines zones ; … : aucune information disponible.

I.3.2 Evolution de l'Agalactie Contagieuse dans un troupeau atteint :

L'incidence de l'Agalactie Contagieuse au sein d'un troupeau infecté peut revêtir différentes formes : de l'apparition soudaine sous la forme d'une « explosion » clinique [46] à l'atteinte successive d'un nombre restreint d'animaux [118] [12, 27]. L'infection par *Ma*, dans une zone où une enzootie est installée de longue date, se caractérise souvent par l'apparition régulière de nouveaux cas échelonnés dans le temps. L'évolution de la prévalence de l'Agalactie Contagieuse dans un troupeau est majoritairement conditionnée par le stade physiologique des femelles et les mouvements d'animaux, notamment ceux liés à la transhumance [12]. Ainsi, la prévalence clinique est maximale au cours de trois périodes :

autour des mises-bas (mères et jeunes), en début de lactation et durant la transhumance estivale (surtout chez les ovins) [12, 27].

Si aucune mesure radicale de contrôle n'est instaurée, la persistance clinique de l'Agalactie Contagieuse dans un troupeau est souvent de plusieurs semaines voire plusieurs mois [30, 46, 111] avec de possibles récurrences lors des lactations suivantes [12, 27]. Dans un même troupeau et d'une année sur l'autre, le tableau clinique des animaux infectés par *Mmc* ou *Mcc* peut être modifié compte tenu d'un tropisme variable des organes affectés ; par exemple avec le passage d'une forme mammaire à une forme respiratoire. En revanche, avec *Ma* en zone d'enzootie et durant les années suivant l'épisode aigu, on observe plutôt une atteinte clinique des agneaux et des primipares ; l'infection étant alors confinée à la mamelle chez les adultes [12]. La persistance sérologique de l'Agalactie Contagieuse dans un troupeau peut être très longue, comme l'indique une étude menée entre 1984 et 1992 dans les Pyrénées-Atlantiques françaises sur cent quarante-six troupeaux atteints cliniquement par *Ma* : la négativation de l'indice sérologique du troupeau, associée à la disparition des symptômes, n'a été obtenue en moyenne que cinq ans après l'épisode clinique initial [12, 111]. La persistance microbiologique de l'Agalactie Contagieuse peut également être très forte, comme le montre une étude menée en 1995 sur cent quinze troupeaux anciennement atteints par *Ma* : il a été possible d'isoler *Ma* dans douze troupeaux dont l'ancienneté de l'épisode clinique initial était comprise entre un et huit ans [12, 110, 111].

I.4 Epidémiologie analytique :

I.4.1 Sources de contamination :

I.4.1.1 Voies d'excrétion en phase clinique et matières virulentes.

La bactériémie, qui précède généralement la phase d'état de la maladie, est à l'origine d'une excrétion abondante et diversifiée lors de la phase clinique : lait, larmes, sécrétions respiratoires et génitales, fèces, urine,… [14, 17, 78]. Chez les femelles, la voie d'excrétion majeure des mycoplasmes est la voie galactophore [15, 17]. L'excrétion dans le lait débute

avant les signes cliniques puis elle augmente pendant la première semaine et diminue ensuite progressivement [22, 111], bien qu'elle puisse perdurer pendant plusieurs mois voire plusieurs années à l'échelle du troupeau [15, 17]. Cependant, deux études récentes menées chez les ovins [8] et chez les caprins [3] indiquent que l'excrétion des mycoplasmes dans le lait est intermittente. D'autres voies d'excrétion sont également décrites ou suspectées : les sécrétions respiratoires [55, 110], le liquide lacrymal [55, 78, 110], les fèces [55, 118], l'urine [30, 78], les sécrétions génitales femelles (surtout lors d'avortements) [30, 55] et les sécrétions génitales mâles (sperme) [55]. Les principales voies d'excrétion des mycoplasmes sont résumées dans la **figure 5** (en rouge).

I.4.1.2 Sites de portage asymptomatique.

Le portage asymptomatique de mycoplasmes chez les caprins a été rapporté pour la première fois en 1981 par Cottew et Yeats et concerne les conduits auditifs externes. Ce portage auriculaire n'a pas été mis en évidence chez les ovins mais il a récemment été observé chez les bovins [112]. Les espèces de mycoplasmes les plus fréquemment isolées des conduits auditifs externes de caprins sains sont : *Mmc*, *Ma*, *Mcc* et *Mp* (espèces pathogènes de l'Agalactie Contagieuse) et *Mycoplasma yeatsii*, *Mycoplasma cottewii* et *Mycoplasma auris* (espèces au pouvoir pathogène non défini) [32, 79]. Une étude menée par Mercier et al. (2007) indique que, sans tenir compte de l'historique des troupeaux vis-à-vis d'un épisode de mycoplasmose, *Mmc* est l'espèce prépondérante (37%), suivie par *Mp* (3,7%), *Mcc* (3,3%) et enfin *Ma* (1,3%) ; mais aussi que les associations de deux ou trois mycoplasmes sont fréquentes (20% des cas). Dans cette même étude, il est montré que la proportion d'animaux hébergeant des mycoplasmes pathogènes de l'Agalactie Contagieuse (*Ma*, *Mmc*, *Mcc* et *Mp*) dans leurs conduits auditifs externes est significativement plus importante dans les troupeaux « avec un historique d'infection mycoplasmique » que dans les troupeaux « sans historique d'infection mycoplasmique » [79]. Par ailleurs, deux études espagnoles récentes indiquent la présence de boucs porteurs auriculaires asymptomatiques de mycoplasmes (*Ma*, *Mmc* et *Mcc*) dans des centres d'insémination [2, 51].

Plusieurs hypothèses ont été évoquées pour expliquer la localisation des mycoplasmes dans les conduits auditifs externes : l'intervention de vecteurs acariens hématophages (principalement *Raillietia caprae*) [29, 34, 59], l'extension d'une infection issue de l'oreille

moyenne lors de lésions de la membrane tympanique [29], l'extension d'une infection respiratoire via la trompe auditive [49] ou encore suite à une bactériémie [12, 34]. Par ailleurs, la réponse immunitaire de l'hôte semble incapable de prévenir la colonisation des conduits auditifs externes par les mycoplasmes [12, 41] et de nombreux caprins porteurs auriculaires de *Ma* et *Mmc* sont séronégatifs [39, 49].

Le rôle épidémiologique de ce portage auriculaire, en termes de risques de réapparition ou d'introduction de la maladie dans un troupeau, n'est pas clairement établi mais certains auteurs le suspectent fortement [27, 47, 79]. D'après une étude récente menée par Tardy et al. (2011), les analyses moléculaires ne permettent pas pour le moment de distinguer les souches virulentes (de foyers) de celles issues de portage, et expérimentalement, les deux types de souches s'avèrent pathogènes bien qu'à des degrés différents [119].

Enfin, une étude menée par Gómez-Martín et al. (2012), sur la recherche de *Ma* et *Mmc* dans d'autres sites anatomiques chez des caprins mâles porteurs auriculaires sains, révèle la présence de mycoplasmes dans de nombreux autres sites : articulations, nœuds lymphatiques, tractus respiratoire, cœur, système nerveux et tractus uro-génital [49]. *Ma* et *Mmc* ont également été isolés de semences de boucs [40, 51].

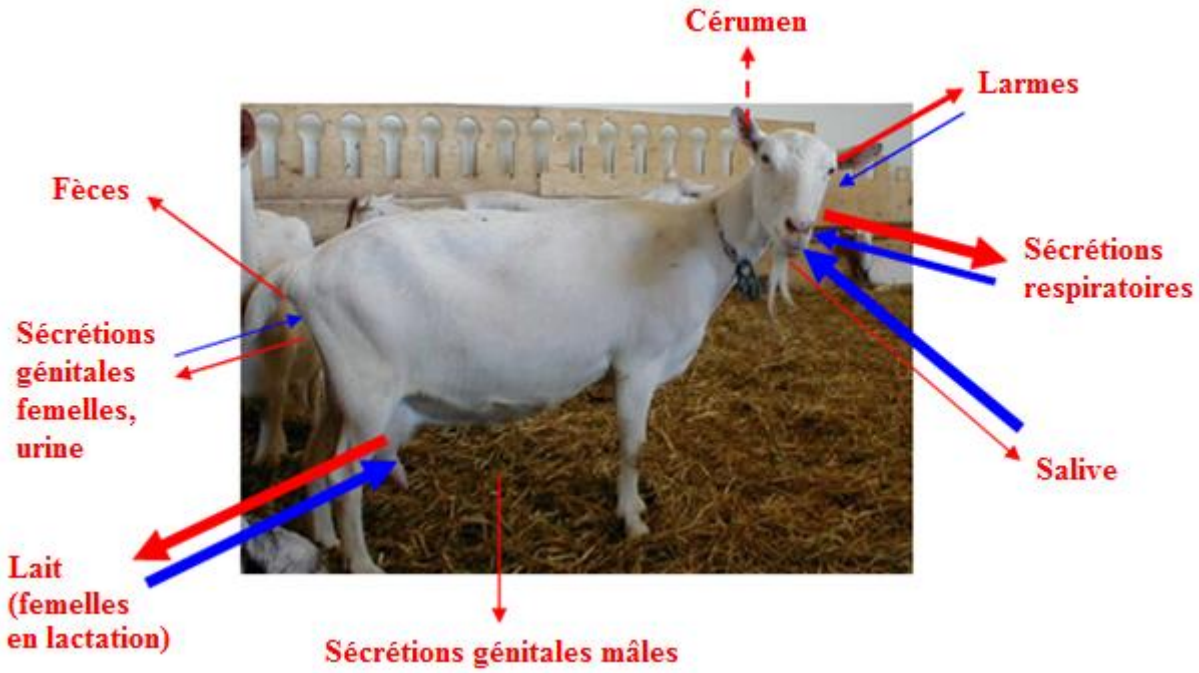
I.4.1.3 Rôle de l'environnement.

Les mycoplasmes ne semblent pas aptes à une longue survie dans le milieu extérieur [12, 14, 17]. Ils sont sensibles à la chaleur (50-55°C), à la putréfaction, aux rayons ultraviolets et aux détergents et antiseptiques usuels [12]. En conditions expérimentales, ils peuvent survivre quelques heures à quelques jours à des températures excédant 30°C, une à deux semaine(s) à température ambiante, un à plusieurs mois au frais (4 à 8°C) et 6 mois à plusieurs années en congélation à – 20°C [12, 14]. La survie des mycoplasmes est considérablement réduite dans du lait de mammite ; elle est estimée à moins de dix jours à 20°C [12].

La découverte récente de la capacité des mycoplasmes à former des biofilms sur des surfaces inertes laisse supposer que cela pourrait influer sur leur aptitude à survivre dans l'environnement mais les conséquences pratiques de ce phénomène (persistance dans la machine à traire, la litière,…) ne sont pas connues à ce jour [15, 77].

I.4.2 Voies de pénétration :

Les principales voies de pénétration des mycoplasmes sont au nombre de cinq : la voie mammaire (prépondérante en élevage laitier), la voie orale, la voie nasale, la voie oculaire et la voie génitale [14, 16, 17]. La colonisation diathélique semble favorisée par les défauts de technique (phénomène d'impact) ou de matériel de traite [27, 81], mais aussi par l'absence d'antisepsie des trayons [17]. La voie orale est considérée comme une voie majeure chez les adultes et chez les chevreaux sous la mère au cours de la tétée (présence de mycoplasmes dans le colostrum puis dans le lait) [17, 27, 33]. La voie nasale peut devenir importante si les animaux présentent des symptômes respiratoires et/ou des contacts rapprochés [17, 27], alors que les voies oculaire et génitale semblent plus accessoires [14, 17]. Les principales voies de pénétration des mycoplasmes sont résumées dans la **figure 5** (en bleu).



<u>Figure 5</u> : Voies d'excrétion (en rouge) et voies de pénétration (en bleu) des mycoplasmes [14, 15]**.**

I.4.3 Facteurs de réceptivité et de sensibilité :

Les caprins semblent présenter la réceptivité la plus large puisqu'il peuvent être infectés par *Ma*, *Mmc*, *Mcc* et *Mp* alors que les ovins ne sont infectés que par *Ma* et *Mmc* [23, 50, 120]. Dans le cas de *Ma*, qui est présent chez les ovins et les caprins, l'expression clinique est généralement plus sévère chez les caprins [12, 15].

Chez les caprins, les jeunes présentent la plus grande sensibilité : les taux de mortalité sont souvent élevés, particulièrement lors d'infections par *Mmc* ou *Mcc* car ces derniers provoquent des septicémies ou des symptômes locaux plus sévères que lors d'infections par les autres mycoplasmes [15, 27]. Les boucs et les femelles taries et/ou non gravides présentent les symptômes les plus frustes avec des taux de mortalité plus faibles [12, 27]. De fait, la gestation [55] et la lactation [27] semblent impliquées dans l'exacerbation de l'infection [12].

Des facteurs de risque zootechniques, environnementaux ou nutritionnels ont également été identifiés chez les caprins : défauts de technique ou de matériel de traite [27, 81], mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite, qu'elle soit mécanique ou manuelle [30, 62], mauvaises conditions de logement (conception, ambiance, hygiène) et/ou surpeuplement [12], déséquilibres alimentaires [30, 118], brusques variations climatiques [12, 118], stress lié à la séparation des chevreaux de leurs mères et introduction de boucs provenant d'autres élevages [81].

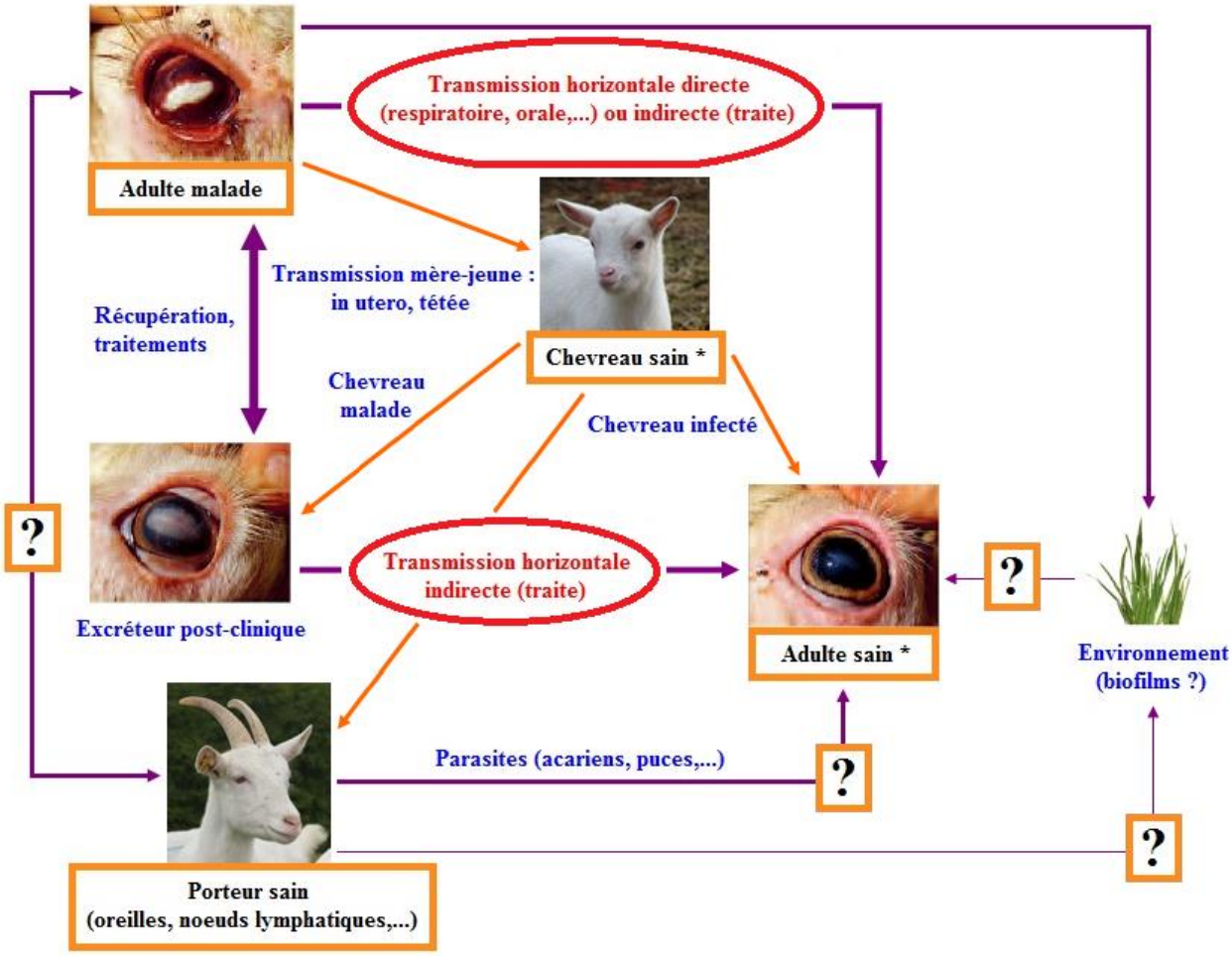
I.4.4 Modalités de transmission :

La transmission horizontale directe, à partir d'animaux en phase d'état de l'infection, est particulièrement importante lorsque l'excrétion respiratoire est significative ; le surpeuplement étant un facteur aggravant de ce mode de transmission [12, 15]. La transmission horizontale indirecte intervient majoritairement lors de la traite, qu'elle soit mécanique ou manuelle [12, 62, 81]. Cependant, deux autres modalités de transmission horizontale indirecte sont suspectées : la contamination par l'environnement, lors de partage de pâtures et/ou d'abreuvoirs [12, 27, 72] et l'intervention de vecteurs parasitaires principalement représentés par des acariens hématophages (*Raillietia caprae*) vivant dans les conduits auditifs externes des caprins [34, 59]. Des travaux récents suggèrent la possibilité d'une transmission vénérienne :

détection de *Ma* et *Mmc* dans la semence de boucs naturellement infectés [40, 51], isolement de *Mp* et *Mmc* dans le tractus génital de plusieurs chèvres [46, 118] et isolement de *Ma*, *Mmc* et *Mp* dans le tractus génital de plusieurs boucs [39, 46, 49].

La transmission verticale (de la mère au jeune) est essentiellement assurée par la tétée, les mycoplasmes étant excrétés de façon importante et durable dans le colostrum puis dans le lait [12, 27, 62, 118]. Cependant, deux autres modalités de transmission verticale sont suspectées : la transmission *in utero* de la mère au fœtus et la transmission *per partum* [12]. En effet, les isolements de *Mmc* et *Mcc* à partir de divers organes d'avortons [107], de *Mmc*, *Ma* et *Mcc* à partir d'articulations enflées de chevreaux nouveau-nés à terme [12, 118] et de *Mmc* dans le rectum et le vagin d'une chèvre ayant avorté [118] suggèrent la possibilité d'une transmission *in utero*. La transmission *per partum* ne peut pas être exclue à cause de l'isolement de *Mmc* dans le vagin de plusieurs chèvres dont les chevreaux étaient également infectés par *Mmc* [118].

Les principales modalités de transmission horizontale et verticale de l'Agalactie Contagieuse sont résumées dans la **figure 6**.



* Cliniquement sain et non infecté.

<u>Figure 6</u> : Modalités de transmission de l'Agalactie Contagieuse [14, 15]**.**

I.4.5 Espèces réservoirs :

Les ovins et les caprins sont les principales espèces affectées par l'Agalactie Contagieuse [12, 23, 50]. L'expression clinique de l'infection chez ces espèces n'est pas systématique, ce qui fait de certains animaux des porteurs asymptomatiques [12, 27, 50].

Plusieurs foyers d'Agalactie Contagieuse causés par *Ma* et *Mmc* ont été détectés chez des espèces de petits ruminants sauvages, comme le bouquetin d'Espagne (*Capra pyrenaica*) [128], le bouquetin des Alpes (*Capra ibex*) [23, 44, 120] et le chamois (*Rupicapra rupicapra*) [120]. Un épisode de mortalité par pneumonies dues à *Mcc* a été rapporté chez des markhors (*Capra falconeri*) au Tadjikistan en 2010 [90]. L'apparition de ces foyers chez des petits

ruminants sauvages est à relier à des interactions avec des petits ruminants domestiques (partage de pâtures et d'abreuvoirs), une forte densité de population, des conditions climatiques défavorables et/ou une diminution des ressources disponibles [90, 128]. De futurs travaux sont nécessaires pour clarifier le rôle et l'importance des petits ruminants sauvages dans l'épidémiologie de l'Agalactie Contagieuse, notamment quant à leur rôle potentiel de réservoir d'espèces pathogènes [50, 120, 128].

I.5 Pathogénie et signes cliniques de l'Agalactie Contagieuse :

I.5.1 Pathogénie :

Chez les petits ruminants, l'Agalactie Contagieuse s'établit en deux temps : une phase de bactériémie suivie d'une phase de localisation [134]. La phase de bactériémie, qui a été décrite pour la première fois par Zavagli en 1951, se manifeste par une hyperthermie modérée de courte durée environ vingt-quatre heures après inoculation par voie sous-cutanée [55, 72, 134]. Une étude menée par DaMassa et al. (1986) sur l'inoculation par voie orale de *Mmc* à des chevreaux a permis de confirmer l'hyperthermie et d'isoler la bactérie du sang vingt-quatre heures après inoculation [31]. La phase de localisation, qui fait suite à la phase de bactériémie, a également été étudiée par Zavagli en 1951. Cette phase correspond à la dissémination par voie sanguine des mycoplasmes vers les organes et tissus cibles : mamelle, poumons, articulations, yeux, nœuds lymphatiques,… [64, 72]. La colonisation des organes et tissus cibles par les mycoplasmes s'accompagne de réactions inflammatoires importantes, ce qui peut être à l'origine d'avortements lors d'inflammations de l'utérus chez des femelles gestantes [72].

Les modalités de la réaction immuno-inflammatoire de l'hôte après inoculation de *Ma* par voie intra-mammaire chez des chèvres en lactation ont été étudiés par Castro-Alonso et al. (2010) et suggèrent la capacité de *Ma* à faire varier les sous-populations de cellules immuno-inflammatoires au cours de l'infection mammaire. Ainsi, les mécanismes de défense de l'hôte élaborés aux différents stades de l'infection (aigu, subaigu et chronique) ne seraient pas adaptés et ne parviendraient pas à détruire les mycoplasmes [22].

I.5.2 Généralités sur l'expression clinique de l'Agalactie Contagieuse :

La période d'incubation de l'Agalactie Contagieuse varie généralement d'une semaine à deux mois, en fonction de la virulence de l'agent mycoplasmique et de la résistance de l'hôte [72]. L'Agalactie Contagieuse à *Ma* est classiquement caractérisée par une triade symptomatique incluant des signes mammaires et/ou articulaires et/ou oculaires. L'agalactie Contagieuse à mycoplasmes du groupe « mycoides » associe classiquement des signes respiratoires et/ou mammaires et/ou articulaires. *Mp* est responsable, le plus souvent, de symptômes mammaires [12, 27, 50]. Ces symptômes majeurs forment des triades évocatrices à l'échelle du troupeau mais chez un même animal, ils peuvent apparaître simultanément ou successivement et être diversement associés [12, 15, 27]. D'autres symptômes moins fréquents, liés à une atteinte de l'appareil génital et/ou du système nerveux, peuvent être observés [12, 15, 27, 50].

I.5.3 Expression clinique selon l'espèce pathogène :

Le **tableau IV**, ci-dessous, résume les particularités concernant l'expression clinique de l'Agalactie Contagieuse en fonction de l'espèce mycoplasmique impliquée.

<u>Tableau IV</u> : Signes cliniques de l'Agalactie Contagieuse chez les caprins [12, 14, 27]**.**

	Ma	***Mmc***	***Mcc***	***Mp***
Femelles adultes en lactation	Mammaires +++ Articulaires ++ Oculaires ++ Autres : Respiratoires Avortements	Mammaires +++ Respiratoires +++ Articulaires +++ Oculaires + Autres : Avortements	Articulaires +++ Mammaires +++ Oculaires + Respiratoires + Autres : Avortements	Mammaires +++ Articulaires ++ Autres : Avortements
Jeunes	Respiratoires ++ Articulaires ++ Oculaires ++ Septicémies +	Articulaires +++ Respiratoires +++ Septicémies +++ Oculaires + Nerveux +/–	Articulaires +++ Respiratoires +++ Septicémies +++ Oculaires + Nerveux +/–	Articulaires ++
Formes atypiques	Respiratoires Génitales (vulvo-vaginites)	Génitales (vulvo-vaginites)	Génitales (vulvo-vaginites)	Génitales ?

Comparativement à *Ma*, *Mmc* et *Mcc* provoquent plus fréquemment des formes aiguës et suraiguës chez les adultes et chez les jeunes. La symptomatologie qu'ils induisent est marquée par une forte variabilité consécutive à la diversité des organes cibles pouvant être atteints et l'existence d'évolutions différentielles [12].

I.5.4 Caractéristiques des signes cliniques observés :

I.5.4.1 Symptômes généraux.

L'apparition des symptômes locaux est généralement précédée par des symptômes généraux discrets qui passent souvent inaperçus : faiblesse, diminution de l'appétit, hyperthermie. Dans certains cas, les symptômes généraux sont sévères et peuvent entraîner une émaciation voire la mort et des cas de septicémies mortelles peuvent être observés, particulièrement chez les jeunes [27, 46, 118].

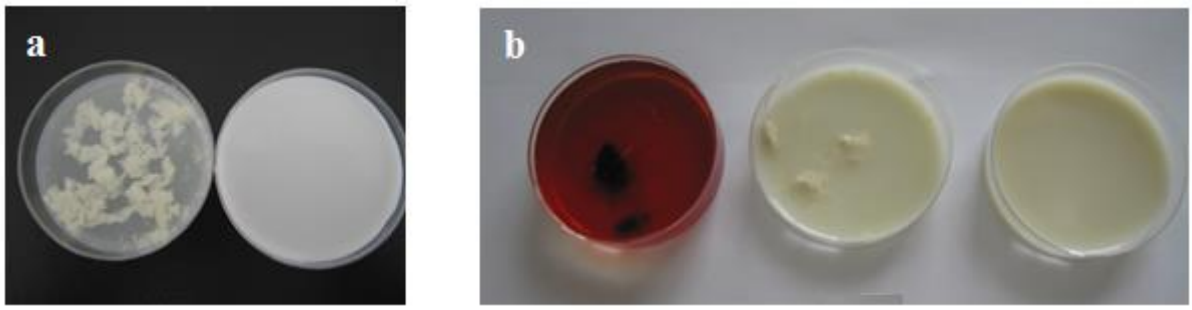
I.5.4.2 Signes mammaires.

L'expression la plus typique de l'Agalactie Contagieuse est observée chez les femelles en lactation et le plus souvent, l'atteinte mammaire domine le tableau clinique [12, 15].

Cette atteinte mammaire se caractérise généralement par :

- Une mammite unilatérale ou bilatérale (le plus souvent) accompagnée des signes cardinaux de l'inflammation aiguë (rougeur, chaleur, douleur et tuméfaction) et d'une hypertrophie des nœuds lymphatiques rétro-mammaires (**figure 7**) [12, 27, 46, 56, 72, 111].
- Une diminution de la production de lait pouvant aller de l'hypogalactie à l'agalactie complète (parfois brutale) [12, 27, 46].
- Une modification de la couleur (jaunâtre le plus souvent) et de la texture du lait (grumeaux pouvant obstruer le trayon), pouvant aller d'une apparence normale à un aspect de lait de mammite gangréneuse (**figure 8**) [27, 72].
- Une augmentation du comptage des cellules somatiques (nombre de cellules somatiques par millilitre de lait) pouvant être considérable [28].
- Des lésions de sévérité variable, allant de la récupération fonctionnelle totale à l'atrophie du parenchyme mammaire (**figure 10**) [56, 72].

<u>Figure 7</u> : Mammites chez des chèvres en lactation (a, [13] **; b et c,** [66]**).**



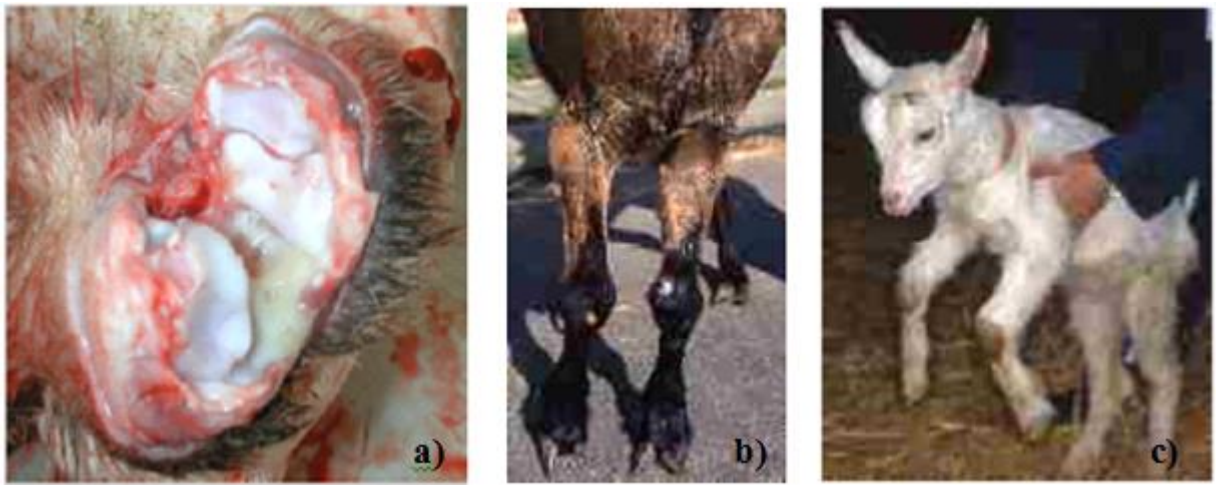
<u>Figure 8</u> : a) Lait issu de mammite à *Mp* ; b) Lait issu de mammite à *Ma* (photos : D. Le Grand - Pathologie du Bétail - VetAgro Sup)**.**

Dans les troupeaux caprins laitiers infectés chroniquement, on observe essentiellement des mammites subcliniques malgré quelques cas sporadiques de mammites cliniques [50]. Dans ces troupeaux où les formes subcliniques dominent, la qualité du lait (pourcentage de matière grasse, protéines totales, lactose, taux cellulaire,…) ne semble pas affectée par la présence des mycoplasmes [28, 37].

I.5.4.3 Signes articulaires.

L'atteinte articulaire se manifeste généralement par une arthrite (**figure 9a**) ou une polyarthrite (**figure 10**), allant d'une simple raideur articulaire à une arthrite déformante (**figures 9b et 9c**) ou une ankylose complète d'une ou plusieurs articulation(s) entraînant des difficultés locomotrices voire un décubitus permanent [12, 27, 72]. Les articulations affectées (carpes, tarses et grassets le plus fréquemment) deviennent chaudes et gonflées par

accumulation excessive de liquide synovial (synovite hyperplasique) mais le cartilage articulaire n'est généralement pas lésé [27, 56, 72, 118].

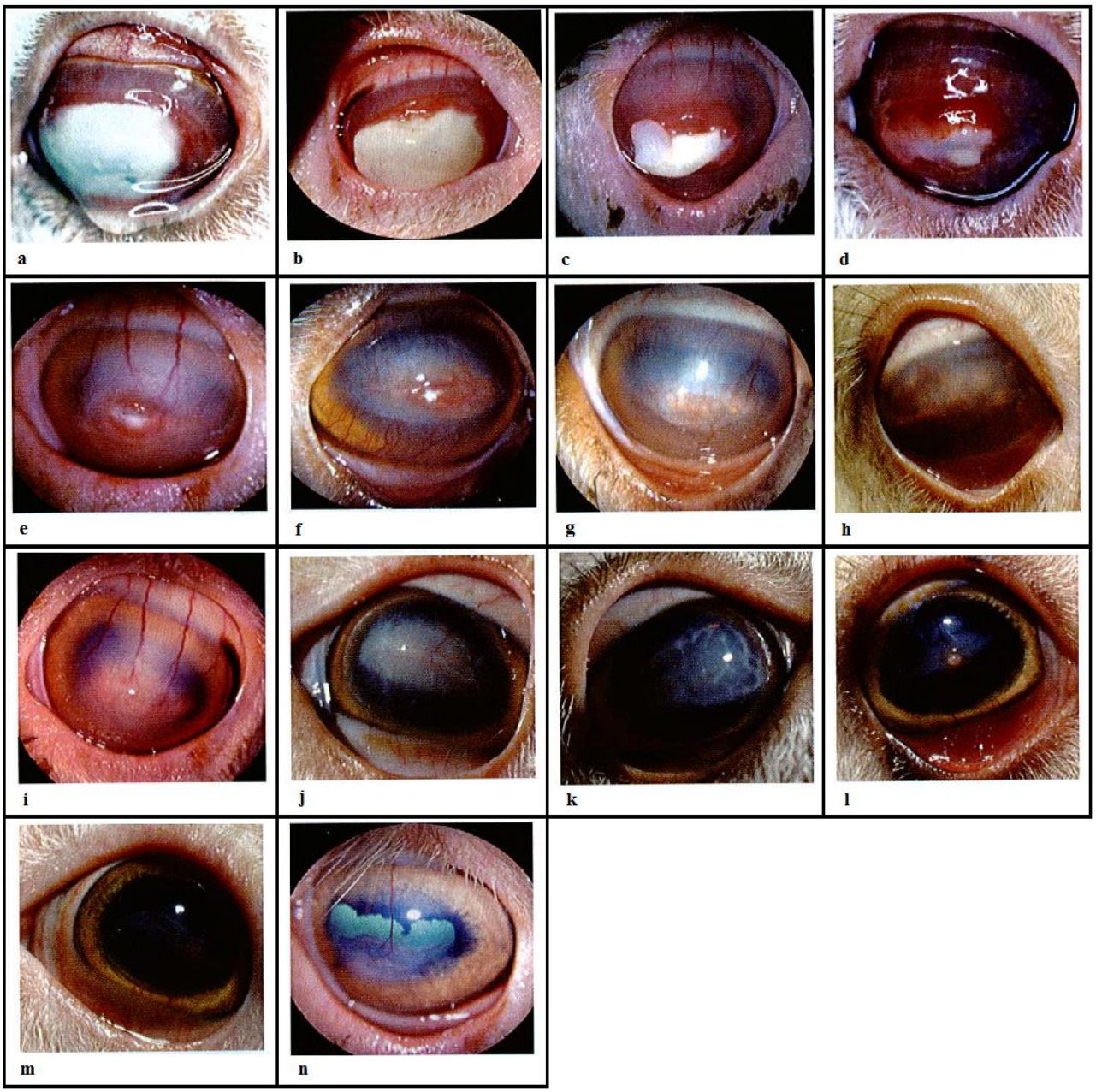


<u>Figure 9</u> : a) Arthrite (photo : D. Le Grand - Pathologie du Bétail - VetAgro Sup) **; b) et c) Arthrites déformantes** [66]**.**

<u>Figure 10</u> : Polyarthrite, amaigrissement, atrophie mammaire et mortalité dus à *Mmc* chez une chèvre [13]**.**

I.5.4.4 Signes oculaires.

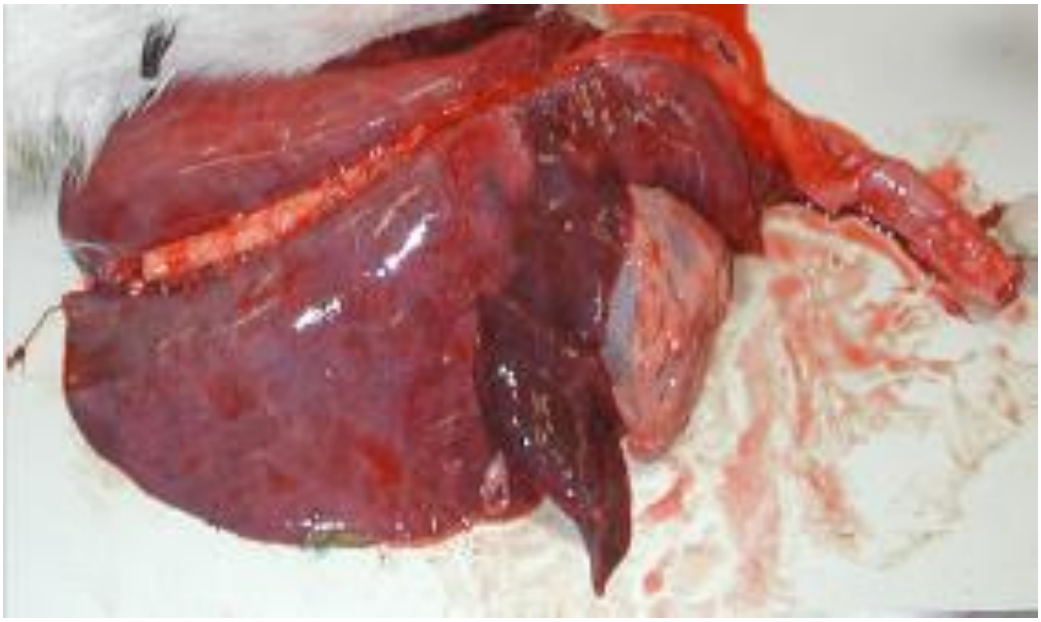
L’atteinte oculaire concerne essentiellement la conjonctive et la cornée et peut être unilatérale ou bilatérale, allant d’une simple conjonctivite à une kératite parenchymateuse ou à une (kérato)conjonctivite ulcérative avec kératomalacie et abcédation cornéenne (**photos a à c de la figure 11**) [12–14, 27, 72]. Dans ce dernier cas, l’évolution se fait souvent vers la réduction progressive de l’abcès et de l’œdème stromal avec l’apparition de granulomes inflammatoires centraux et d’une néo-vascularisation (**photos d à i de la figure 11**) puis vers la cicatrisation cornéenne progressive avec inflammation superficielle résiduelle, fibrose cornéenne et opalescence secondaire (**photos j à n de la figure 11**) [13, 14]. La récupération fonctionnelle est souvent complète, même si l’animal perd parfois temporairement la vue sur un ou sur les deux yeux [14, 27, 72].



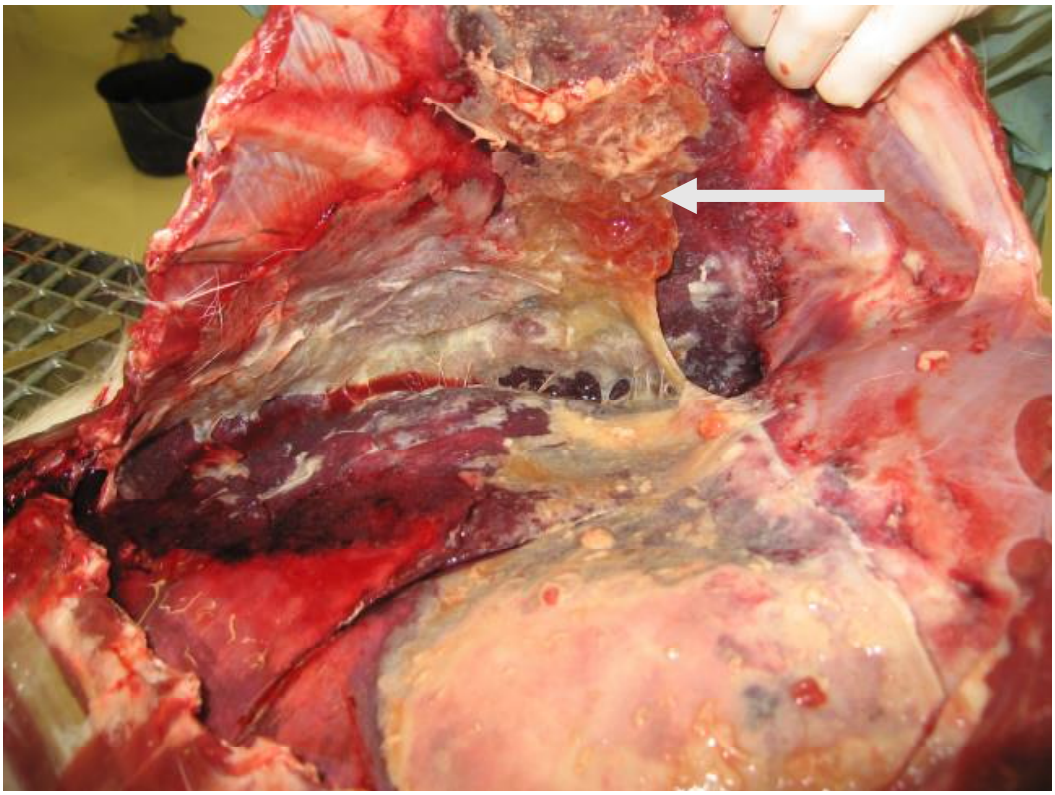
<u>Figure 11</u> : Kératoconjonctivites ovines à *Ma* : principaux stades lésionnels successifs [14]**.**

I.5.4.5 Signes respiratoires.

L'atteinte de l'appareil respiratoire est marquée par des signes de bronchopneumonie (toux, dyspnée,…) de sévérité variable pouvant aller jusqu'à la mort, particulièrement chez les jeunes [12, 13, 27]. Les lésions observées vont de la bronchopneumonie (**figure 12**) à la pleuropneumonie étendue (**figure 13**) [27, 118].



<u>Figure 12</u> : Lésions de bronchopneumonie chez un chevreau (*Mmc*) (photo : D. Le Grand - Pathologie du Bétail - VetAgro Sup)**.**



<u>Figure 13</u> : Lésions de pleuropneumonie chez une chèvre (*Mmc*) (photo : D. Le Grand - Pathologie du Bétail - VetAgro Sup)**.**

I.5.5 Autres signes cliniques plus rarement observés :

I.5.5.1 Avortements et symptômes génitaux.

Des avortements peuvent survenir à tout moment au cours de la gestation, sporadiquement ou en série dans les troupeaux infectés [12, 27, 72, 86, 107].

Des lésions de l'appareil génital et la présence de *Mcc* dans l'utérus, le vagin, le placenta et les organes du fœtus d'une femelle avortée ont été observés lors d'une étude menée par Rodriguez et al. (1996) [107]. La présence de mycoplasmes dans le tractus génital mâle ou femelle pourraient être à l'origine d'une diminution de la fertilité [46].

Chez les caprins, des vulvo-vaginites granuleuses dues à *Ma* ont été décrites en Inde et en Afrique. Chez les ovins, des balanoposthites et des vulvo-vaginites dues à *Mmc* et *Mcc* ont également été rapportées [12].

I.5.5.2 Signes nerveux.

Lorsqu'ils sont présents, les troubles nerveux observés sont les suivants : opisthotonos, marche en cercle voire coma [50, 118]. *Ma*, *Mmc* et *Mp* ont été isolés dans les hémisphères cérébraux et/ou les méninges de caprins présentant ou non des signes cliniques d'Agalactie Contagieuse [30, 49].

I.6 Diagnostic de l'Agalactie Contagieuse :

I.6.1 Suspicion clinique et épidémiologique :

La suspicion clinique d'Agalactie Contagieuse est essentiellement basée sur l'observation d'un ou de plusieurs symptômes typiques présentés ci-dessus (§ I.5) [12, 15, 72]. Il est important de prendre en compte les formes cliniques sur plusieurs campagnes car

l'évolution d'une atteinte mammaire dominante vers des formes articulaires ou respiratoires (voire l'inverse) est fréquente [15]. Le contexte épidémiologique de l'Agalactie Contagieuse est principalement celui de contacts, de mélanges d'animaux (estives, mises en pension hivernale, foires, ateliers d'engraissement,…), d'introductions (achat ou prêt) ou de facteurs déclenchants [12, 15]. Malgré tout, le diagnostic épidémio-clinique de l'Agalactie Contagieuse est complexe, particulièrement en zone d'endémie, ce qui rend le recours au diagnostic de laboratoire indispensable [12, 27, 72, 86].

I.6.2 Diagnostic étiologique :

I.6.2.1 Prélèvements.

Lors d'une suspicion d'Agalactie Contagieuse, les prélèvements sont à réaliser sur des cas cliniques récents, non traités et présentant une symptomatologie évocatrice [13, 17]. Les sites de prélèvement les plus intéressants sont : la mamelle, les poumons et les articulations [13, 27, 72, 86]. Compte tenu du tropisme majeur des mycoplasmes pour la mamelle et de la facilité de prélèvement, le lait constitue le prélèvement de choix en *ante mortem* [15, 72]. Les autres prélèvements possibles en *ante mortem* sont : le liquide synovial, les sécrétions respiratoires (liquide d'aspiration trans-trachéale), l'écouvillonnage oculaire (culs-de-sacs conjonctivaux) et, de moindre intérêt, l'écouvillonnage vaginal [15, 17, 27, 72, 86]. En *post mortem*, de nombreux organes peuvent être prélevés et particulièrement : la mamelle, les poumons, les articulations (non ouvertes) voire les nœuds lymphatiques rétro-mammaires et pulmonaires [13, 27, 72]. Pour attester de la circulation de mycoplasmes au sein d'un troupeau, il est également possible de réaliser un prélèvement de lait de tank [3, 13, 15].

Pour limiter les contaminations, il est essentiel de respecter certaines précautions lors de la réalisation des prélèvements : tonte et désinfection pour les articulations, désinfection des trayons pour un prélèvement de lait,… [13].

Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire le plus rapidement possible et sous le couvert du froid, à + 4°C. Les écouvillons (oculaires, génitaux,…) doivent, si ils sont destinés à la mise en culture, être acheminés rapidement au laboratoire pour traitement dans la journée ou être placés dans un milieu de transport [13]. Il n'existe pas de milieu de transport

commercialisé spécifique pour les mycoplasmes mais certains auteurs ont utilisé, pour la recherche de *Ma* et *Mmc*, des écouvillons de type COPAN ESwab™ [1, 41].

Concernant les échantillons de lait (individuels ou de tank), la conservation à + 4°C doit être privilégiée pour des périodes de conservation de courte durée (quelques jours) et celle à – 80°C pour des périodes de conservation de longue durée [13, 15]. Une étude a montré un impact négatif de la congélation à – 20°C sur la viabilité et donc les titres en mycoplasmes lors de la mise en culture pour *Ma* et *Mmc* [4]. Dans des conditions expérimentales, Biddle et al. (2004) ont démontré qu'après quatre semaines de stockage à – 20°C, 45% des échantillons de lait testés (initialement positifs en mycoplasmes) se sont révélés négatifs [19]. L'adjonction de conservateurs (bactériostatiques et/ou antifongiques) comme le bronopol a un effet délétère sur *Mycoplasma bovis* et *Ma*, comme le démontrent respectivement les études de Pinnow et al. (2001) [97] et de Amores et al. (2010) [4]. Des essais d'utilisation de l'azidiol ont été réalisés mais sans résultats significatifs par rapport à l'absence de conservateurs [4].

I.6.2.2 Diagnostic direct.

Isolement :

Les possibilités de biosynthèse des mycoplasmes étant limitées et la présence de stérols nécessaire à leur développement, l'isolement des mycoplasmes exige l'utilisation de milieux spécifiques et complexes [13, 15, 17]. Différents milieux de culture ont été développés (milieu d'Eaton, milieu de Hayflick, milieu de Friis, milieu SP4, milieu OXOID,…) [27, 67]. Tous ont une composition de base assez proche et sont notamment enrichis en sérum (de cheval ou de porc) et en extraits de levure [17, 27]. Des inhibiteurs de croissance bactérienne et/ou fongique (comme l'acétate de thallium et la pénicilline ou l'ampicilline) sont souvent ajoutés pour éviter les contaminations par d'autres microorganismes [12, 17, 27, 67]. L'incubation est plus ou moins longue selon les espèces ; une croissance apparaît en un à deux jours pour *Mmc* et *Mcc* et en deux à cinq jours pour *Ma* [12, 13, 17]. L'incubation est réalisée à 37°C sous une atmosphère humide et enrichie en dioxyde de carbone (5% de CO_2) [1, 12, 41].

L'identification des espèces isolées est impossible sur la seule observation de la morphologie des colonies obtenues en milieu solide et doit donc faire appel à des méthodes

spécifiques. En outre, compte tenu de l'existence fréquente d'espèces non pathogènes, parfois même en mélange, cette étape d'identification est incontournable [13].

Méthodes d'identification :

L'identification des espèces de mycoplasmes isolées fait appel à des méthodes biochimiques, immunologiques ou génétiques [12, 27, 67].

L'identification basée sur les caractéristiques biochimiques de l'espèce (sensibilité à la digitonine, fermentation du glucose, hydrolyse de l'urée, activité de la phosphatase,…) a été décrite par Poveda en 1998. Elle est aujourd'hui abandonnée car longue, fastidieuse et imprécise, notamment lors de mélanges d'espèces [12, 106]. L'identification immunologique traditionnelle des mycoplasmes fait appel aux techniques d'inhibition de croissance (IC) [26], d'inhibition métabolique (IM) [122] et d'immunofluorescence indirecte (IFI) [36, 109] [12, 67]. Ces techniques lourdes et longues sont impossibles à mettre en œuvre dans le cadre d'un diagnostic de routine [99, 100]. Elles ont été avantageusement suppléées, dans ce sens, par la technique immuno-enzymatique dénommée « Dot Immunobinding on membrane filtration » (MF Dot) [12, 99, 100].

La technique de **Dot Immunobinding on membrane filtration** (MF Dot) est une méthode simple permettant l'identification des espèces de mycoplasme à partir d'un bouillon de culture. Les mycoplasmes sont bloqués, sous l'effet d'une aspiration obtenue par filtration sous vide, à la surface d'une membrane de porosité 0,22 µm. Un sérum polyclonal spécifique d'espèce (sérum hyperimmun préparé sur lapin) est alors ajouté. Les complexes antigènes-anticorps sont révélés grâce à une enzyme anti-anticorps conjuguée [100]. Cette technique présente l'avantage d'être simple, rapide (deux ou trois heures) et facilement standardisable. Elle permet également de traiter plusieurs échantillons simultanément et d'identifier plusieurs espèces mycoplasmiques dans un même échantillon [12, 99, 100].

Les difficultés culturales et d'identification des mycoplasmes ont conduit à l'exploration et la mise au point de nouvelles méthodes dont la PCR (Polymerase Chain Reaction) [12, 27].

Les techniques d'identification génétique par **Polymerase Chain Reaction** (PCR) sont utilisables directement sur échantillon biologique ou après enrichissement en culture [12, 126].

Plusieurs techniques spécifiques de PCR existent pour identifier les quatre espèces de mycoplasmes du Syndrome Agalactie Contagieuse [10, 27]. Il s'agit de techniques de PCR dites conventionnelles (révélation du produit d'amplification par migration sur gel d'agarose et marquage au bromure d'éthidium) et de PCR en temps réel ou QPCR (Real-Time quantitative PCR : technique quantitative permettant de mesurer, à chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN grâce à un marqueur fluorescent) [10].

Voici quelques-unes des techniques de PCR disponibles :

- PCR avec étape initiale d'amplification de l'ADN puis identification basée sur l'utilisation d'enzymes de restriction, pour les mycoplasmes du groupe « mycoides » et *Mp* [108].
- PCR spécifique basée sur l'ARN-16S ribosomal de *Ma* [60].
- PCR spécifique basée sur la séquence génique uvrC de *Ma* [117].
- Nested-PCR pour identifier les différentes espèces de mycoplasmes du groupe « mycoides » [57].
- PCR multiplex identifiant *Ma* et le groupe « mycoides » [53].
- PCR spécifique basée sur la séquence génique *Arc* B de *Mp* [96].
- PCR basée sur l'ARN-16S ribosomal des mycoplasmes et séparation des produits de la PCR par électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), pour détecter simultanément et distinguer les quatre espèces impliquées dans l'Agalactie Contagieuse [76].
- PCR spécifique basée sur la séquence génique *glk* des mycoplasmes du groupe « mycoides » [132].
- PCR multiplex en temps réel pour détecter *Ma* et le groupe « mycoides » [10].

La PCR est une méthode très rapide (moins de cinq heures pour analyser quarante échantillons) et spécifique [50, 86, 126]. Une étude menée par Amores et al. (2010) sur la comparaison de la culture et de la PCR pour identifier les caprins porteurs auriculaires asymptomatiques de mycoplasmes dans les troupeaux indique que la PCR est plus sensible et plus rapide que la culture pour détecter *Ma* et *Mmc* sur des écouvillons auriculaires [1]. Le potentiel de sensibilité de la PCR en fait un outil très intéressant pour l'avenir [12, 50, 86, 126].

Pour la détection des mycoplasmes du groupe « mycoides », certaines séquences proposées ne sont pas suffisamment conservées, ce qui conduit à des erreurs d'identification ou un manque « d'universalité » au sein de certaines espèces avec seulement 74% des *Mmc* et 52% des *Mcc* identifiés [52]. De plus, sur les échantillons de lait, la sensibilité de la PCR n'est pas toujours suffisante pour s'affranchir systématiquement d'un enrichissement en bouillon [15]. De nouvelles techniques de PCR [10] ainsi que l'amélioration des méthodes d'extraction de l'ADN devraient permettre de s'affranchir de cette étape [10, 126]. A l'heure actuelle, en dehors du cas particulier des plans de lutte contre *Ma*, la PCR est plutôt utilisée comme technique complémentaire de l'identification sérologique [15, 52].

Technique en développement : Identification bactérienne par spectrométrie de masse :

La **spectrométrie de masse MALDI-TOF** (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time Of Flight) est une nouvelle technologie d'identification des microorganismes qui a récemment émergé. L'identification des bactéries et des levures est permise grâce à l'analyse de leur contenu en protéines et la comparaison du spectre ainsi généré aux spectres de référence présents dans une base de données. Une étude menée par Pereyre et al. (2013) indique que cette technique est performante pour l'identification des mycoplasmes (identification précise et exacte de l'espèce dans 96% des cas), que ce soit à partir d'isolats cliniques humains ou de ruminants. Cependant, sa performance est moindre vis-à-vis des cultures contenant plusieurs espèces de mycoplasmes, pour lesquelles il n'identifie que l'espèce prédominante. La spectrométrie de masse MALDI-TOF constitue toutefois une méthode rapide, fiable et économique pour l'identification des différentes espèces de mycoplasmes. Ses résultats prometteurs permettent d'envisager son utilisation en routine pour l'identification et le typage des souches [94].

I.6.3 Diagnostic sérologique :

A ce jour, il existe trois grandes techniques sérologiques pour le diagnostic indirect des mycoplasmoses caprines : la réaction de fixation du complément, qui fut la première technique développée et qui n'est actuellement plus utilisée, la technique ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) qui est la plus utilisée en routine pour le dépistage de *Ma* et la technique du Western Blot [12, 17, 50, 63, 72].

I.6.3.1 Réaction de fixation du complément.

Avant la mise au point de la technique ELISA, la **réaction de fixation du complément** a longtemps été utilisée dans les laboratoires pour le dépistage des mycoplasmoses [12, 67]. Il s'agit d'un micro-test sur plaque à fixation lente à froid utilisant un mélange d'hématies de mouton à 3 % et d'un sérum hémolytique dilué à 1 pour 1000 [48, 95]. Les titres sérologiques obtenus permettent de connaître le statut du troupeau selon le classement mis au point par Le Goff et Perreau en 1984. Ce test ne peut être utilisé qu'à l'échelle d'un troupeau, sa sensibilité et sa spécificité étant trop faibles pour fournir des résultats individuels fiables [12, 63]. De plus, cette méthode est techniquement délicate à mettre en œuvre et des variations considérables peuvent être observées dans les résultats en fonction du laboratoire ou du personnel [12, 67]. Face à ces difficultés, la technique ELISA a été développée et supplante aujourd'hui la réaction de fixation du complément grâce à sa meilleure sensibilité et sa facilité d'utilisation à grande échelle [12, 63, 86].

I.6.3.2 Techniques ELISA.

Plusieurs kits **ELISA** ont été ou sont proposés pour la détection des anticorps sériques dirigés contre *Ma*. Les kits Intervet, utilisant les antigènes totaux de la souche PG2 [63, 93, 98] et Anses Sophia Antipolis-France, utilisant les antigènes totaux de douze souches de terrain [93, 98], ne sont plus commercialisés. Restent sur le marché actuellement, les kits Pourquier, utilisant la protéine recombinante P48 [63, 93, 98], et LSIVET à antigène total [98].

Selon une étude comparative menée par Poumarat et al. (2012), la sensibilité du diagnostic ELISA pour *Ma* varie entre 48 et 94% selon le kit utilisé et la zone géographique considérée. La spécificité est bonne, elle varie entre 76 et 99% pour les kits utilisant des antigènes totaux et entre 99 et 100% pour les kits utilisant la protéine recombinante P48 [98].

Certains kits ELISA ne permettent pas une bonne détection sérologique vis-à-vis de certaines souches de *Ma* ; les performances des tests peuvent également varier en fonction de l'espèce animale concernée (ovins ou caprins) et de l'origine géographique des prélèvements [98]. De plus, certains kits ELISA semblent manquer de sensibilité, lorsqu'ils sont utilisés à

l'échelle de l'individu et ne sont donc valables que dans le cadre d'un diagnostic de troupeau [12, 63, 111].

La persistance sérologique après un épisode de mycoplasmose étant très longue (plusieurs mois et excède, en général, la lactation en cours), il n'est pas possible de distinguer un animal anciennement infecté d'un animal en cours d'infection si celle-ci est asymptomatique [12, 15]. Pour les mycoplasmes du groupe « mycoides » (*Mmc* et *Mcc*) et *Mp*, aucune technique sérologique n'est actuellement commercialisée [15].

La sérologie ELISA est malgré tout une technique simple, rapide et performante pour la détection des troupeaux infectés ; elle constitue un outil précieux et complémentaire du diagnostic direct des mycoplasmoses des petits ruminants [12, 15, 27, 63, 111].

I.6.3.3 Technique Western Blot.

La technique **Western Blot** est un outil sérologique très performant car elle permet d'identifier précisément les composants antigéniques contre lesquels sont dirigés les anticorps détectés dans un sérum [63]. Une étude menée par Nicholas et al. (1996) sur la comparaison de plusieurs tests sérologiques pour la détection de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype Small Colony (agent de la Péripneumonie Contagieuse Bovine) montre que la technique Western Blot est plus sensible et plus spécifique que la technique ELISA [85]. Plus lourde à mettre en œuvre que les tests ELISA, cette technique n'est pas utilisable en routine mais elle pourrait être réservée à la confirmation des résultats douteux obtenus en ELISA pour *Ma* [63].

I.7 Mesures de lutte et de contrôle de l'Agalactie Contagieuse :

I.7.1 Traitement de l'Agalactie Contagieuse :

Le traitement du Syndrome Agalactie Contagieuse repose essentiellement sur l'antibiothérapie mais le choix des molécules doit tenir compte des spécificités des mycoplasmes [12, 72].

I.7.1.1 Choix des antibiotiques.

Du fait de l'absence de paroi bactérienne, les antibiotiques agissant sur sa synthèse tels que les bêta-lactamines (pénicilline, ampicilline) sont inefficaces contre tous les mycoplasmes [13, 15]. Des variations de sensibilité à différentes molécules ou familles de molécules sont observées au sein des espèces responsables du Syndrome Agalactie Contagieuse. Ainsi, pour *Mp* [7] et *Mmc* [6], des concentration minimales inhibitrices (CMI) très élevées ont été décrites avec les aminosides, ce qui a conduit certains auteurs à suggérer l'existence de mécanismes de résistance intrinsèques au sein des espèces appartenant au groupe *Spiroplasma* [6, 7]. Des CMI très élevées ont également été obtenues pour *Ma* vis-à-vis de l'érythromycine (CMI_{90} > 32 ou 128 µg/mL) [42, 91] et pour *Mcc* vis-à-vis de la lincomycine et de la streptomycine [11].

Les principaux antibiotiques utilisés sont les macrolides et les tétracyclines (bactériostatiques et temps-dépendants), mais aussi les fluoroquinolones (bactéricides et dose-dépendants) [12, 15, 50]. Ces trois familles ont en commun une large distribution et une bonne diffusion intracellulaire [15]. D'autres antibiotiques moins utilisés ont également été testés : certains phénicolés (florfénicol), des lincosamides (lincomycine) et la tiamuline [15, 72]. Les macrolides possèdent une bonne diffusion dans la mamelle et se concentrent dans le lait, ce qui leur confère un avantage notable [13, 15, 17].

Actuellement, les CMI des antibiotiques vis-à-vis des souches françaises de mycoplasmes du Syndrome Agalactie Contagieuse ne sont pas connues, sauf pour *Mp*. En effet, une étude menée par Antunes et al. (2007) a permis de tester en parallèle la sensibilité *in vitro* à plusieurs antibiotiques de souches françaises et jordaniennes de *Mp* : malgré des CMI globalement plus élevées (variant de 0.008 à 16 µg/mL), les souches françaises de *Mp* sont sensibles aux macrolides, aux tétracyclines, aux fluoroquinolones et à la lincomycine [7]. Selon

une étude réalisée au Maroc, toutes les souches de *Mcc* testées sont sensibles *in vitro* à la tylosine, l'oxytétracycline, la gentamycine, la néomycine et l'acide nalidixique, avec des CMI variant de 0.06 à 8 µg/mL [11]. Contre *Mmc*, les antibiotiques les plus efficaces *in vitro* sont les fluoroquinolones, les tétracyclines et les macrolides, avec des CMI inférieures à 2µg/mL [6]. Pour *Ma*, les CMI les plus basses sont obtenues pour les fluoroquinolones [42, 54, 70, 91], la clindamycine [42], la tiamuline [54], les tétracyclines et la tylosine [54, 70, 91], avec une variabilité importante d'une étude à l'autre. Dans une étude menée par Paterna et al. (2013), il apparaît que les souches de *Ma* isolées d'élevages avec des signes cliniques d'Agalactie Contagieuse présentent globalement des CMI supérieures à celles isolées d'élevages sans signes cliniques. Dans les régions où le recours à l'antibiothérapie est fréquent, il apparaît donc nécessaire de surveiller les résistances pouvant apparaître [91].

I.7.1.2 Protocoles de traitement.

Dans la grande majorité des cas, les traitements se font par voie systémique (sous-cutanée ou intramusculaire ; éventuellement per os) et sont associés, dans certains cas, à un traitement par voie locale avec des suspensions intra-mammaires (**tableau V**) [13]. Les traitements antibiotiques appliqués permettent généralement d'obtenir une guérison clinique (parfois partielle) alors que la guérison bactériologique, bien que peu évaluée, est rare et plus aléatoire [13]. En ce qui concerne la durée, il est préconisé de débuter le traitement très précocement et de le poursuivre en général au minimum cinq jours voire huit à dix jours dans l'idéal [14, 80]. Néanmoins, il est à noter que le coût moyen du traitement antibiotique de cinq jours (durée minimale) par animal est élevé par rapport à la valeur de réforme (en particulier chez la chèvre) et sans que l'on puisse garantir sa récupération fonctionnelle [12, 14].

Actuellement, chez les caprins, il n'existe que quelques protocoles et résultats de traitements publiés issus d'observations cliniques (essentiellement) et d'essais thérapeutiques contrôlés en élevage. Ces protocoles et leurs résultats sont présentés dans le **tableau V**. Ces quelques études ne permettent pas de conclure sur l'efficacité des protocoles et des antibiotiques utilisés. Il en ressort néanmoins que l'objectif principal de l'antibiothérapie est la guérison clinique (partielle ou totale) des animaux mais il reste admis qu'elle ne permet pas, à elle seule, l'élimination complète de l'infection dans un troupeau [13, 80].

<u>Tableau V</u> : Protocoles et résultats publiés de traitements contre l'Agalactie Contagieuse chez les caprins.

Agent(s) identifié(s)	Antibiotique utilisé	Schéma posologique	Voie	Résultat	Type d'étude	Source
Mmc	Tiamuline	20 mg/kg SID pendant 3 jours	IM	GC et GB	EXP	[89]
Mp	Tylosine	Pendant 3 jours	IM	Pas de guérison	OBS	[30]
Mmc	Tylosine (tartrate)	20 mg/kg BID pendant 5 jours	PO	GC	OBS	[18]
				3 GC + 1 mort	EXP	
***Mycoplasma* sp.**	Tylosine (tartrate)	40 mg/kg SID pendant 5 jours	PO	GC partielle	OBS	[113]
Mmc* et *Ma	Tylosine	10 mg/kg	NC	Pas de guérison	OBS	[62]
Mmc	Amoxicilline (longue action)	150 mg/kg 2 fois tous les 3 jours	IM	Pas de guérison	EXP	[65]
	Chloramphénicol	30 mg/kg SID pendant 6 jours	SC	GC		
	Lincomycine / Spectinomycine	150 mg/kg SID pendant 6 jours	IM	GC partielle		
	Oxytétracycline (longue action)	20 mg/kg 2 fois tous les 3 jours	IM	GC partielle		
	Tylosine	8 mg/kg SID pendant 6 jours	IM	GC partielle		
Mp	Tétracycline	1 tube BID pendant 2 jours	Ima	GC et GB partielle	OBS	[80]
	Spiramycine	25 mg/kg SID pendant 3 jours	IM			
	Tylosine	10 mg/kg SID pendant 10 jours	IM			

SID : une fois par jour ; BID : deux fois par jour ; IM : intramusculaire ; PO : per os ; SC : sous-cutanée ; Ima : intramammaire ; NC : non connu ; GC : guérison clinique ; GB : guérison bactériologique ; OBS : observation clinique ; EXP : essai thérapeutique contrôlé sur maladie spontanée ou infection expérimentale.

I.7.1.3 Limites de l'antibiothérapie.

Les mycoplasmes sont essentiellement localisés dans des tissus dans lesquels la diffusion de certains antibiotiques par voie générale n'est pas bonne, notamment en phase chronique (lésions chroniques d'arthrites, de mammites, nécrose voire séquestres pulmonaires, portage lymphatique,…). La diffusion tissulaire vers les sites de portage (conduits auditifs, amygdales et culs-de-sacs conjonctivaux) est également difficile [13]. De plus, les mycoplasmes présentent une localisation intracellulaire facultative, notamment dans les cellules épithéliales ou les phagocytes de la mamelle [14].

Il a été démontré *in vitro*, par McAuliffe et al. (2006), que certains mycoplasmes (*Ma* et *Mycoplasma bovis*) sont capables de former des biofilms sur des surfaces inertes. Bien qu'aucune étude ne prouve à ce jour la formation de biofilms dans l'organisme (*in vivo*), ce mode de résistance pourrait être à l'origine d'une limitation de la diffusion de certains antibiotiques [77].

I.7.2 Prophylaxie médicale :

Les vaccins utilisés contre l'Agalactie Contagieuse sont de deux types : à germes vivants atténués ou inactivés [12, 72]. Actuellement, il n'existe aucun vaccin avec une autorisation de mise sur le marché (AMM) en France mais l'importation d'un vaccin espagnol via une procédure réglementée est autorisée dans certaines conditions depuis juillet 2010 [21]. Néanmoins, la recherche vaccinale progresse en France avec une série d'essai en cours à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse [69]. Malgré tout, il convient de rester prudent vis-à-vis de la vaccination car il n'est, pour le moment, pas possible de différencier les animaux infectés des animaux vaccinés d'où une interférence avec les mesures de prophylaxie sanitaire [12, 21, 27, 69, 98].

I.7.2.1 Vaccins à germes inactivés.

Des vaccins inactivés traditionnels sont largement utilisés dans plusieurs pays méditerranéens (antigène total de *Ma* principalement ou vaccin bivalent *Ma-Mmc*) [14]. Les techniques d'inactivation font appel à la chaleur [12, 125], au formaldéhyde et au phénol [38,

125]. Des adjuvants sont parfois utilisés, comme l'hydroxyde d'alumine et/ou la saponine purifiée [38, 125]. Les souches de mycoplasmes utilisées pour produire les vaccins sont le plus souvent issues d'animaux atteints d'Agalactie Contagieuse, pour garantir l'adéquation entre la souche vaccinale et les souches de mycoplasmes circulantes dans une région [38]. Les protocoles de vaccination comprennent de nombreux rappels, à chaque lactation voire tous les quatre mois chez la chèvre [12]. Une étude menée par León Vizcaíno et al. (1995) recommande d'administrer trois doses de vaccin avant et une dose après chaque mise-bas [68].

Lors d'essais sur le terrain, l'évaluation de l'efficacité des vaccins à germes inactivés montre qu'après épreuve virulente, ils ne préviennent pas l'installation d'une infection, même si les symptômes peuvent être atténués [38, 68, 71]. Le principal risque est donc de masquer certaines infections naturelles. Une étude espagnole conduite pendant six lactations consécutives a démontré qu'il était très difficile de contrôler cliniquement et bactériologiquement un foyer chronique et encore plus difficile d'obtenir un effet protecteur vis-à-vis de surinfections exogènes [68]. L'efficacité de la protection serait meilleure sur des animaux sains ou récemment infectés, comme le montre une étude menée par de la Fe et al. (2007) sur deux vaccins inactivés bivalents *Ma-Mmc*. En effet, au cours de cette étude aucun mycoplasme n'est détecté dans le lait de tank issu des chevrettes en première lactation vaccinées. Ainsi, ces vaccins inactivés semblent permettre de prévenir l'infection chez les chevrettes saines. Concernant la durée de la protection, cette même étude démontre que la réponse immunitaire humorale induite par la vaccination persiste pendant six mois chez les chèvres en lactation [38].

L'innocuité des vaccins à germes inactivés est bonne, exception faite des phénomènes d'hypersensibilité pouvant apparaître lors de rappels très rapprochés [12].

Compte tenu des performances limitées de ces vaccins, leur utilisation vise essentiellement une atténuation des pertes économiques en zone d'enzootie. Ne permettant pas l'assainissement des troupeaux, la vaccination est considérée comme une solution palliative, à défaut d'autres moyens de prophylaxie [12].

I.7.2.2 Vaccins à germes vivants atténués.

Des vaccins à germes vivants atténués contre *Ma* ont été largement utilisés en Europe centrale et dans certains pays méditerranéens mais ils sont actuellement interdits dans de nombreux pays dont la France [12]. Ils confèrent une meilleure protection contre l'expression clinique que les vaccins à germes inactivés mais présentent un risque de réversion de la virulence (avec infection transitoire voire excrétion) et n'empêchent pas l'infection [12, 67, 71]. Enfin, les vaccins à germes vivants atténués sont incompatibles avec l'antibiothérapie à cause du risque de destruction de la souche vaccinale fragilisée [17, 67].

Compte tenu de toutes ces limites, les vaccins à germes vivants atténués doivent être utilisés avec beaucoup de précautions : vaccination uniquement en zone d'enzootie, vaccination conjointe de tous les troupeaux pouvant être mélangés, vaccination systématique des nouveaux animaux,… [12, 17, 67].

I.7.3 Prophylaxie sanitaire :

De par l'absence d'une prophylaxie médicale efficace à elle seule, le meilleur moyen de lutter contre les mycoplasmoses reste la prophylaxie sanitaire. Ces mesures sanitaires permettent parfois l'assainissement réel d'un troupeau et doivent donc primer dès que cela est possible [12, 15].

I.7.3.1 Mesures d'abattage.

Des mesures d'abattage ont parfois été mises en place en France (Savoies et Pyrénées-Atlantiques), comme le montre l'arrêté préfectoral n° 2008-101-20 en date du 10 avril 2008, relatif au programme de lutte contre l'Agalactie Contagieuse des petits ruminants dans les Pyrénées-Atlantiques. Ces mesures, très lourdes, ne sont plus ou peu pratiquées.

Il est préférable de mettre en place des mesures rigoureuses pour réduire les sources d'infection et limiter la transmission au sein du troupeau [12, 15].

I.7.3.2 Réduction des sources mycoplasmiques.

Les réservoirs animaux sont les plus importants mais il convient également d'agir sur l'hygiène de l'élevage [12, 27, 80]. La principale mesure repose sur la réforme, en fin de lactation, des animaux cliniquement atteints et de ceux n'ayant pas récupéré leur potentiel de production ou nouvellement malades [12, 80]. Il convient également de mettre en place un traitement antibiotique par voie générale, et éventuellement par voie mammaire, chez tous les animaux malades [80]. La mise en place d'un traitement systématique au tarissement avec des suspensions intra-mammaires à base de macrolides est à envisager selon le contexte en tenant compte des impératifs économiques et de bonnes pratiques de l'usage des antibiotiques [80].

La désinfection des locaux (chèvrerie, infirmerie,…) et du matériel (machine à traire) de l'élevage permettent de réduire les sources environnementales [27, 80]. Cette désinfection est réalisée à l'aide d'antiseptiques usuels et doit être suivie d'un vide sanitaire avant l'introduction d'un nouveau lot [12]. L'étude menée par McAuliffe et al. (2006) démontrant que certaines souches de *Ma* sont capables de produire des biofilms sur des supports inertes laisse supposer qu'il conviendrait peut être de porter une attention particulière au nettoyage et à la désinfection de la machine à traire et des locaux d'élevage [77].

I.7.3.3 Limitation de la transmission au sein du troupeau.

La limitation de la transmission de l'infection au sein du troupeau inclut deux modalités : entre les adultes et de la mère aux jeunes. La transmission *post partum* de la mère aux jeunes peut être évitée en séparant les jeunes dès la naissance et en leur distribuant du colostrum thermisé ou du colostrum de bovin puis du lait pasteurisé jusqu'au sevrage [14, 80]. Une étude récente menée chez des chèvres indique qu'un traitement thermique du colostrum à 56°C ou 60°C pendant 30 minutes entraîne une réduction significative du nombre de *Ma* viables et qu'aucun *Mmc* viable n'est observé après un traitement de 60 minutes à 60°C [92].

Entre les adultes, la limitation de la transmission concerne avant tout la traite et passe par l'application de mesures classiques : réglage, contrôle et désinfection de la machine à traire, réduction des fluctuations du niveau de vide (entrée d'air au moment de la mise en place et du retrait de la griffe pour éviter le phénomène d'impact), changement régulier des manchons

trayeurs et antisepsie des trayons après la traite avec des produits à base de chlorhexidine [80]. Il est également conseillé de mettre en place un ordre de traite permettant de passer en premier les femelles supposées saines (en particulier les primipares) et en dernier les femelles infectées [62, 80]. La limitation de la transmission par la traite n'est pas suffisante car l'autre voie de transmission majeure est la voie aérophore et cette dernière est très difficile à contrôler. La seule mesure efficace est l'isolement dans un bâtiment séparé et le tarissement précoce des animaux suspects en attente d'être réformés [12].

Plusieurs études suggèrent l'intervention de vecteurs, arthropodes ou acariens piqueurs, dans la transmission des mycoplasmes responsables du Syndrome Agalactie Contagieuse [34, 59, 83]. Ce mode de transmission fortement suspecté implique l'utilisation d'antiparasitaires externes pour lutter contre les arthropodes et acariens des caprins [83].

I.7.4 Situation réglementaire du Syndrome Agalactie Contagieuse :

I.7.4.1 Recommandations internationales.

Dans le cadre des transactions commerciales d'ovins et de caprins, le Code Zoosanitaire International de l'OIE dicte les recommandations suivantes en matière d'Agalactie Contagieuse [88] :

« Les Administrations Vétérinaires des pays importateurs tiennent compte, pour les ovins et les caprins, de la présentation d'un certificat vétérinaire international attestant que les animaux :

• Ne présentaient aucun signe clinique d'Agalactie Contagieuse le jour de leur chargement ;

• Ont séjourné depuis leur naissance, ou durant les 6 mois ayant précédé leur chargement, dans une exploitation dans laquelle aucun cas d'Agalactie Contagieuse n'a été déclaré officiellement pendant cette période ;

• Sont restés en station de quarantaine durant les 21 jours ayant précédé leur chargement. »

I.7.4.2 Réglementation au niveau national.

Pour *Ma*, seuls trois départements français appliquent un plan de prophylaxie formalisé et/ou réglementé : Pyrénées-Atlantiques, Savoie et Haute-Savoie.

Pour les Pyrénées-Atlantiques, un arrêté préfectoral existe (n° 2008-101-20 en date du 10 avril 2008), relatif au programme de lutte contre l'Agalactie Contagieuse des petits ruminants. Récemment, l'arrêté du 24 décembre 2014 modifiant l'arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales place l'Agalactie Contagieuse à *Ma* comme danger sanitaire de deuxième catégorie pour les ovins et les caprins en Aquitaine.

Pour les autres espèces de mycoplasmes responsables du Syndrome Agalactie Contagieuse, il n'existe pas de mesures de prophylaxie sanitaire obligatoire à l'échelon national [15].

II- Situation du Syndrome Agalactie Contagieuse en France :

II.1 Epidémiologie de l'Agalactie Contagieuse en France :

En France, la surveillance épidémiologique des mycoplasmoses des ruminants, dont l'Agalactie Contagieuse fait partie, est assurée par le réseau national de vigilance des mycoplasmoses des ruminants (VIGIMYC).

II.1.1 Présentation du réseau VIGIMYC :

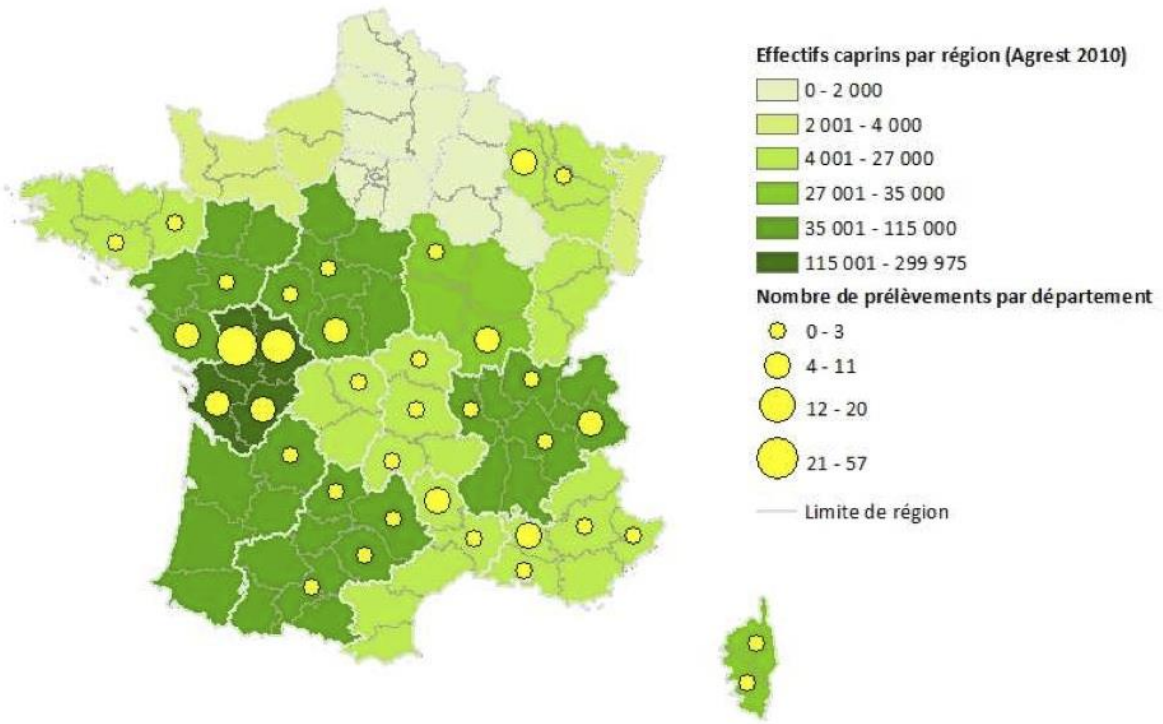
VIGIMYC est un réseau français d'épidémiosurveillance des mycoplasmoses des ruminants en fonctionnement depuis 1995 mais officiellement formalisé en 2003 par la signature d'une charte [23, 24, 101]. Le réseau VIGIMYC est animé par l'UMR mycoplasmoses des ruminants ANSES-VetAgro Sup assistée de l'unité épidémiologie de l'ANSES laboratoire de Lyon. Son comité de pilotage est formé de représentants de plusieurs organisations partenaires : l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) (laboratoires de Lyon, de Niort et de Ploufragan Plouzané), l'association des directeurs et cadres des laboratoires vétérinaires publics d'analyses (ADILVA) représentant les laboratoires participants, la direction générale de l'alimentation (DGAL) représentant l'administration, la société nationale des groupements techniques vétérinaires (SNGTV) représentant les vétérinaires praticiens, la fédération nationale des groupements de défense sanitaire (FNGDS) représentant les éleveurs et l'institut national de la recherche agricole (INRA) représentant la recherche [23, 24]. La participation des laboratoires au réseau VIGIMYC est basée sur le volontariat et l'ANSES laboratoire de Lyon prend en charge gratuitement l'identification des mycoplasmes [24].

Les deux principaux objectifs de ce réseau sont d'identifier les espèces de mycoplasmes isolées chez les ruminants en France et de surveiller une éventuelle réémergence de la Péripneumonie Contagieuse Bovine ou l'émergence de la Pleuropneumonie Contagieuse Caprine [23, 24, 101]. Il permet également de constituer une collection représentative des souches de mycoplasmes circulant chez les ruminants sur l'ensemble du territoire national et de centraliser des données scientifiques et/ou techniques relatives aux mycoplasmes des ruminants [24, 101].

VIGIMYC est un réseau de surveillance passive ou « événementielle », les laboratoires participent sur la base du volontariat et les analyses portent uniquement sur des prélèvements envoyés sur décision des vétérinaires praticiens ou sur l'initiative des laboratoires [23, 101]. La recherche de mycoplasmes n'étant pas une analyse demandée systématiquement, l'information issue de VIGIMYC ne prétend pas donner une situation quantitative précise de l'incidence des mycoplasmoses au niveau national mais plutôt les tendances évolutives. Néanmoins, l'importance de ce réseau est d'apporter des informations sur des pathologies jusqu'à présent difficiles à explorer mais qui représentent une part importante chez les ruminants, et de s'intéresser à toutes les mycoplasmoses : celles économiquement dommageables, celles pouvant ré-émerger ou en émergence, et/ou celles aux conséquences sanitaires majeures. En ce sens l'information obtenue dans le cadre du réseau VIGIMYC est réellement pertinente pour la surveillance des mycoplasmoses sur le territoire [23].

II.1.2 Données sur la fréquence des différentes espèces isolées :

Dans le cadre du réseau VIGIMYC, en 2013, l'ANSES laboratoire de Lyon a reçu et analysé 169 isolats mycoplasmiques d'origine caprine, issus de 125 foyers différents et répartis sur 35 départements (**figure 14**). La région Poitou-Charentes fournit à elle seule 50% des isolats. Sept isolats n'ont pas été identifiés car contaminés ou ne contenant aucun mycoplasme. A partir des 162 prélèvements restant, 167 souches de mycoplasmes ont été identifiées [104].



<u>Figure 14</u> : Répartition des isolats mycoplasmiques reçus pour identification, par département de prélèvement et selon la densité de l'élevage [104]**.**

Les 162 isolats provenaient essentiellement de prélèvements effectués sur des animaux adultes (70% d'adultes, 15% jeunes, 15% non renseignés). La symptomatologie associée n'est pas renseignée dans près d'un quart des isolats reçus. Pour les 75% renseignés, trois principaux symptômes dominent : mammite (36%), pathologie respiratoire (26%), et arthrite (17%) et sont à rapprocher du Syndrome Agalactie Contagieuse des petits ruminants (**tableau VI**) [104].

<u>Tableau VI</u> : Différents symptômes associés à l'isolement de mycoplasmes chez des caprins au cours de l'année 2013 [104].

	Nombre	%
Mammite	55	*34%*
Non renseigné	37	*23%*
Pathologie respiratoire	36	*22%*
Arthrite	20	*12%*
Aucune	4	*2%*
Arthrite; Septicémie	4	*2%*
Arthrite; Mammite	2	*1%*
Pathologie respiratoire; Septicémie	2	*1%*
Arthrite; Pathologie respiratoire	1	*1%*
Mammite; Pathologie respiratoire	1	*1%*
Pathologie respiratoire; Arthrite	0	*0%*
total	**162**	***100,0%***

Les différentes espèces mycoplasmiques caractérisées chez les caprins et leurs fréquences relatives sont présentées dans le **tableau VII**. Les isolats analysés étant issus essentiellement de syndromes évoquant l'Agalactie Contagieuse, il est logique de retrouver en majorité les trois mycoplasmes du groupe « mycoides » (ou affiliés) responsables spécifiquement de cette maladie chez les caprins : *Mmc*, Mcc et *Mp*.

Pour la première fois, *Mcc* devient le mycoplasme pathogène le plus fréquemment isolé chez les caprins. On constate depuis 2008 des fluctuations annuelles importantes dans les proportions d'incidence relative entre les trois agents de l'Agalactie Contagieuse caprine. Globalement la proportion d'Agalacties Contagieuses consécutives à une infection par *Mcc* augmente, celle à *Mp* diminue, tandis que celle à *Mmc* reste stable [104].

<u>Tableau VII</u> : Résultats des identifications de mycoplasmes en 2013 [104].

Mycoplasmes		Nombre de souches	%	% moyen 2009-2013
Pathogène	***M. capricolum* subsp. *capricolum***	57	*34%*	*27%*
Pathogène	***M. mycoides* subsp. *capri***	52	*31%*	*41%*
Opportuniste	*M. arginini*	25	*15%*	*39%*
Pathogène	***M. putrefaciens***	14	*8%*	*12%*
Pathogène?	*M. ovipneumoniae*	11	*7%*	*3%*
Pathogène	***M. agalactiae***	6	*4%*	*4%*
Opportuniste	*M. auris*	2	*1%*	*0,5%*
Pathogène?	*M. mycoides* subsp. *mycoides*	0	*0%*	*0%*
Pathogène?	*M. leachii*	0	*0%*	*0%*
	Total	**167**	**100%**	

II.1.3 Particularités du Syndrome Agalactie Contagieuse en fonction des espèces impliquées :

II.1.3.1 Mycoplasmes du groupe « mycoides » et *Mp*.

L'Agalactie Contagieuse caprine à mycoplasmes du groupe « mycoides » (*Mmc* et *Mcc*) et à *Mp* est très présente sur le territoire national [101, 105]. Elle est majoritairement due à *Mmc* mais le taux annuel d'isolement de *Mcc* fluctue beaucoup et dépasse parfois celui de *Mmc* [101]. De façon sporadique, des foyers cliniques à taux de mortalité élevés éclatent avec, comme agent pathogène unique, un mycoplasme du groupe « mycoides » (*Mmc* le plus souvent) sans que l'on connaisse exactement à ce jour les facteurs déclenchants [101, 102, 105].

Les infections à *Mmc*, *Mcc* ou *Mp* évoluent aussi sous forme de portage asymptomatique [105]. Une étude menée par Mercier et al. (2007) révèle que 26% des caprins provenant de troupeaux sans antécédents de mycoplasmoses depuis au moins cinq ans hébergent des mycoplasmes (principalement *Mmc*, *Mcc* et *Mp*) dans leurs oreilles [79]. Pour ce qui est de l'excrétion asymptomatique dans le lait, une enquête régionale réalisée en 1999-2000 donne une prévalence de 7,4% [121].

II.1.3.2 *Mycoplasma agalactiae*.

L'Agalactie Contagieuse à *Ma* est particulière car deux zones, les Pyrénées Atlantiques, pour les ovins, et les Savoies (Savoie et Haute-Savoie), pour les caprins, constituent d'anciennes régions d'enzootie. Dans les Pyrénées-Atlantiques, des règles de zonage (anneaux épidémiologiques autour des parcelles d'élevages infectés) ont permis d'établir une « zone à risque » et une « zone indemne » en matière d'Agalactie Contagieuse. Dans la « zone à risque », l'infection à *Ma* est caractérisée par une très forte persistance entrecoupée d'importantes flambées épizootiques [69].

Chez les caprins, des foyers sporadiques sont régulièrement observés dans diverses zones d'élevages, confirmant une présence diffuse et à bas bruit de l'Agalactie Contagieuse à *Ma* sur l'ensemble du territoire [101, 105, 129]. Ainsi, en 2012, trois foyers d'Agalactie Contagieuse à *Ma* ont été détectés : un dans le Rhône, un dans les Deux-Sèvres (association de *Ma* et *Mcc*) et un dans l'Ain. Le foyer de l'Ain était complètement atypique pour une infection par *Ma* avec un tableau clinique essentiellement dominé par un syndrome respiratoire grave accompagné d'une très forte mortalité [103].

II.2 Mesures de prophylaxie mises en place en France :

En France, malgré l'autorisation par l'ANSES, depuis juillet 2010, de la vaccination des élevages ovins les plus à risque à l'aide d'un vaccin importé disposant d'une AMM en Espagne, le contrôle de l'Agalactie Contagieuse passe quasi exclusivement par des mesures de prophylaxie sanitaire [21].

II.2.1 Mesures de prophylaxie dans les départements réglementés :

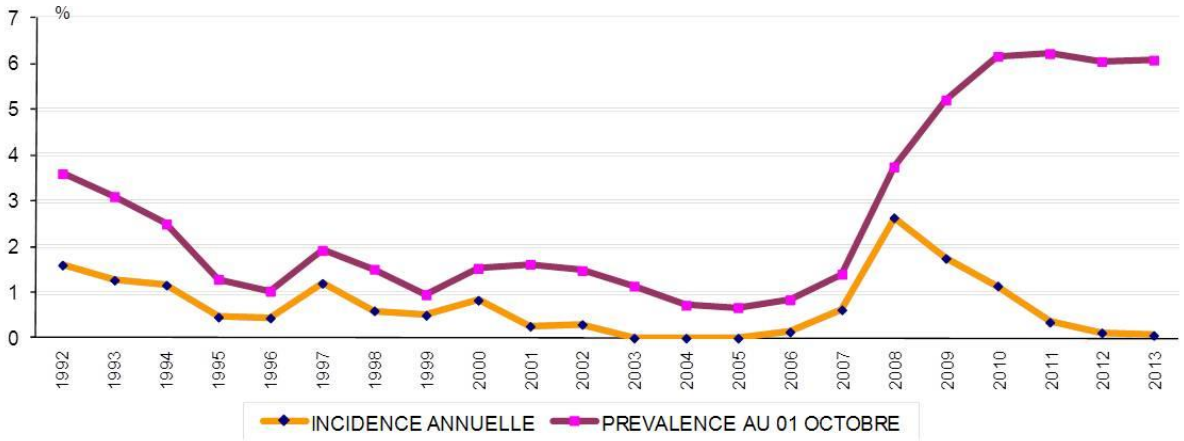
Ces mesures de prophylaxie concernent *Ma* chez les ovins et chez les caprins et les trois départements français à réglementation locale (Pyrénées-Atlantiques pour les ovins et Savoie et Haute-Savoie pour les caprins). Dans les régions d'enzootie, l'objectif est de limiter progressivement l'infection à certaines zones pour, à terme, permettre un assainissement

pérenne. En France, la prophylaxie sanitaire développée depuis le début des années 1990 a permis de réduire fortement la prévalence de l'Agalactie Contagieuse à *Ma* (approximativement de 10 à 0,5% en 15 ans) dans les Savoies et les Pyrénées-Atlantiques [14]. Les modalités de cette prophylaxie sanitaire sont les suivantes : déclaration obligatoire et confirmation étiologique des suspicions cliniques, qualification annuelle exhaustive des troupeaux (réalisée par sérologie ELISA et/ou bactériologie sur laits de tanks et s'appuyant sur les données d'enquêtes épidémiologiques), contrôle des mouvements individuels d'animaux et de troupeaux (isolement des cheptels contaminés par la mise en place de double clôtures, contrôles à l'achat, quarantaine avant introduction, statut du troupeau d'origine, dépistage des lots en transaction, interdictions de transhumance,…), application de mesures d'hygiène et de prévention (pédiluve, désinfection des bâtiments et matériels d'élevage en commun,…) [14, 69].

Compte tenu des contraintes imposées par l'application de ces mesures de prophylaxie, une réglementation départementale (Arrêté Préfectoral) prévoit des indemnisations et des subventions, notamment à travers les Groupements de Défense Sanitaire (GDS) des départements concernés [14, 69].

II.2.1.1 Situation dans les Pyrénées-Atlantiques chez les ovins.

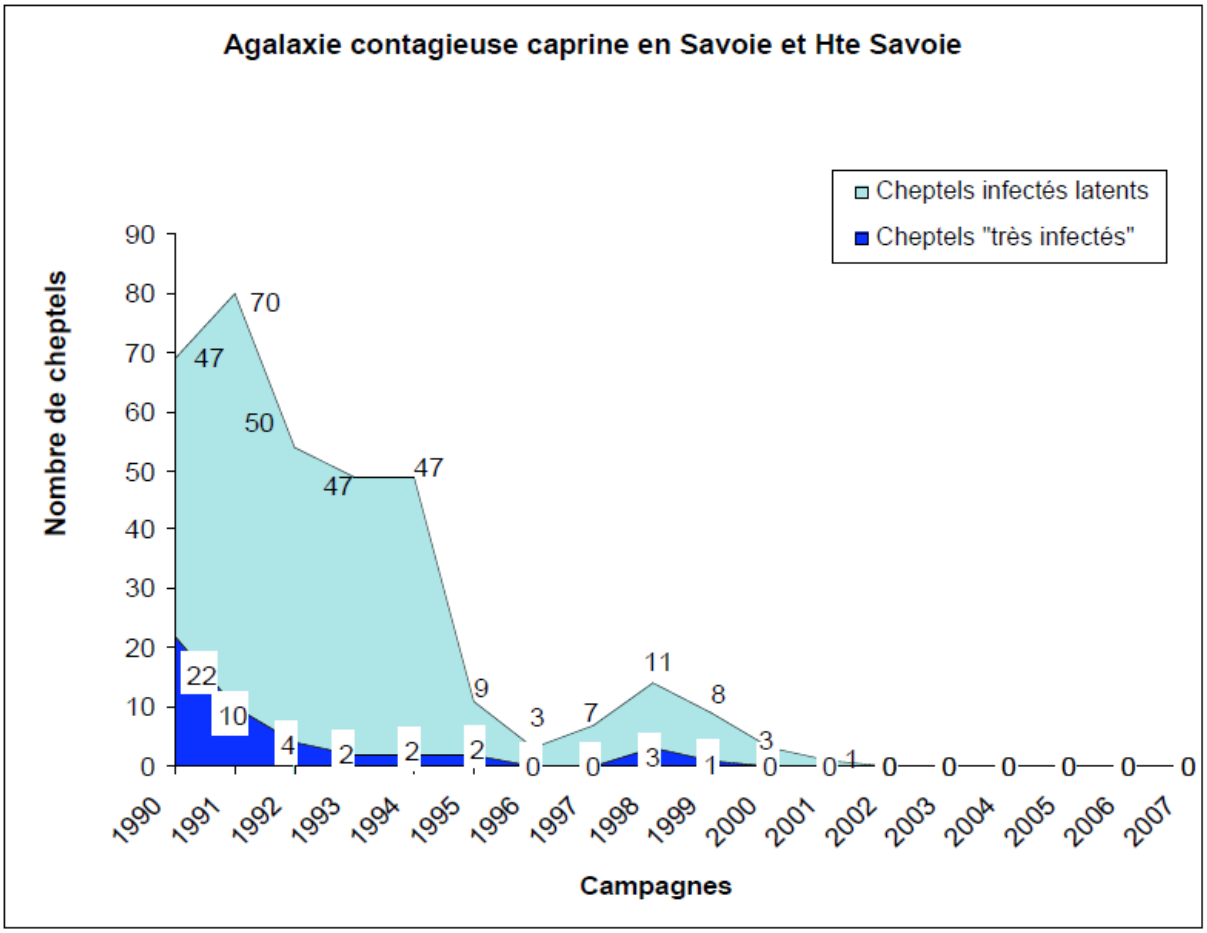
L'incidence et la prévalence de l'Agalactie Contagieuse étaient devenues très faibles en 2006 mais une résurgence massive de la maladie a été observée avec 150 troupeaux atteints fin 2008 (**figure 15**) [69, 105]. L'analyse moléculaire des souches impliquées a indiqué qu'il s'agissait de l'extension du foyer local d'une partie du Pays Basque [105]. Depuis 2009, le nombre de nouveaux cas (incidence) diminue chaque année (40 en 2010, 12 en 2011, 4 en 2012 et 2 en 2013) mais le nombre d'élevages infectés (prévalence) reste trop important (**figure 15**). Ces données confirment que l'Agalactie Contagieuse persiste dans le temps et qu'il est très difficile pour un cheptel de s'assainir rapidement [69, 105].



<u>Figure 15</u> : Incidence et prévalence de l'Agalactie Contagieuse chez les ovins dans les Pyrénées-Atlantiques [69]**.**

II.2.1.2 Situation en Savoie et Haute-Savoie chez les caprins.

Les derniers troupeaux caprins infectés par *Ma* ont été éliminés en 2001 et, depuis, le suivi sérologique régulier a confirmé l'assainissement de la population caprine locale (**figure 16**). A partir de 2003, *Ma* a été isolé à plusieurs reprises sur des cadavres de bouquetins mais l'analyse moléculaire comparative des souches isolées de bouquetins et des souches de l'enzootie caprine locale a démontré qu'il n'y avait aucun lien entre les deux enzooties [105, 120].



<u>Figure 16</u> : Prévalence de l'Agalactie Contagieuse chez les caprins en Savoie et Haute-Savoie [66]**.**

II.2.2 Mesures de prophylaxie dans les autres départements :

Sur le reste du territoire, aucune mesure de prophylaxie n'est appliquée en élevage caprin. Dans ce contexte, la problématique des mouvements d'animaux, notamment en matière d'achats (lors de la reconstruction d'un troupeau par exemple), est essentielle à considérer. Actuellement, hormis la description d'épisodes cliniques de mycoplasmoses, il est impossible de connaître précisément le statut sanitaire d'un troupeau et encore moins celui d'un individu. La première étape de sécurisation des échanges, serait de disposer d'informations sur le statut d'un cheptel vis-à-vis de l'excrétion et de la circulation des mycoplasmes.

III- Comment pourrait-on objectiver le statut d'un cheptel caprin vis-à-vis de l'Agalactie Contagieuse ?

L'évaluation du statut d'un cheptel caprin pourrait passer par la mise en place de prélèvements faciles à réaliser, effectués selon une fréquence adaptée à la détection, en faisant appel à des outils de dépistage fiables.

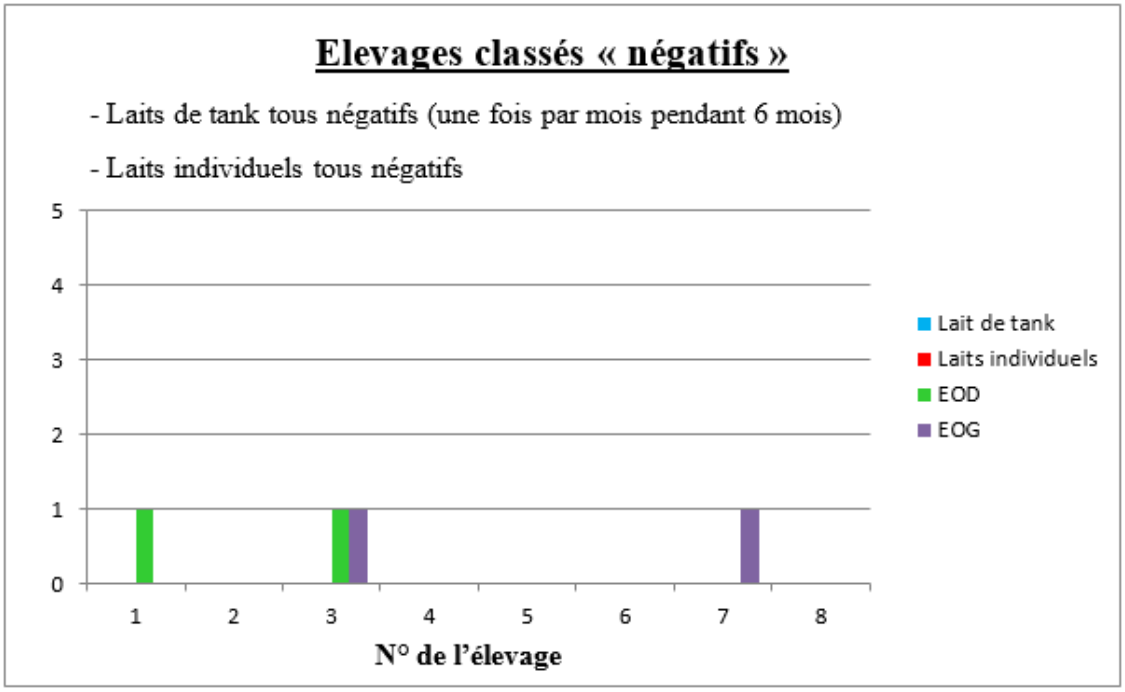
III.1 Avec quels outils analytiques ?

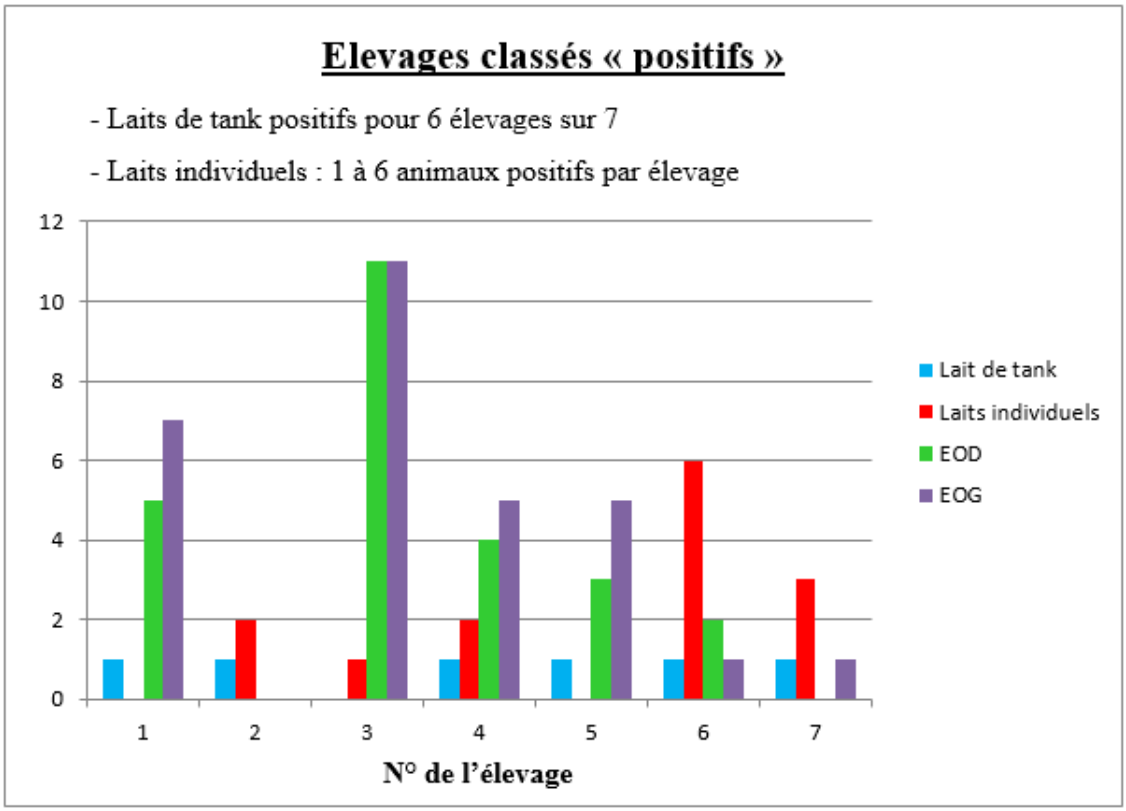
A ce jour, il n'existe pas de tests sérologiques utilisables pour détecter les quatre mycoplasmes de l'Agalactie Contagieuse caprine (uniquement pour *Ma*). La mise en évidence de l'agent pathogène doit donc être réalisée par diagnostic direct. Parmi les outils de diagnostic direct disponibles, la PCR, et ses variantes (PCR multiplex, PCR en temps réel,…), semble être la technique la plus adaptée à ce type de surveillance, de par sa rapidité, sa spécificité et sa sensibilité [3, 8].

III.2 Quels sont les échantillons biologiques les mieux adaptés ?

Les échantillons à récolter doivent présenter trois qualités : facilité de prélèvement, contrôle simultané d'un maximum d'animaux et détection d'une excrétion asymptomatique. Le lait de tank semble correspondre le mieux actuellement à ce type de surveillance [3, 13]. Les avantages du lait de tank sont nombreux : contribution de tous les animaux en lactation pour un même élevage, coût modéré (un seul prélèvement par élevage), facilité de prélèvement,… [13]. Des études sur des troupeaux de brebis ont attesté de la sensibilité « épidémiologique » de cette méthode ; il a été observé qu'une seule femelle excrétrice pouvait positiver un tank [13].

Les résultats d'une enquête réalisée entre 2007 et 2008 sur 15 élevages en suivi dans le cadre d'un projet transversal entre l'ANSES Niort et l'ANSES Lyon viennent corroborer l'intérêt du lait de tank pour identifier les élevages caprins infectés (**figure 17**) (données personnelles : P. Mercier - F. Poumarat).





EOD = écouvillonnage oreille droite ; EOG = écouvillonnage oreille gauche.

Laits individuels : 30 animaux prélevés au hasard dans chaque élevage en suivi.

NB : ne sont comptabilisés que les prélèvements avec espèce(s) pathogène(s).

<u>Figure 17</u> : Résultats de l'enquête réalisée entre 2007 et 2008 dans le cadre d'un projet transversal entre l'ANSES Niort et l'ANSES Lyon (données personnelles : P. Mercier-F. Poumarat).

III.3 Avec quelle fréquence de prélèvement ?

La dynamique d'excrétion des mycoplasmes en élevage caprin a été étudiée par prélèvement d'un échantillon de lait de tank tous les quarante-deux jours pendant cinq mois lors d'une enquête menée par Amores et al. (2012) en Espagne : la positivité des laits de tank n'était pas systématique en présence de mammites à mycoplasmes dans le cheptel et de nombreux échantillons présentaient une positivité intermittente au cours de l'étude. Cela confirme la nécessité d'effectuer des prélèvements répétés dans le temps afin d'éviter les « faux négatifs » [3]. Cependant, aucune étude n'a actuellement permis d'établir quelle est la meilleure fréquence de prélèvement, c'est-à-dire combien de prélèvements sont nécessaires dans le temps pour identifier et suivre au mieux le statut d'un élevage. Ce sera l'objet de notre partie expérimentale.

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

En l’absence de mesures de contrôle à l’introduction dans un cheptel, la problématique des mouvements d’animaux apparaît donc comme l’un des points essentiels de la lutte contre l’Agalactie Contagieuse caprine. Compte tenu de l’existence de porteurs asymptomatiques et du fait qu’il n’est pas envisageable économiquement, et techniquement, de tester individuellement chaque animal entrant dans un cheptel, les premières mesures à mettre en œuvre doivent intervenir à l’échelle des troupeaux afin de mieux sécuriser les échanges.

Actuellement il n'existe aucune mesure de contrôle (volontaire ou obligatoire) du statut sanitaire des cheptels caprins vis-à-vis des infections à mycoplasmes. Il serait donc intéressant de disposer d'une méthode standardisée et fiable permettant d'avoir une première approche du statut sanitaire des troupeaux caprins vis-à-vis des infections à mycoplasmes, hors épisode clinique, et qui permettrait de classer les troupeaux en « troupeaux à risque élevé » ou « troupeaux à risque faible ».

Cette approche passe par un contrôle régulier du lait de tank mais à une fréquence qu'il convient d'établir ; ce sera la base de notre travail expérimental. Compte tenu des variations régionales des pratiques d'élevage caprin (taille des troupeaux, durées de lactation, …), ce travail a été conduit simultanément dans deux grands bassins de production caprine : la région Rhône-Alpes et la région Poitou-Charentes.

Les données présentées dans cette partie concernent uniquement la région Poitou-Charentes. Ce travail expérimental est issu d’une collaboration entre l’ANSES laboratoire de Niort, le Laboratoire d’Analyses Sèvres Atlantique de Niort (LASAT) et l’UMR Mycoplasmoses des Ruminants ANSES Lyon-VetAgro Sup. Différents partenaires professionnels de la filière caprine sont également impliqués : l’observatoire régional des maladies caprines (OMACAP), les contrôles laitiers et les GDS des quatre départements de la région Poitou-Charentes (Charente, Charente-Maritime, Deux-Sèvres et Vienne).

I- Objectifs :

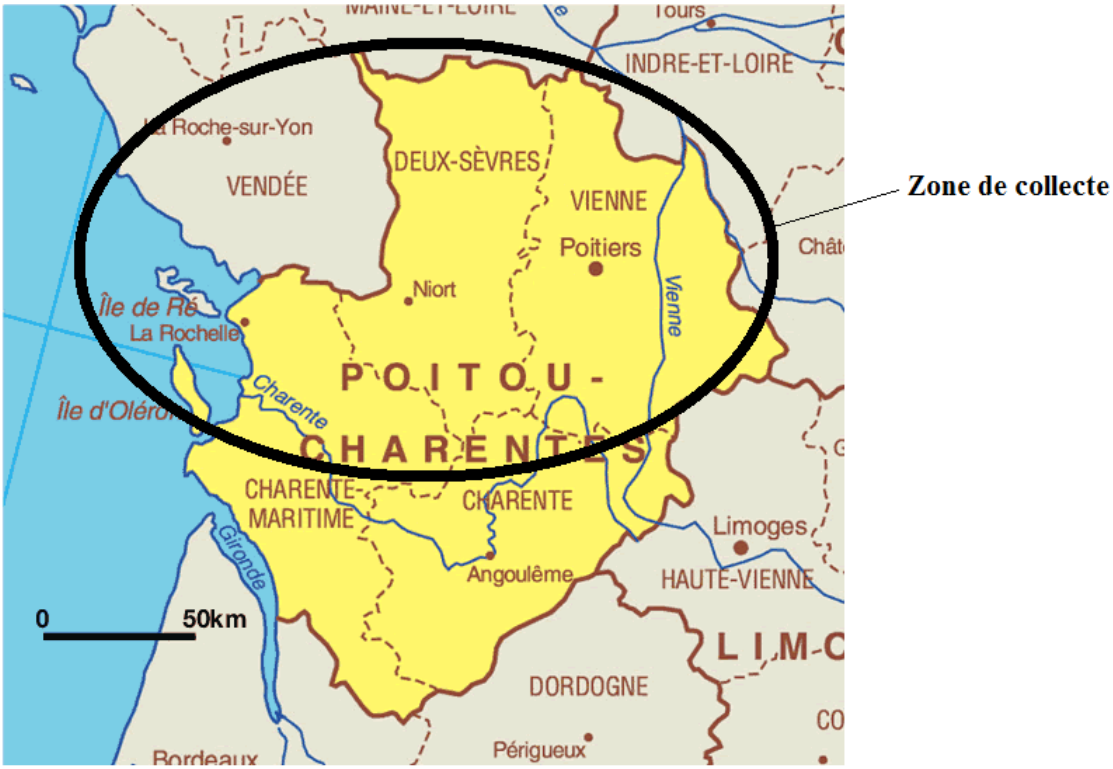
L'objectif de ce travail est de pouvoir déterminer, sur la base expérimentale d'un suivi mensuel, quelle serait la fréquence de prélèvement la plus adaptée pour pouvoir suivre au mieux le statut d'un élevage. En effet, ce protocole devra permettre, sur un prélèvement facile à obtenir comme le lait de tank, de pouvoir suivre, en continu et de manière fiable, l'excrétion mammaire d'un cheptel infecté, tout au long de sa lactation. Les troupeaux caprins pourront ainsi être identifiés comme « troupeau à risque élevé » ou « troupeau à risque faible ». Néanmoins, ce projet ne vise qu'à définir une méthode et un protocole de suivi, il ne s'agit en aucun cas de proposer un schéma de certification de troupeau et encore moins de garantir ainsi le statut individuel des animaux.

Parallèlement à cette validation de protocole, l'échantillonnage de lait de tank collecté sera mis à profit pour la validation de l'utilisation du buvard FTA® Elute comme support d'échantillon biologique pour la collecte du lait. Ce type de support permet un acheminement plus facile des échantillons au laboratoire en s'affranchissant des problèmes de conditionnement et de conservation.

II- Matériel :

II.1 Zone géographique et durée de l'étude :

L'étude est réalisée sur une durée totale de deux ans, d'avril 2014 à avril 2016, dans dix élevages caprins laitiers sélectionnés dans les deux grands départements caprins de la région Poitou-Charentes : les Deux-Sèvres (79) et la Vienne (86), mais aussi dans le département de la Vendée (85) appartenant à la région des Pays de la Loire. La zone de collecte ainsi délimitée est représentée sur la **figure 18**.



<u>Figure 18</u> : Détail de la zone de collecte au sein des régions Poitou-Charentes et Pays de la Loire.

II.2 <u>Sélection des élevages mis en suivi dans la population cible</u> :

L'objectif de cette étude était d'avoir au final et *a minima* 10 élevages ayant eu :

- Un épisode clinique de mycoplasmose au moins dans les deux mois précédents
- Et/ou un prélèvement de lait de tank positif avant démarrage du protocole

Ces dix élevages devaient se répartir à part égales entre les deux principales catégories de conduite d'élevages suivantes : type "hors-sol" et élevage avec "pâturage".

II.2.1 1ère étape – sélection des élevages ayant présenté un épisode clinique récent de mycoplasmose :

Au démarrage de l'étude, début 2014, la première étape a consisté à sélectionner, à l'aide des données des organismes de contrôle laitier, des élevages caprins ayant présenté un épisode clinique récent de mycoplasmose. Douze élevages ont alors été retenus et, pour chacun de ces

élevages, un prélèvement de lait de tank a été réalisé afin de repérer les élevages « positifs ».

II.2.2 2ème étape – sélection des élevages dont l'échantillon de lait de tank est positif :

Afin d'identifier les élevages « positifs », une analyse par PCR en temps réel (Q-PCR dont la technique est décrite au paragraphe III.2.2) a été réalisée directement sur le lait de tank de chaque élevage. Parmi les douze laits de tank analysés, deux se sont révélés négatifs et les élevages correspondant ont donc été écartés de l'étude. Les résultats des analyses par Q-PCR des dix laits de tank positifs correspondant aux dix élevages « positifs » finalement inclus dans l'étude sont présentés dans le **tableau VIII** (les dix élevages sont codifiés par des lettres allant de A à J). Un élevage, de statut ambigu : Q-PCR directe sur lait négative et Q-PCR sur buvard positive, a cependant été conservé pour l'étude.

Tableau VIII : Résultats des analyses par Q-PCR des 10 laits de tank positifs correspondant aux 10 élevages « positifs » inclus dans l'étude.

Elevage (lait de tank)	Date du prélèvement d'inclusion	Résultat de la Q-PCR directement sur lait de tank (CT)	Résultat de la Q-PCR sur buvard FTA® Elute (CT)	Type de mycoplasme identifié
A	27/03/14	POSITIF (27,14)	NR	*Ma* / Groupe « mycoides »
B	27/03/14	POSITIF (25,94)	NR	Groupe « mycoides »
C	27/03/14	POSITIF (32,22)	NR	Groupe « mycoides »
D	27/03/14	POSITIF (36,53)	NR	Groupe « mycoides »
E	28/03/14	POSITIF (32,86)	NR	Groupe « mycoides »
F	28/03/14	POSITIF (25,62)	NR	Groupe « mycoides »
G	28/03/14	POSITIF (24,07)	NR	Groupe « mycoides »
H	30/04/14	POSITIF (26,68)	POSITIF (26,65)	Groupe « mycoides »
I	30/04/14	négatif	POSITIF (37,26)	Groupe « mycoides »
J	30/04/14	POSITIF (19,53)	POSITIF (20,67)	Groupe « mycoides »

NR : analyse non réalisée ; *Ma* : *Mycoplasma agalactiae* ; CT : Cycle Threshold ; Q-PCR : PCR en temps réel.

Pour chacun des dix élevages inclus dans l'étude, une fiche descriptive a été remplie (annexe 1). Les informations à renseigner concernaient entre autres : les caractéristiques zootechniques de l'élevage, les modalités de conduite d'élevage, la gestion de la reproduction, les problèmes sanitaires et leur gestion. Les typologies d'élevages seront analysées par rapport aux différentes cinétiques d'excrétion observées, ceci afin d'identifier d'éventuels événements d'élevage apparaissant comme des dénominateurs communs. Les principales caractéristiques des dix élevages caprins laitiers retenus sont présentées dans le **tableau IX**.

Tableau IX : Caractéristiques des 10 élevages caprins laitiers inclus dans l'étude.

Elevage	Dép.[1]	Race(s)	Effectif laitières[2]	Date[3]	Signes observés
A	79	Alpine et Saanen	160	Avr-2013	Mammaires + + + Respiratoires + / –
B	86	Saanen	304	Nov-Dec 2013	Arthrites chez les jeunes
C	79	Saanen	146	Janv-Fev 2013	Mammaires, respiratoires et articulaires
D	86	Saanen	504	Janv-Fev 2015	Arthrites chez les chevrettes et les adultes
E	79	Alpine et Saanen	760	Avr-2013	Arthrites chez les jeunes
F	79	Saanen	270	Sept-2013	Mammaires
G	79	Saanen	1200	Dec 2013 - Janv 2014	Mammaires et articulaires
H	85	Saanen	590	Juillet 2012	Mammaires, respiratoires et articulaires
I	85	Saanen	550	2013	Respiratoires et articulaires (arthrites chez les chevrettes)
J	79	Alpine et Saanen	1300	2013	Mammaires (+++), respiratoires (+ / –) et articulaires (+ / –)

[1] : département ; [2] : nombre de chèvres laitières à la date du prélèvement ; [3] : date du dernier épisode de mycoplasmose.

II.3 Les prélèvements :

Dans chaque élevage, les prélèvements de lait de tank sont réalisés une fois par mois pendant deux ans. Ces échantillons de lait sont prélevés directement dans le tank à lait, en

utilisant un flacon stérile de 50 mL. Le flacon est ensuite identifié par un code correspondant à l'élevage et au numéro du prélèvement (Ex Px pour l'élevage x et le prélèvement n°x). Le prélèvement est ensuite placé dans une glacière contenant des accumulateurs de froid et transporté sous couvert du froid au laboratoire de Niort (LASAT).

III- Méthodes :

III.1 Protocole de suivi des élevages :

Chaque mois, lors de la visite de prélèvement du lait de tank, une fiche dite « de suivi » est remplie et jointe à l'échantillon de lait de tank mensuel (annexe 2). Cette fiche permet de suivre tout événement sanitaire (pathologies apparues, traitements instaurés,…) ou d'élevage (mise-bas, réformes, introductions,…) survenu au cours du mois précédent. Cela permet également de préciser, pour chaque échantillon, le nombre de traites présentes dans le tank au moment du prélèvement.

III.2 Analyse des échantillons de lait de tank :

III.2.1 Traitement des laits de tank :

Dès leur arrivée au laboratoire LASAT de Niort, les échantillons de lait de tank sont placés au réfrigérateur (à 4°C) et traités dans les deux jours qui suivent.

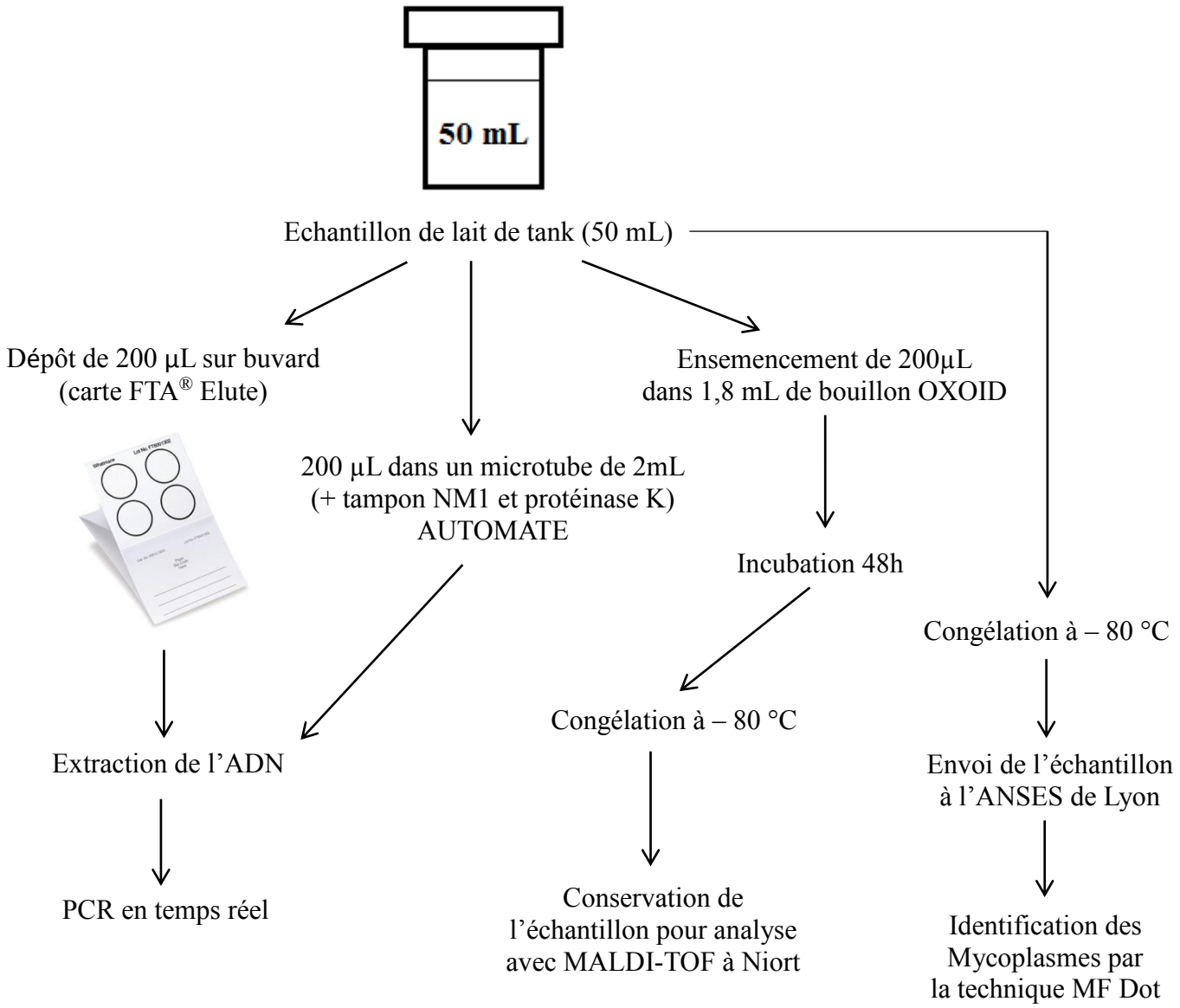
En premier, 200 µl (4 x 50 µl) de ce lait de tank sont déposés sur le buvard FTA® Elute (FTA Elute cards Whatman, produits par le laboratoire GE Healthcare Life Sciences) (**figure 19**). Après séchage, le buvard est mis dans un sachet plastique et conservé à température ambiante jusqu'à analyse par PCR.

<u>Figure 19</u> : Buvard FTA® Elute.

Simultanément, 200µl sont traités pour une analyse PCR directe (cf. ci-dessous § XX) et 200µl sont mis en culture (cf. ci-dessous § XX).

Puis, pour chaque échantillon, 2 mL de lait sont congelés à – 80°C ; cet aliquote servira ultérieurement pour un envoi simultané de tous les échantillons à l'ANSES de Lyon pour identification bactérienne. Parallèlement, une culture est réalisée (200 µL dans 1,8 mL de bouillon OXOID) puis congelée en vue d'une identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

Les différentes analyses réalisées sur les laits de tank sont résumées ci-dessous dans la **figure 20**.



<u>Figure 20</u> : Résumé du protocole de traitement des laits de tank.

III.2.2 Mise en culture des échantillons de lait de tank :

Pour l'isolement des mycoplasmes, le milieu OXOID a été utilisé ; sa composition est fournie en annexe 3. Après préparation et stérilisation, ce milieu est complémenté avec le supplément sélectif G pour mycoplasmes OXOID (annexe 4).

Pour chaque échantillon de lait de tank, un ensemencement en bouillon est réalisé, sans dilution, et incubé pendant 48h sous atmosphère 5% de CO_2. Après incubation, ce bouillon est

congelé à – 80°C et acheminé à l'ANSES Lyon pour repiquage et, si présence de mycoplasmes, pour identification des espèces isolées par méthode immuno-enzymatique (MF Dot).

III.2.3 PCR en temps réel (Q-PCR) :

Pour chaque échantillon de lait, une première PCR en temps réel est réalisée directement sur le lait de tank (extraction de l'ADN directement sur 200 µL de lait) et une seconde sur le support buvard FTA® Elute (dépôts de 50 µL de lait par spots). Le protocole d'extraction de l'ADN à partir du buvard FTA® Elute est fourni en annexe 5.

Le test PCR en temps réel utilisé est le kit PCR LSI Vetmax Triplex Contagious Agalactia MA & MM (Life Technologies, France) dont la technique repose sur le ciblage de deux gènes de ménages : polC pour *Ma* et fusA pour le groupe « mycoides » au sens large (*Mmc*, *Mcc* et *Mp*) [10].

III.2.4 Isolement et identification des mycoplasmes :

Le test Q-PCR utilisé ne permettant pas d'identifier individuellement les espèces du groupe « mycoides », pour chaque lait positif en PCR, l'analyse est poursuivie, à l'ANSES de Lyon, par l'isolement et l'identification sérologique (MF dot) des espèces de mycoplasmes présentes.

Cette étape permet également la sauvegarde et la mise en collection des souches pour des études ultérieures.

IV- Résultats :

L'étude étant conduite sur deux ans, les résultats présentés ci-dessous ne sont que partiels car ils ne portent que sur les 12 premiers prélèvements, soit une année de suivi.

IV.1 Intervalle moyen entre les prélèvements :

L'intervalle moyen entre les prélèvements a été calculé, à l'aide du logiciel R, à partir du nombre de jours séparant deux prélèvements successifs :

mean	sd	0%	25%	50%	75%	100%	n
31.87069	6.553499	19	27	29	36	48	116

Pour les 10 élevages, le nombre moyen de jours séparant deux prélèvements est de 31.9, avec un écart type de 6.6, ce qui correspond bien à l'objectif de départ de faire des prélèvements mensuels.

IV.2 Nombre de traites dans le tank au moment du prélèvement :

Le nombre moyen de traites dans le tank au moment du prélèvement réalisé mensuellement dans chaque élevage a été calculé, à l'aide du logiciel R :

Moyenne	Ecart type	0%	25%	50%	75%	100%	n
2.814655	1.514467	1	1	3	4	6	116

Pour les 10 élevages, le nombre moyen de traites dans le tank au moment du prélèvement est de 2.8, avec un écart type de 1.5.

IV.3 Résultats des analyses par Q-PCR réalisées directement sur lait de tank :

Les résultats des analyses par PCR en temps réel directement sur lait de tank des 10 élevages en suivi mensuel sont présentés dans le **tableau X**.

Tableau X : Résultats des analyses par Q-PCR sur lait de tank des 10 élevages en suivi.

	05/14	06/14	07/14	08/14	09/14	10/14	11/14	12/14	01/15	02/15	03/15	04/15
A	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
E	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
J	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ces résultats mettent en évidence, pour 6 élevages sur 10, une certaine constance d'excrétion dans le lait au cours de l'année. Ainsi, plus de la moitié des élevages (6/10) ne présente aucune variation dans l'excrétion des mycoplasmes dans le lait de tank sur la durée du suivi, avec cinq élevages dont les résultats sont toujours positifs et un élevage dont les résultats sont toujours négatifs.

IV.4 Variations d'excrétion des mycoplasmes :

Pour chaque élevage, l'excrétion des mycoplasmes dans le lait de tank est représentée sous forme de courbe avec, pour chaque prélèvement positif, l'espèce ou le groupe mycoplasmique identifié par Q-PCR. Les différentes courbes obtenues permettent de classer les élevages en quatre grands groupes : les élevages dont tous les prélèvements sont négatifs (groupe 1), les élevages dont tous les prélèvements sont positifs (groupe 2), les élevages présentant des prélèvements ponctuellement négatifs (groupe 3) et les élevages présentant à la fois des périodes de prélèvements positifs et des périodes de prélèvements négatifs (groupe 4).

IV.4.1 Elevages « négatifs » :

Un seul élevage (I) est « négatif » tout au long de l'étude.

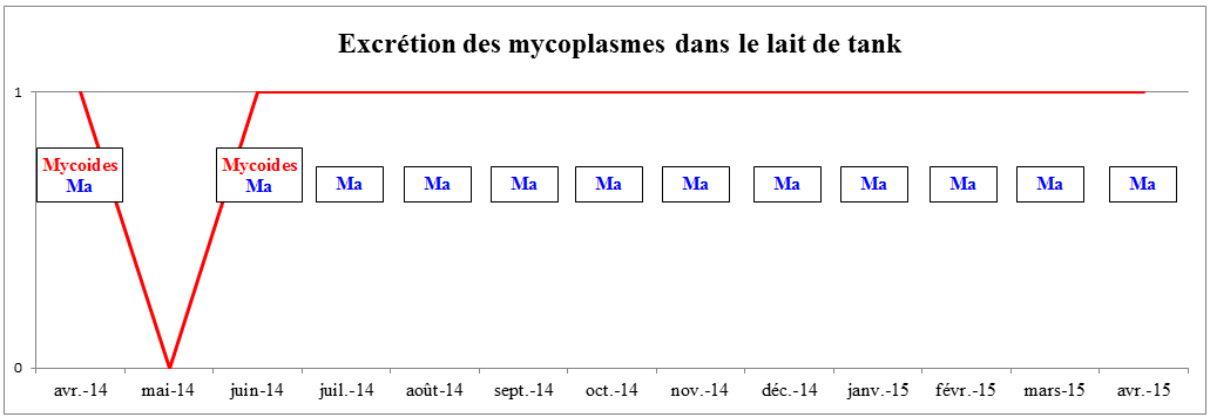
IV.4.2 Elevages « positifs » :

Cinq élevages (C, F, G, H et J) sur dix sont « positifs » tout au long de l'étude.

IV.4.3 Elevages présentant des variations ponctuelles d'excrétion :

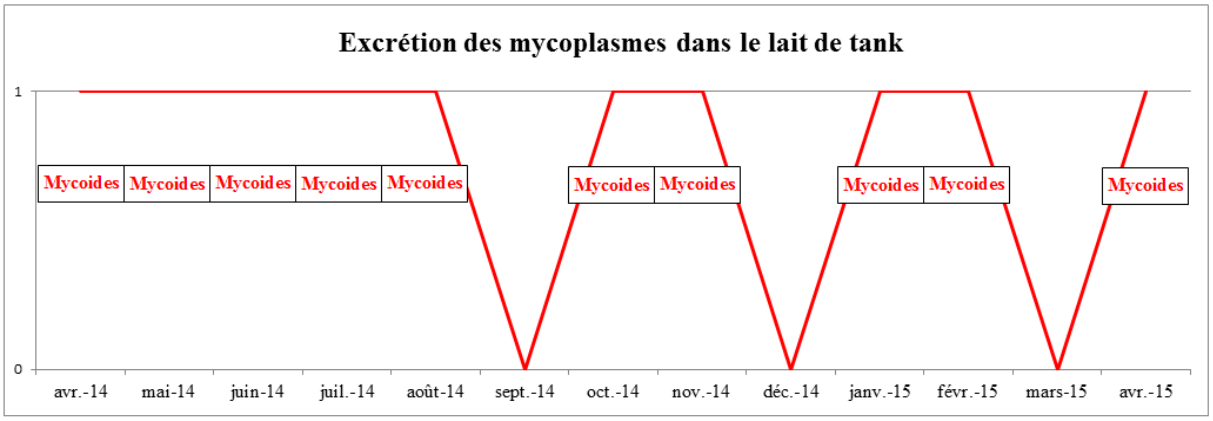
Deux élevages (A et B) présentent des variations ponctuelles d'excrétion des mycoplasmes dans le lait de tank au cours de l'étude. Les courbes obtenues pour ces deux élevages sont présentées dans la **figure 21**.

Elevage A



Mycoides : Q-PCR positive vis-à-vis du groupe Mycoides ; *Ma* : Q-PCR positive vis-à-vis de *Mycoplasma agalactiae*.

Elevage B



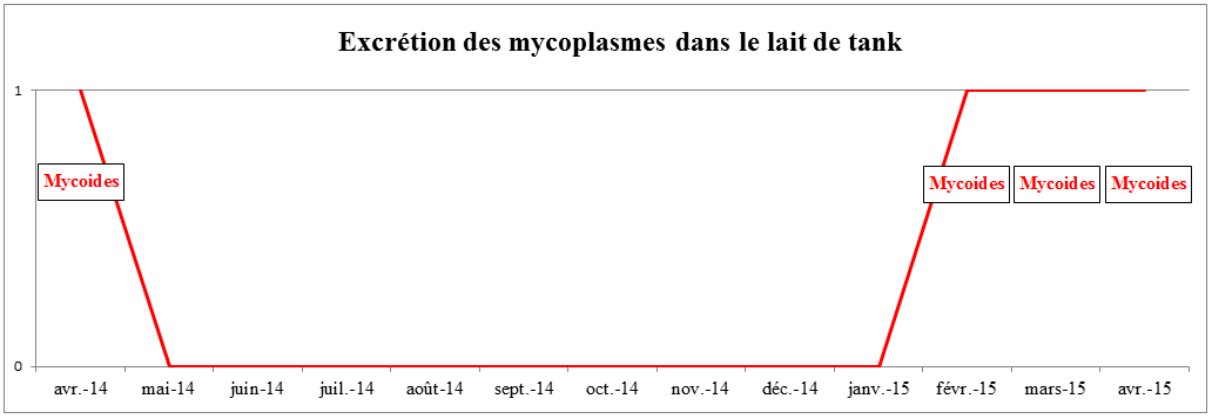
Mycoides : Q-PCR positive vis-à-vis du groupe Mycoides.

Figure 21 : Courbes d'excrétion des mycoplasmes obtenues pour les élevages A et B.

IV.4.4 Elevages alternant des périodes d'excrétion et des périodes de non-excrétion :

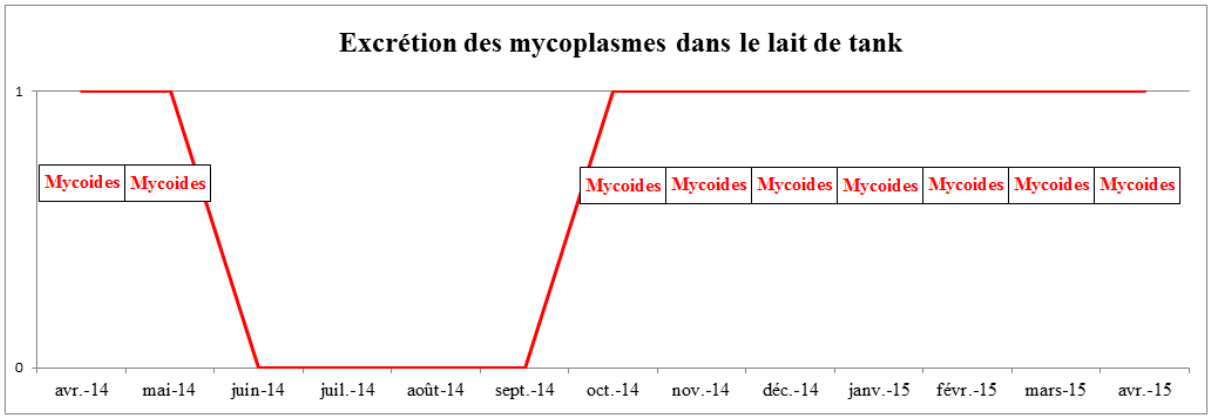
Deux élevages (D et E) présentent une alternance de périodes d'excrétion et de non-excrétion des mycoplasmes dans le lait de tank au cours de l'étude. Les courbes obtenues pour ces deux élevages sont présentées dans la **figure 22**.

Elevage D



Mycoides : Q-PCR positive vis-à-vis du groupe Mycoides.

Elevage E



Mycoides : Q-PCR positive vis-à-vis du groupe Mycoides.

Figure 22 : Courbes d'excrétion des mycoplasmes obtenues pour les élevages D et E.

IV.5 Excrétion des mycoplasmes et taux cellulaire du tank :

Pour évaluer l'impact de l'excrétion des mycoplasmes dans le lait sur le taux cellulaire du tank, nous avons comparé, à l'aide du logiciel R, les moyennes des taux cellulaires du mois précédent un prélèvement positif et celles du mois précédent un prélèvement négatif.

	Moyenne	Ecart type	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	n
NEG	2.218519	0.7301407	1.0	1.4	1.6	2.1	2.6	4.7	27
POS	2.342045	1.3857834	0.6	0.9	1.8	2.0	2.4	10.0	88

La moyenne des taux cellulaires du mois précédent un prélèvement négatif est de 2.2×10^5 cellules/mL (pour n= 27). La moyenne des taux cellulaires du mois précédent un prélèvement positif est de 2.3×10^5 cellules/mL (pour n= 88). Ces deux moyennes sont proches mais nous allons les comparer à l'aide du logiciel R.

Pour utiliser un test de comparaison de moyennes, il convient de vérifier si les conditions d'application sont remplies. La taille de l'échantillon des taux cellulaires du mois précédent un prélèvement négatif étant inférieure à 30 valeurs (n = 27), on teste sa normalité grâce au test de Shapiro-Wilk. La taille de l'échantillon des taux cellulaires du mois précédent un prélèvement positif étant supérieure à 30 valeurs (n = 88), on teste sa normalité grâce au test d'Agostino :

```
Test de normalité de Shapiro-Wilk :
data:  NEG$CMT
W = 0.87088, p-value = 0.00307

Test de normalité d'Agostino :
data:  POS$CMT
skew = 4.1208, z = 8.3217, p-value < 2.2e-16
alternative hypothesis: data have a skewness
```

Pour les deux échantillons, la p-value est inférieure à 0.05 donc les distributions des valeurs ne peuvent pas être considérées comme normales. Ainsi, on utilise le test non paramétrique de Wilcoxon pour comparer les moyennes des deux échantillons :

```
Test des rangs signés de Wilcoxon avec correction de continuité :
data:  CMT by résultat
W = 1223, p-value = 0.8195
alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

La p-value est supérieure à 0.05 donc les taux cellulaires des tanks ne sont pas significativement différents selon que des mycoplasmes circulent ou non dans l'élevage, au risque 5%.

IV.6 Influence des paramètres de conduite d'élevage :

Pour évaluer l'impact des différents paramètres de suivi des élevages sur l'excrétion des mycoplasmes dans le lait, nous avons comparé les fréquences observées dans les quatre groupes d'élevages définis précédemment (1, 2, 3 et 4) en construisant des tables de contingence et en utilisant le test exact de Fisher, à l'aide du logiciel R. Le tableau XI regroupe les résultats obtenus :

Tableau XI : Résultats des comparaisons de fréquences réalisées avec le logiciel R.

Paramètre de suivi	p-value	Conclusion
Mise à la reproduction des animaux	0.4924 *	Pas d'influence significative
Introduction d'animaux	0.2335 *	Pas d'influence significative
Réforme d'animaux	0.3023 *	Pas d'influence significative
Tarissement d'animaux	0.8415 *	Pas d'influence significative
Changement alimentaire qualitatif	0.1786 *	Pas d'influence significative
Curage du bâtiment d'élevage	0.4987 *	Pas d'influence significative
Réorganisation de lots	0.1424 *	Pas d'influence significative

* p-value > 0.05 donc non significatif au risque 5%.

Pour tous les paramètres de suivi, la p-value est supérieure à 0.05 donc les fréquences de présence ou d'absence de ces paramètres ne sont pas significativement différentes dans les quatre groupes d'élevages, au risque 5%. On peut donc supposer que tous ces paramètres n'ont pas d'influence sur l'excrétion des mycoplasmes dans le lait.

IV.7 Validation du support buvard FTA® Elute :

Une analyse comparative des résultats Q-PCR sur buvard FTA® Elute et matrice lait a été faite afin d'évaluer la qualité du support buvard comme outil permettant d'améliorer la procédure de réalisation et d'acheminement des prélèvements de lait. Pour cela, nous avons construit une table de concordance et utilisé le test de McNemar, à l'aide du logiciel R :

Table de concordance :

```
                PCR lait
PCR buvard      NEG POS
           NEG   27   4
           POS    2  87
```

Test de McNemar avec correction de continuité :

```
data:  tconcordance
McNemar's chi-squared = 0.16667, df = 1, p-value = 0.6831
```

La p-value est supérieure à 0.05 donc il n'y a pas de différence significative entre les deux supports traités par Q-PCR, au risque 5%. Le support buvard FTA® Elute est ainsi considéré comme valide pour la détection des mycoplasmes par Q-PCR.

V- Discussion :

L'objectif de ce travail était, sur la base d'un suivi mensuel des laits de tank d'une dizaine d'élevages caprins, de tenter de définir un protocole permettant d'évaluer l'état sanitaire des troupeaux. Ce protocole devant permettre, sur un prélèvement facile à obtenir comme le lait de tank, de pouvoir suivre en continu et de manière fiable, l'excrétion mammaire d'un cheptel infecté tout au long de sa lactation.

Pour sélectionner des élevages ayant présenté un épisode clinique récent de mycoplasmose, nous avons utilisé les données des organismes de contrôle laitier des élevages caprins des régions Poitou-Charentes et Pays de la Loire. Ce mode de sélection s'est révélé tout à fait adapté puisqu'il a permis d'identifier douze élevages ayant présenté un épisode clinique récent de mycoplasmose. Sur ces douze élevages, dix se sont révélés « positifs » (PCR en temps réel sur lait de tank et/ou sur buvard FTA® Elute positive). Ces dix troupeaux sont de taille variable allant de 146 à 1300 chèvres laitières en production avec une traite exclusivement mécanique. Dans ces élevages, la totalité du lait est vendu à une laiterie et il n'y a pas de véritable « période sèche » car toutes les chèvres ne sont pas taries au même moment. L'objectif initial d'avoir 50 % d'élevages « hors sol » et 50 % d'élevages « avec pâturage » n'a pas pu être atteint. En effet, les dix élevages « positifs » sont de type « hors sol » car il y a très peu d'élevages « avec pâturage » dans les régions Poitou-Charentes et Pays de la Loire.

La dynamique de l'excrétion mammaire de *Ma* dans le lait de tank chez des brebis laitières a récemment été évaluée par une équipe de chercheurs espagnols. Cette étude, basée sur plusieurs prélèvements mensuels successifs, met en évidence l'intermittence de l'excrétion mammaire avec plus d'un quart des élevages « positifs » lors du premier prélèvement se révélant « négatifs » lors du prélèvement suivant [8]. Chez les caprins, la dynamique d'excrétion mammaire des mycoplasmes a été étudiée récemment par prélèvement d'un échantillon de lait de tank tous les quarante-deux jours pendant cinq mois lors d'une enquête menée en 2012 en Espagne. La positivité des laits de tank n'était pas systématique en présence de mammites à mycoplasmes dans le troupeau et de nombreux échantillons présentaient une positivité intermittente au cours de l'étude [3].

Compte tenu des données bibliographiques ci-dessus, nous avons choisi, pour notre étude, une fréquence de prélèvement plus élevée et une période d'étude plus longue. Ainsi, pour

les dix élevages en étude, le suivi de l'excrétion mycoplasmique a été réalisé à partir d'un prélèvement de lait de tank mensuel sur une période d'un an.

Bien que pour 50 % des élevages (5/10) l'excrétion est stable sur une année, les courbes obtenues soulignent le caractère intermittent de l'excrétion des mycoplasmes dans le lait. En outre, ces variations de « positivité » s'avèrent ponctuelles (cf. **figure 21**) ou sur des périodes plus ou moins longues (cf. **figure 22**). Sur la base de ces données préliminaires, il semble difficile de pouvoir diminuer de beaucoup la fréquence des prélèvements. Néanmoins, le coût d'une telle surveillance risque de représenter un frein à sa mise en place. L'alternative qui pourrait être envisagée serait, après avoir analysé la « typologie d'excrétion » de chaque élevage (sur une année complète), d'adapter au cas par cas la fréquence de prélèvement. En plus systématique, il pourrait aussi être proposé de passer à un prélèvement tous les deux mois, ou de renforcer la fréquence de prélèvement autour de périodes critiques comme la mise bas, le pic de lactation ou la période précédant le tarissement. Ces propositions devront bien entendu être, au préalable, validées sur le terrain.

L'impact de l'excrétion des mycoplasmes dans le lait sur le taux cellulaire du tank a été évalué en comparant les moyennes des taux cellulaires du mois précédent un prélèvement positif et un prélèvement négatif. Notre analyse statistique indique que les taux cellulaires des tanks ne sont pas significativement différents selon que des mycoplasmes circulent ou non dans l'élevage, au risque 5 %. Ce résultat est en accord avec les données bibliographiques précisant que dans les troupeaux où les formes subcliniques dominent, la qualité du lait (pourcentage de matière grasse, protéines totales, lactose, taux cellulaire,…) ne semble pas affectée par la présence des mycoplasmes [28, 37].

L'impact des différents évènements d'élevage sur l'excrétion des mycoplasmes dans le lait a été évalué en comparant les fréquences de présence ou d'absence de ces paramètres, en construisant des tables de contingence et en utilisant le test exact de Fisher. Pour tous les paramètres évalués (mise à la reproduction, introduction d'animaux, réforme d'animaux, tarissement d'animaux, changement alimentaire qualitatif, curage du bâtiment d'élevage et réorganisation de lots), les fréquences de présence ou d'absence de ces paramètres ne sont pas significativement différentes dans les quatre groupes d'élevages et on peut donc supposer que tous ces paramètres n'ont pas une influence systématique et directe sur l'excrétion des mycoplasmes dans le lait.

Comme certains auteurs le suggèrent, on aurait pu s'attendre à ce que le curage du bâtiment d'élevage permette de réduire les sources environnementales de mycoplasmes [27, 80] et notamment l'éventuelle formation de biofilms [77]. Par ailleurs, les mouvements d'animaux (introduction ou réforme) ou encore le stress (tarissement, changement alimentaire, réorganisation de lots) auraient pu constituer des facteurs de risque, comme le laisse supposer certaines études [30, 118, 81].

Cependant, notre étude, qui se déroule sur deux années, n'est pas achevée, et les résultats présentés et analysés dans le cadre de ce travail ne concernent qu'une année de suivi. Ils peuvent donc évoluer et des facteurs de risque pourront peut-être se distinguer après une deuxième année de suivi.

Parallèlement au travail de suivi des troupeaux, l'usage du buvard FTA® Elute, comme support de prélèvement des échantillons de laits de tank, a été évalué. La valeur du support buvard FTA® Elute a été éprouvée en comparant les résultats obtenus en Q-PCR sur le lait et sur buvard. Les résultats obtenus par chacune des deux méthodes ne sont pas significativement différents ; le support buvard FTA® Elute est donc considéré comme un support d'échantillon valide pour la détection des mycoplasmes par Q-PCR. Ce support d'échantillon biologique est d'utilisation facile pour la collecte du lait et permet de s'affranchir des problèmes de conditionnement et de conservation pour l'acheminement des échantillons de lait au laboratoire. Parmi les six résultats non-concordants entre les deux méthodes, deux sont négatifs en Q-PCR sur le lait alors qu'ils sont positifs en Q-PCR sur buvard et quatre sont positifs en Q-PCR sur lait alors qu'ils sont négatifs en Q-PCR sur buvard. Ces discordances peuvent s'expliquer soit par un problème d'extraction de l'ADN lié à la matrice lait, soit par défaut de sensibilité de la technique; il est en effet possible que sur ce type d'échantillon on se situe en limite de détection.

Dans la deuxième année de suivi, il est prévu de poursuivre l'analyse de l'impact des évènements d'élevage sur les variations d'excrétion et de le compléter en identifiant des élevages de chaque groupe (1 à 4) (correspondant aux « typologies » d'excrétion) afin de les mettre en suivi avec un relevé plus précis des pratiques d'élevage.

Afin de valoriser au mieux les prélèvements du suivi, en fin d'étude, tous les échantillons de lait de tank seront soumis à une identification bactérienne par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

CONCLUSION

Le Syndrome Agalactie Contagieuse représente l'une des dominantes pathologiques majeures en élevage caprin. Il est à l'origine de pertes économiques importantes pouvant parfois compromettre l'avenir d'une exploitation. Quatre espèces de mycoplasmes sont responsables de ce syndrome (*Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*, *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* et *Mycoplasma putrefaciens*) ce qui complique le diagnostic de laboratoire, le dépistage et la conception de vaccins.

Souvent introduit dans un troupeau à la suite d'achats, ce syndrome mycoplasmique se caractérise généralement par des symptômes mammaires, articulaires, pulmonaires ou oculaires diversement associés au sein d'un troupeau ou chez un même animal. L'existence de porteurs asymptomatiques représente un risque de dissémination de la maladie voire de résurgence après un premier épisode clinique.

En l'absence de mesures de contrôle à l'introduction dans un cheptel, la problématique des mouvements d'animaux apparaît donc comme l'un des points essentiels de la lutte contre l'Agalactie Contagieuse caprine. Aussi afin de mieux sécuriser les échanges, les premières mesures sanitaires à mettre en œuvre devront intervenir à l'échelle des troupeaux.

Dans ce contexte, les résultats de notre partie expérimentale et de l'ensemble de ce travail devraient pouvoir contribuer à l'établissement d'un protocole standardisé et fiable de suivi sanitaire des cheptels, et d'avoir ainsi une première approche du statut sanitaire des troupeaux caprins vis-à-vis des infections à mycoplasmes, hors épisode clinique.

Thèse de Melle Tessa TROUCHON……

Le Professeur responsable
VetAgro Sup campus vétérinaire

Pavillon B7

Le Directeur général
VetAgro Sup

Par Délégation
Dr. L. FREYBURGER
Directeur de l'Enseignement
et de la Vie Etudiante
VetAgro Sup Campus Vétérinaire

Le Président de la thèse

PLATEFORME ONCO. GENETIQUE Pr A. CALENDER

Calender.

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 12 10 2015.

LE 8 OCT. 2015

Le Président de l'Université,
Professeur F.N GILLY

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

BIBLIOGRAPHIE

[1] Amores, J. et al. 2010. Comparison of culture and PCR to detect *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in ear swabs taken from goats. *Veterinary Microbiology*. 140, 1-2 (2010), 105–108.

[2] Amores, J. et al. 2011. Presence of contagious agalactia causing mycoplasmas in Spanish goat artificial insemination centres. *Theriogenology*. 75, 7 (2011), 1265–1270.

[3] Amores, J. et al. 2012. Surveillance of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in dairy goat herds. *Small Ruminant Research*. 102, 1 (2012), 89–93.

[4] Amores, J. et al. 2010. Viability of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in goat milk samples stored under different conditions. *Veterinary Microbiology*. 145, 3-4 (2010), 347–350.

[5] Antunes, A. et al. 2011. Genome Sequence of *Haloplasma contractile*, an Unusual Contractile Bacterium from a Deep-Sea Anoxic Brine Lake. *Journal of Bacteriology*. 193, 17 (2011), 4551–4552.

[6] Antunes, N.T. et al. 2007. *In vitro* susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* large colony type to 15 antimicrobials. *Veterinary Microbiology*. 119, 1 (2007), 72–75.

[7] Antunes, N.T. et al. 2007. *In vitro* susceptibilities of *Mycoplasma putrefaciens* field isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51, 9 (2007), 3452–3454.

[8] Ariza-Miguel, J. et al. 2012. A survey of *Mycoplasma agalactiae* in dairy sheep farms in Spain. *BMC Veterinary Research*. 8, 1 (2012), 171.

[9] Barré, A. et al. 2004. MolliGen, a database dedicated to the comparative genomics of Mollicutes. *Nucleic Acids Research*. 32, 90001 (2004), 307–310.

[10] Becker, C.A.M. et al. 2012. Development of a multiplex real-time PCR for contagious agalactia diagnosis in small ruminants. *Journal of Microbiological Methods*. 90, 2 (2012), 73–79.

[11] Benkirane, A. et Amghar, S. 1990. Antibiosensibilité *in vitro* de diverses souches de *Mycoplasma capricolum*. *Revue d'élévage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 43, 4 (1990), 453–455.

[12] Bergonier, D. et al. 1997. Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Épizooties*. 16, 3 (1997), 848–873.

[13] Bergonier, D. et al. 2009. Mycoplasmoses des caprins et des ovins : état des connaissances sur le diagnostic et le traitement. *Journées nationales GTV - Nantes*. (2009), 883–906.

[14] Bergonier, D. et Berthelot, X. 2007. Les mycoplasmoses chez les petits ruminants : l'agalactie contagieuse. *Le nouveau praticien vétérinaire, élevages et santé*. (2007), 43–51.

[15] Bergonier, D. et Berthelot, X. 2008. Mycoplasmoses des petits ruminants : le syndrome de l'agalactie contagieuse. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 161, 2 (2008), 167–177.

[16] Bergonier, D. et Poumarat, F. 1996. Agalactie contagieuse des petits ruminants : épidémiologie, diagnostic et contrôle. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Épizooties*. 15, 4 (1996), 1431–1475.

[17] Bergonier, D. et Thiaucourt, F. 2003. Agalactie contagieuse des petits ruminants. *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires.* Lavoisier Tec et Doc. 809–825.

[18] Bhaumik, A. et al. 1990. Effect of oral administration of tylosin tartrate in the treatment of experimental and natural cases of caprine mycoplasmosis. *Indian Veterinary Journal*. 67, 10 (1990), 948–951.

[19] Biddle, M.K. et al. 2004. Effects of storage time and thawing methods on the recovery of *Mycoplasma* species in milk samples from cows with intramammary infections. *Journal of Dairy Science*. 87, 4 (2004), 933–936.

[20] Breton, M. et al. 2012. Distribution and diversity of mycoplasma plasmids: lessons from cryptic genetic elements. *BMC Microbiology*. 12, 1 (2012), 257.

[21] Carles, C. 2010. Le vaccin espagnol contre l'agalactie contagieuse est une solution mitigée. *La Semaine Vétérinaire*. 1422, (2010), 22.

[22] Castro-Alonso, A. et al. 2010. Chronological and immunohistochemical characterization of the mammary immunoinflammatory response in experimental caprine contagious agalactia. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 136, 1-2 (2010), 43–54.

[23] Chazel, M. et al. 2010. Mycoplasmoses of ruminants in France: recent data from the national surveillance network. *BMC Veterinary Research*. 6, 1 (2010), 32.

[24] Chazel, M. et al. 2008. VIGIMYC : réseau d'épidémiosurveillance des mycoplasmoses des ruminants en France. *Bulletin épidémiologique de l'AFSSA de Lyon*. 30, (2008), 10–11.

[25] Citti, C. et Blanchard, A. 2013. Mycoplasmas and their host: emerging and re-emerging minimal pathogens. *Trends in Microbiology*. 21, 4 (2013), 196–203.

[26] Clyde, Jr., W.A. 1983. Growth inhibition tests. *Methods in Mycoplasmology Volume 1 : Mycoplasma Characterization*. Samuel Razin, Joseph G. Tully. 405–410.

[27] Corrales, J.C. et al. 2007. Contagious agalactia in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 68, 1-2 (2007), 154–166.

[28] Corrales, J.C. et al. 2004. Effect of Clinical Contagious Agalactia on the Bulk Tank Milk Somatic Cell Count in Murciano-Granadina Goat Herds. *Journal of Dairy Science*. 87, 10 (2004), 3165–3171.

[29] Cottew, G.S. et Yeats, F.R. 1982. Mycoplasmas and mites in the ears of clinically normal goats. *Australian Veterinary Journal*. 59, 3 (1982), 77–81.

[30] DaMassa, A.J. et al. 1987. Caprine mycoplasmosis : an outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *The Veterinary Record*. 120, 17 (1987), 409–413.

[31] DaMassa, A.J. et al. 1986. Induction of mycoplasmosis in goat kids by oral inoculation with *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides*. *American Journal of Veterinary Research*. 47, 9 (1986), 2084–2089.

[32] DaMassa, A.J. et al. 1994. *Mycoplasma auris* sp. nov., *Mycoplasma cottewii* sp. nov., and *Mycoplasma yeatsii* sp. nov., New Sterol-Requiring Mollicutes from the External Ear Canals of Goats. *International journal of systematic bacteriology*. 44, 3 (1994), 479–484.

[33] DaMassa, A.J. et al. 1992. Mycoplasmas of goats and sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 4, 1 (1992), 101–113.

[34] DaMassa, A.J. et Brooks, D.L. 1991. The external ear canal of goats and other animals as a mycoplasma habitat. *Small Ruminant Research*. 4, (1991), 85–93.

[35] Dupuy, V. et al. 2013. Complete Genome Sequence of *Mycoplasma putrefaciens* Strain 9231, One of the Agents of Contagious Agalactia in Goats. *Genome Announcements*. 1, 3 (2013), e00354–13.

[36] Erno, H. 1977. Mycoplasmas : use of polyvalent antisera for identification by indirect immunofluorescence. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 18, 2 (1977), 176–186.

[37] De la Fe, C. et al. 2009. Effects on goat milk quality of the presence of *Mycoplasma* spp. in herds without symptoms of contagious agalactia. *The Journal of Dairy Research*. 76, 1 (2009), 20–23.

[38] De la Fe, C. et al. 2007. Field trial of two dual vaccines against *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large colony type) in goats. *Vaccine*. 25, 12 (2007), 2340–2345.

[39] De la Fe, C. et al. 2010. Latent infection of male goats with *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* at an artificial insemination centre. *The Veterinary Journal*. 186, 1 (2010), 113–115.

[40] De la Fe, C. et al. 2009. *Mycoplasma agalactiae* detected in the semen of goat bucks. *Theriogenology*. 72, 9 (2009), 1278–1281.

[41] De la Fe, C. et al. 2011. Recovery of *Mycoplasma agalactiae* from the ears of goats experimentally infected by the intramammary route. *The Veterinary Journal*. 190, 1 (2011), 94–97.

[42] De Garnica, M.L. et al. 2013. Isolation, molecular characterization and antimicrobial susceptibilities of isolates of *Mycoplasma agalactiae* from bulk tank milk in an endemic area of Spain. *Journal of Applied Microbiology*. 114, 6 (2013), 1575–1581.

[43] Genus *Mycoplasma* [en ligne]. URL : *http://www.bacterio.net/mycoplasma.html* [consulté le 14 Octobre 2015].

[44] Giangaspero, M. et al. 2010. Characterization of *Mycoplasma* isolated from an ibex (*Capra ibex*) suffering from keratoconjunctivitis in northern Italy. *Journal of Wildlife Diseases*. 46, 4 (2010), 1070–1078.

[45] Gil, M.C. et al. 1999. Aetiology of caprine contagious agalactia syndrome in Extremadura, Spain. *The Veterinary Record*. 144, 1 (1999), 24–25.

[46] Gil, M.C. et al. 2003. Genital Lesions in an Outbreak of Caprine Contagious Agalactia Caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 50, 10 (2003), 484–487.

[47] Gil, M.C. et al. 1999. Isolation of Mycoplasmas from the External Ear Canal of Goats Affected with Contagious Agalactia. *The Veterinary Journal*. 158, (1999), 152–154.

[48] Le Goff, C. et Perreau, P. 1984. Possibilities and limitations of serological diagnosis in contagious agalactia of small ruminants. *Les maladies de la chèvre*. P. Yvore, G. Perrin. 271–278.

[49] Gómez-Martín, Á. et al. 2012. Anatomic location of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and *Mycoplasma agalactiae* in naturally infected goat male auricular carriers. *Veterinary Microbiology*. 157, 3-4 (2012), 355–362.

[50] Gómez-Martín, Á. et al. 2013. Contagious agalactia due to *Mycoplasma* spp. in small dairy ruminants: Epidemiology and prospects for diagnosis and control. *The Veterinary Journal*. 198, 1 (2013), 48–56.

[51] Gómez-Martín, A. et al. 2012. Controlling contagious agalactia in artificial insemination centers for goats and detection of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in semen. *Theriogenology*. 77, 6 (2012), 1252–1256.

[52] Le Grand, D. et al. 2004. Assessment of PCR for routine identification of species of the *Mycoplasma mycoides* cluster in ruminants. *Veterinary Research*. 35, 6 (2004), 635–649.

[53] Greco, G. et al. 2001. A multiplex-PCR for the diagnosis of contagious agalactia of sheep and goats. *Molecular and Cellular Probes*. 15, 1 (2001), 21–25.

[54] Hannan, P.C.T. et al. 1997. Comparative Susceptibilities of Various Animal-Pathogenic Mycoplasmas to Fluoroquinolones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 41, 9 (1997), 2037–2040.

[55] Hasso, S.A. et al. 1993. Contagious agalactia in goats: It's severity as related to the route of infection and pregnancy. *Small Ruminant Research*. 10, 3 (1993), 263–275.

[56] Hasso, S.A. et al. 1994. Pathology of experimentally induced contagious agalactia in goats. *Small Ruminant Research*. 13, 1 (1994), 79–84.

[57] Hotzel, H. et al. 1996. A PCR scheme for differentiation of organisms belonging to the *Mycoplasma mycoides* cluster. *Veterinary Microbiology*. 49, (1996), 31–43.

[58] Inamine, J.M. et al. 1990. Evidence that UGA is read as a tryptophan codon rather than as a stop codon by *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma genitalium*, and *Mycoplasma gallisepticum*. *Journal of Bacteriology*. 172, 1 (1990), 504–506.

[59] Jimena, O.N. et al. 2009. Association of *Raillietia caprae* with the presence of *Mycoplasmas* in the external ear canal of goats. *Preventive Veterinary Medicine*. 92, 1–2 (2009), 150–153.

[60] Johansson, K.-E. et al. 1998. Characterization of Mycoplasmas by PCR and Sequence Analysis with Universal 16S rDNA Primers. *Methods in Molecular Biology*. 104, (1998), 145–146.

[61] Johansson, K.-E. et Pettersson, B. 2002. Taxonomy of Mollicutes. *Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas*. Shmuel Razin and Richard Herrmann. 1–31.

[62] Kinde, H. et al. 1994. Mycoplasma infection in a commercial goat dairy caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 6, 4 (1994), 423–427.

[63] Kittelberger, R. et al. 2006. Comparison of four diagnostic tests for the identification of serum antibodies in small ruminants infected with *Mycoplasma agalactiae*. *New Zealand Veterinary Journal*. 54, 1 (2006), 10–15.

[64] Kumar, A. et al. 2014. *Mycoplasma agalactiae*, an Etiological Agent of Contagious Agalactia in Small Ruminants: A Review. *Veterinary Medicine International*. (2014), 1–13.

[65] Kwantes, L.J. et Harby, H.A.M. 1995. Caprine mycoplasmal arthritis in the Sultanate of Oman. *Small Ruminant Research*. 16, 3 (1995), 287–289.

[66] L'agalactie Contagieuse, principal syndrome mycoplasmique des petits ruminants [en ligne]. Bergonier D. URL : *academieveterinaire.free.fr/academie/bergonierw.pdf* [consulté le 21 Avril 2015].

[67] Lambert, M. 1987. Contagious agalactia of sheep and goats. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Épizooties*. 6, 3 (1987), 699–711.

[68] León Vizcaíno, L. et al. 1995. Immunoprophylaxis of caprine contagious agalactia due to *Mycoplasma agalactiae* with an inactivated vaccine. *Veterinary Record*. 137, 11 (1995), 266–269.

[69] Les actions de l'Agalactie Contagieuse: 2015 [en ligne]. GDS 64. URL : *http://www.gds64.fr/* [consulté le 04 Février 2015].

[70] Loria, G.R. et al. 2003. In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin–spectinomycin. *Research in Veterinary Science*. 75, 1 (2003), 3–7.

[71] Loria, G.R. et Nicholas, R.A.J. 2013. Contagious agalactia: The shepherd's nightmare. *The Veterinary Journal*. 198, 1 (2013), 5–6.

[72] Madanat, A. et al. 2001. Contagious agalactia of sheep and goats. A review. *Acta Veterinaria Brno*. 70, 4 (2001), 403–412.

[73] Manso-Silván, L. et al. 2009. *Mycoplasma leachii* sp. nov. as a new species designation for *Mycoplasma* sp. bovine group 7 of Leach, and reclassification of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC as a serovar of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 59, 6 (2009), 1353–1358.

[74] Manso-Silván, L. et al. 2007. Phylogeny of the *Mycoplasma mycoides* cluster based on analysis of five conserved protein-coding sequences and possible implications for the taxonomy of the group. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57, 10 (2007), 2247–2258.

[75] Marenda, M.S. 2014. Genomic Mosaics. *Mollicutes : Molecular Biology and Pathogenesis*. Glenn F. Browning, Christine Citti. 15–54.

[76] McAuliffe, L. et al. 2005. 16S rDNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis; a single generic test for detecting and differentiating *Mycoplasma* species. *Journal of Medical Microbiology*. 54, 8 (2005), 731–739.

[77] McAuliffe, L. et al. 2006. Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology*. 152, 4 (2006), 913–922.

[78] Mercier, P. et al. 2000. Contagious Agalactia in goats in Center-West of France. *Mycoplasmas of ruminants : pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics*. J.B. Poveda, A. Fernandez, J. Frey. 130–133.

[79] Mercier, P. et al. 2007. Prevalence of mycoplasmas in external ear canal of goats: Influence of the sanitary status of the herd. *Small Ruminant Research*. 73, 1-3 (2007), 296–299.

[80] Mercier, P. et al. 2000. Un épisode d'agalactie causé par *Mycoplasma putrefaciens* dans un troupeau caprin. *Le Point Vétérinaire*. 31, 208 (2000), 69–72.

[81] Al-Momani, W. et al. 2008. Risk factors associated with *Mycoplasma agalactiae* infection of small ruminants in northern Jordan. *Preventive Veterinary Medicine*. 83, 1 (2008), 1–10.

[82] Al-Momani, W. et al. 2010. Seroprevalence of and risk factors for *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* infection in small ruminants in Northern Jordan. *Tropical Animal Health and Production*. 43, 2 (2010), 463–469.

[83] Nayak, N.C. et Bhowmik, M.K. 1990. Goat flea (order Siphonaptera) as a possible vector for the transmission of caprine mycoplasmal polyarthritis with septicaemia. *Preventive Veterinary Medicine*. 9, 4 (1990), 259–266.

[84] Nicholas, R. et al. 2008. Respiratory Diseases of Small Ruminants. *Mycoplasma diseases of ruminants*. Robin Nicholas, Roger Ayling, Laura McAuliffe. 169.

[85] Nicholas, R.A. et al. 1996. A comparison of serological tests and gross lung pathology for detecting contagious bovine pleuropneumonia in two groups of Italian cattle. *The Veterinary Record*. 139, 4 (1996), 89–93.

[86] Nicholas, R.A.J. 2002. Improvements in the diagnosis and control of diseases of small ruminants caused by mycoplasmas. *Small Ruminant Research*. 45, 2 (2002), 145–149.

[87] Nocard, E. et Roux, E. 1898. Le microbe de la péripneumonie. *Annales de l'Institut Pasteur*. 12, (1898), 240–262.

[88] Office International des Epizooties 2001. *Code Zoosanitaire International*. Technical Report. Dixième édition.

[89] Ojo, M.O. et al. 1984. *In vitro* and *in vivo* activities of tiamulin against caprine mycoplasmas. *Les maladies de la chèvre*. P. Yvore, G. Perrin. 287–293.

[90] Ostrowski, S. et al. 2011. Fatal Outbreak of *Mycoplasma capricolum* Pneumonia in Endangered Markhors. *Emerging Infectious Diseases*. 17, 12 (2011), 2338–2341.

[91] Paterna, A. et al. 2013. Short communication: In vitro antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma agalactiae* strains isolated from dairy goats. *Journal of Dairy Science*. 96, 11 (2013), 7073–7076.

[92] Paterna, A. et al. 2013. Survival of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in heat treated goat colostrum. *The Veterinary Journal*. 196, 2 (2013), 263–265.

[93] Pépin, M. et al. 2003. Comparison of three enzyme-linked immunosorbent assays for serologic diagnosis of contagious agalactia in sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 15, 3 (2003), 281–285.

[94] Pereyre, S. et al. 2013. Identification and Subtyping of Clinically Relevant Human and Ruminant Mycoplasmas by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*. 51, 10 (2013), 3314–3323.

[95] Perreau, P. et al. 1976. Le diagnostic sérologique de l'agalaxie contagieuse des petits ruminants : un test de fixation du complément. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 49, (1976), 185–192.

[96] Peyraud, A. et al. 2003. A specific PCR for the detection of *Mycoplasma putrefaciens*, one of the agents of the contagious agalactia syndrome of goats. *Molecular and Cellular Probes*. 17, 6 (2003), 289–294.

[97] Pinnow, C.C. et al. 2001. Detection of *Mycoplasma bovis* in preservative-treated field milk samples. *Journal of Dairy Science*. 84, 7 (2001), 1640–1645.

[98] Poumarat, F. et al. 2012. Comparative assessment of two commonly used commercial ELISA tests for the serological diagnosis of contagious agalactia of small ruminants caused by *Mycoplasma agalactiae*. *BMC Veterinary Research*. 8, 1 (2012), 109.

[99] Poumarat, F. 1998. Identification of Mycoplasmas by Dot Immunobinding on Membrane Filtration (MF Dot). *Mycoplasma Protocols*. Roger Miles and Robin Nicholas. 113–118.

[100] Poumarat, F. et al. 1991. Identification of ruminant mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration (MF dot). *Veterinary Microbiology*. 29, (1991), 329–338.

[101] Poumarat, F. et al. 2014. Principe et bilan du réseau Vigimyc consacré à l'épidémiosurveillance des mycoplasmoses des ruminants en France. *Les cahiers de la Référence*. 12, (2014), 24–29.

[102] Poumarat, F. et al. 2010. *VIGIMYC, le réseau d'épidémio-surveillance des mycoplasmoses des ruminants, rapport d'activité 2010*.

[103] Poumarat, F. et al. 2012. *VIGIMYC, le réseau d'épidémio-surveillance des mycoplasmoses des ruminants, rapport d'activité 2012*.

[104] Poumarat, F. et al. 2013. *VIGIMYC, le réseau d'épidémio-surveillance des mycoplasmoses des ruminants, rapport d'activité 2013*.

[105] Poumarat, F. et al. 2009. VIGIMYC, le réseau national d'épidémio-surveillance des mycoplasmoses des ruminants, bilan 2003-2007. *Bulletin épidémiologique de l'AFSSA*. 31, (2009), 4–8.

[106] Poveda, J.B. 1998. Biochemical Characteristics in Mycoplasma Identification. *Mycoplasma Protocols*. Roger Miles and Robin Nicholas. 69–78.

[107] Rodriguez, J.L. et al. 1996. Caprine abortion following exposure to *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 8, 4 (1996), 492–494.

[108] Rodriguez, J.L. et al. 1997. Polymerase chain reaction and restriction endonuclease digestion for selected members of the "*Mycoplasma mycoides* cluster" and *Mycoplasma putrefaciens*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 9, 2 (1997), 186–190.

[109] Rosendal, S. et Black, F.T. 1972. Direct and indirect immunofluorescence of unfixed and fixed *Mycoplasma* colonies. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology and Immunology*. 80B, 4 (1972), 615–622.

[110] Sanchis, R. et al. 1998. Experimental conjunctival-route infection with *Mycoplasma agalactiae* in lambs. *Small Ruminant Research*. 27, 1 (1998), 31–39.

[111] Sanchis, R. et al. 2000. Inoculation of lactating ewes by the intramammary route with *Mycoplasma agalactiae*: comparative pathogenicity of six field strains. *Veterinary Research*. 31, 3 (2000), 329–337.

[112] Dos Santos, S.B. et al. 2012. Associação entre *Mycoplasma* spp. e ácaros do conduto auditivo de bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32, 4 (2012), 293–296.

[113] Sarkar, A.K. et al. 1992. Treatment of natural cases of pneumonia associated with mycoplasma infection. *Indian Veterinary Journal*. 69, 11 (1992), 1041–1042.

[114] Shahram, M. et al. 2010. Further evidence to justify reassignment of *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* Large Colony type to *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri*. *Systematic and Applied Microbiology*. 33, 1 (2010), 20–24.

[115] Sirand-Pugnet, P. et al. 2007. Being Pathogenic, Plastic, and Sexual while Living with a Nearly Minimal Bacterial Genome. *PLoS Genetics*. 3, 5 (2007), 744–758.

[116] Smith, M.C. et Sherman, D.M. 2009. *Goat Medicine*. Wiley-Blackwell.

[117] Subramaniam, S. et al. 1998. Species identification of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* based on the *uvr*C genes by PCR. *Molecular and Cellular Probes*. 12, (1998), 161–169.

[118] Szeredi, L. et al. 2003. Infection of Two Goatherds with *Mycoplasma mycoides* Subsp. *capri* in Hungary, Evidence of a Possible Faecal Excretion. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 50, 4 (2003), 172–177.

[119] Tardy, F. et al. 2011. Comparison of Isolates of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* from Asymptomatic and Septicaemic Goats. *Journal of Comparative Pathology*. 144, 1 (2011), 70–77.

[120] Tardy, F. et al. 2012. Emergence of Atypical *Mycoplasma agalactiae* Strains Harboring a New Prophage and Associated with an Alpine Wild Ungulate Mortality Episode. *Applied and Environmental Microbiology*. 78, 13 (2012), 4659–4668.

[121] Tardy, F. et al. 2007. *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype large colony isolates from healthy and diseased goats: Prevalence and typing. *Veterinary Microbiology*. 121, 3-4 (2007), 268–277.

[122] Taylor-Robinson, D. 1983. Metabolism inhibition tests. *Methods in Mycoplasmology Volume 1 : Mycoplasma Characterization*. Samuel Razin, Joseph G. Tully. 411–417.

[123] Thiaucourt, F. et Bölske, G. 1996. Contagious caprine pleuropneumonia and other pulmonary mycoplasmoses of sheep and goats. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Épizooties*. 15, 4 (1996), 1397–1414.

[124] Thompson, C.C. et al. 2011. Towards a genome based taxonomy of Mycoplasmas. *Infection, Genetics and Evolution*. 11, 7 (2011), 1798–1804.

[125] Tola, S. et al. 1999. Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using different inactivated vaccines. *Vaccine*. 17, 22 (1999), 2764–2768.

[126] Tola, S. et al. 1996. Rapid and specific detection of *Mycoplasma agalactiae* by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*. 51, 1-2 (1996), 77–84.

[127] Tully, J.G. et al. 1993. Revised taxonomy of the class *Mollicutes*: proposed elevation of a monophyletic cluster of arthropod-associated mollicutes to ordinal rank (*Entomoplasmatales* ord. nov.), with provision for familial rank to separate species with nonhelical morphology (*Entomoplasmataceae* fam. nov.) from helical species (*Spiroplasmataceae*), and emended descriptions of the order *Mycoplasmatales*, family *Mycoplasmataceae*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 43, 2 (1993), 378–385.

[128] Verbisck-Bucker, G. et al. 2008. Epidemiology of *Mycoplasma agalactiae* infection in free-ranging spanish ibex (*Capra pyrenaica*) in Andalusia, southern Spain. *Journal of Wildlife Diseases*. 44, 2 (2008), 369–380.

[129] Vialard, J. et al. 2011. *Agalactie Contagieuse dans les Pyrénées-Atlantiques*. Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail.

[130] Vilei, E.M. et al. 2006. *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC can be grouped into a single subspecies. *Veterinary Research*. 37, 6 (2006), 779–790.

[131] Woese, C.R. et al. 1980. Phylogenetic analysis of the mycoplasmas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 77, 1 (1980), 494–498.

[132] Woubit, S. et al. 2007. A PCR for the detection of mycoplasmas belonging to the *Mycoplasma mycoides* cluster: Application to the diagnosis of contagious agalactia. *Molecular and Cellular Probes*. 21, 5-6 (2007), 391–399.

[133] Yamao, F. et al. 1985. UGA is read as tryptophan in *Mycoplasma capricolum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 82, 8 (1985), 2306–2309.

[134] Zavagli, V. 1951. L'agalactie contagieuse des brebis et des chèvres. *Bulletin de l'Office International des Epizooties*. 36, (1951), 336–362.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche descriptive élevage

– Projet MYCAPTANK –
Anses Niort- UMR Mycoplasmoses des Ruminants Anses Lyon-VetAgro Sup - LASAT

- FICHE DESCRIPTIVE ELEVAGE -

Date :
NOM : Prénom : Adresse : Tél :
N° cheptel :

DESCRIPTIF TROUPEAU :

-Race : Alpine ☐ Saanen ☐ Mixte ☐
-Taille du cheptel : -Nombre de chevrettes : .....
-Nombre de chèvres : ..... dont Primipares = dont Lactations longues =
-Atelier Bovin sur l'élevage : Oui ☐ Non ☐
-Atelier Ovin sur l'élevage : Oui ☐ Non ☐

LOCAUX D'ELEVAGE :

-Hors-sol ☐
-Hors-sol avec petit parc d'exercice ☐
-Bâtiment hiver + Pâturage été ☐
-Salle de traite : Quai de traite : Nombre de places : .....
Roto : Nombre de places : .....
Contrôle machine à traire annuel : Non ☐ Oui ☐ Contrôle Optitraite annuel : Non ☐ Oui ☐

CONDUITE D'ELEVAGE :

-Allotement : . Lots de primipares : Non ☐ Oui ☐---> Nombre de lots : Taille lots :
. Lots pour les productrices : Non ☐ Oui ☐ ---> Nombre de lots : Taille lots :

-Taux de réforme : **-Cause majoritaire de réforme l'année précédente :**

-Renouvellement (plusieurs réponses sont possibles) :
. Renouvellement interne : Non ☐ Oui ☐ ---> Nombre par an : .....
. Par achat : Non ☐ Oui ☐ ---> Nombre par an : Chevrettes : ..... Adultes: .....
---> Achat dans plusieurs troupeaux ☐ dans 1 seul troupeau ☐

-Elevage des chevrettes de renouvellement :
. Séparation immédiate de la mère après la naissance : Non ☐ Oui ☐
. Colostrum : -Maternel : systématique ☐ parfois ☐
-De mélange : systématique ☐ parfois ☐
-Artificiel : systématique ☐ parfois ☐
. Le colostrum distribué est-il thermisé ? Oui ☐ Non ☐

-Traite :
.Par lots : Oui ☐ Non ☐
.Ordre de traite : Non ☐ Oui ☐ ---> Primipares en premier Oui ☐ Non ☐
.Pré-trempage ou trempage : technique – produit : .....
.Post-trempage : technique – produit : .....
.Pratique de l'égouttage : Oui ☐ Non ☐

REPRODUCTION :

-Boucs de l'élevage ☐
-Boucs de prêt ☐ achat ☐
-IA ☐
-Moyenne, sur les 3 dernières années, du nombre de chevreaux / an : .....
-Périodes de Mises Bas :
. Nombre /an : .....
. ☐ lots en mise bas désaisonnée d'automne ☐ lots en mise bas de début d'année ☐ Autres :.....

PRODUCTION LAITIERE :

-Lactation : . Longue : Oui ☐ Non ☐
. Durée de lactation moyenne : .....

-Nombre de traites / jour : .....

-Niveau moyen de production : ..... kg/chèvre

-Taux cellulaire :
. contrôles sur lait de tank : Non ☐ Oui ☐ Fréquence : .....
. contrôles individuels : Non ☐ Oui ☐ Fréquence : .....

SANITAIRE :

-Historique de l'élevage vis-à-vis des mycoplasmoses :
. Episode clinique **< 2 mois** : Non ☐ Oui ☐ avec diagnostic de confirmation Oui ☐ Non ☐
. Episode clinique **> 2 mois** : Non ☐ Oui ☐ avec diagnostic de confirmation Oui ☐ Non ☐
Si, oui : Date de l'épisode :
Symptômes observés : mammaires ☐
respiratoires ☐
arthrites ☐
autres : .....

-Statut sanitaire CAEV : indemne ☐ infecté ☐ inconnu ☐

-Programmes de vermifugations : Non ☐ ---> Si, NON, traitements ponctuels selon besoin ? Non ☐ Oui ☐
Oui ☐ ---> Fréquence : .....
---> Molécules : .....

-Vaccinations : .....
.....

-Pratique d'une quarantaine à l'introduction : Non ☐ Oui ☐

-Isolement des malades : Non ☐ Oui ☐ Occasionnellement selon type de pathologie ☐

-Traitement intra-mammaire au tarissement : Non ☐ Ciblés ☐ Systématiques ☐
----> Molécules : .....

-Périodes pendant lesquelles les mammites sont les plus fréquentes :

Je, soussigné, ...autorise le contrôle laitier ou tout autre organismes détenteur de données qualitatives ou quantitatives sur la production de mon cheptel, à les communiquer à l'Anses – laboratoire de Niort (anciennement station régionale de pathologie caprine) qui s'engage en retour à une exploitation anonymisée de ces données

Fait le ..... à ..... *Signature de l'éleveur* *Pour l'Anses-Laboratoire de Niort*

<u>Annexe 2</u> : Fiche de suivi d'élevage

anses

VetAgro Sup

– Projet MYCAPTANK –
Anses Niort- UMR Mycoplasmoses des Ruminants Anses Lyon-VetAgro Sup - LASAT

Lasat

FICHE de SUIVI d'ELEVAGE (accompagnant le prélèvement mensuel de lait de tank)

RELEVE MENSUEL DU : .....

Nombre de traites du tank au moment du prélèvement : .....

NOM :	Prénom :	Adresse :	Tél :
N° cheptel :			

TROUPEAU :

-Nombre total d'animaux :

-Nombre d'animaux en lactation :

-Mouvements d'animaux : . introductions : ..... . réformes : .....

PRODUCTIVITE :

-Date de début de lactation du troupeau : .....

-Niveau moyen de production de lait de l'ensemble du troupeau à la date du prélèvement : .....

-Résultats du comptage cellulaire : Joindre une photocopie

PATHOLOGIES OBSERVEES DANS LE MOIS :

Voir verso

	Nombre de cas :			Résultat(s) de laboratoire si étiologie recherchée :	Traitements	
	Adultes	Chevrettes	Jeunes non sevrés		Collectifs (Nombre+Molécules)	Individuels (Nombre+Molécules)
Pathologie respiratoire						
Mammites						
Arthrites						
Diarrhée						
Métrites						
Morts subites						
Avortements						
Autres						

Annexe 3 : Milieu OXOID Mycoplasmes

www.OXOID.com

Leader en microbiologie

imprimer

MYCOPLASMES (BOUILLON POUR)

CODE : CM0403

Milieu de base qui, enrichi par des suppléments, peut être utilisé pour l'isolement et la culture des mycoplasmes dans les prélèvements cliniques.

COMPOSITION	(grammes/litre)
Peptone bactériologique	10,0
Extrait de viande de boeuf	10,0
Chlorure de sodium	5,0
Supplément minéral	0,5
pH 7,8 ± 0,2	

500 grammes permettent de préparer 19,6 litres de milieu.

PREPARATION
Verser 25,5 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et répartir en volumes de 80 ml. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Refroidir à 50°C et ajouter le supplément stérile.

DESCRIPTION
Le bouillon de base pour mycoplasmes OXOID (CM0403) est un complément de la gélose de base pour mycoplasmes OXOID (CM0401).
Il est nécessaire d'y ajouter de l'extrait de levure, du sérum et des antibiotiques, comme indiqué pour la gélose de base pour mycoplasmes OXOID.
La fermentation des sucres par les mycoplasmes peut être recherchée par addition de 1 % (pds/vol) de sucre et de 0,005 % (pds/vol) de rouge de phénol dans ce bouillon.
Un bouillon pour *Ureaplasma*[1] peut être préparé par addition à 95 ml de bouillon (pH ajusté à 6,0) de :

Sérum de cheval	4,00 ml
Urée	0,05 g
Rouge de phénol	0,001 g
Pénicilline	100 000 unités

Un milieu similaire a été décrit par Taylor-Robinson et coll.[2], dans lequel il est fait référence à l'utilisation du tampon HEPES pour induire la formation de larges colonies d'*Ureaplasma* et pour isoler et dénombrer les mycoplasmes viables, grâce au métabolisme de l'arginine et du glucose et à la variation de pH du milieu.
Un milieu sélectif pour *Mycoplasma pneumoniae* a été décrit par Kraybill et Crawford.[3]
On peut utiliser le supplément G pour mycoplasmes (SR0059) et le supplément P pour mycoplasmes (SR0060) avec ce milieu (voir gélose de base pour mycoplasmes, CM0401).
La plupart des souches de mycoplasmes pousse mieux dans un milieu diphasique dans lequel une couche de bouillon recouvre une couche basale de gélose pour mycoplasmes (CM0401).

CONSERVATION
Conserver le milieu déshydraté à 10–25°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon.
Conserver le milieu prêt à l'emploi à 2–8°C.

CONTROLE DE QUALITE
Contrôle positif :
Mycoplasma pneumoniae ATCC® 15531.
Ureaplasma urealyticum (en l'absence d'acétate de thallium).
Contrôle négatif :
E. coli ATCC® 25922

PRECAUTIONS

L'acétate de thallium étant toxique, observer les précautions d'usage indiquées au paragraphe 2-3-8, Produits dangereux. Repiquer le bouillon sur la gélose dès que l'indicateur commence à changer de couleur et avant que le changement de pH ne détruise les germes.

BIBLIOGRAPHIE

1 Shepard M.C. and Lanceford C.D. (1970) *Appl. Microbiol.*, 20. 539-543.
2 Taylor-Robinson D., Martin-Bourgon C., Watanable T. and Addey J.P. (1971) *J. Gen. Microbiol.*, 68, 97-107.
3 Kraybill W.H. and Crawford Y.E. (1965) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 118. 965-967.

©2003 - 2008 Oxoid Limited, All rights reserved.
Politique de copyright, limitation de responsabilité et vie privée
Thermo Fisher Scientific Inc.

INFO NAVIGATION

<u>Annexe 4</u> : Supplément G pour milieu OXOID Mycoplasmes

Culture Media Supplements

You are viewing the printer friendly version of this page. To return to the regular view click here.

MYCOPLASMA SUPPLEMENT - G SELECTIVE SUPPLEMENT

Code: SR0059

A selective supplement for the isolation of mycoplasmas when used with Mycoplasma Agar or Broth Base CM0401/ CM0403.

Vial contents (each vial is sufficient for 80ml of medium)

Horse serum	20ml
Yeast extract (25% w/v)	10ml
Thallous acetate 25mg	25mg
Penicillin	20,000 IU

Directions

Aseptically add 20ml of sterile distilled water to one vial and mix gently. Aseptically add the vial contents to 80ml of sterilised Mycoplasma Agar or Broth Base CM0401/CM0403, previously cooled to approximately 50°C.

©2001 - 2015 Oxoid Limited, All rights reserved.
Copyright, Disclaimer and Privacy Policy | Conditions of Sale | About Us | Cookies
Thermo Fisher Scientific Inc.

<u>Annexe 5</u> : Protocole d'extraction de l'ADN FTA Elute

Protocole FTA Elute

1. Déposer 250 µl de lait sur la carte FTA Elute
2. Laisser sécher les spots minimum 3 heures à température ambiante
3. Découper grossièrement les 4 disques et placer les morceaux dans un tube Lysing Matrix E
4. Ajouter 1 ml d'eau qualité Biologie Moléculaire
5. Homogénéiser 40 sec à la vitesse de 6 000 rpm dans le broyeur
6. Incuber 20 min à 100°C
7. Centrifuger le tube 1 min a 6 000 ×g
8. Aliquoter 20 µl de surnageant dans un tube de 1,5 ml. Placer à +5°C si PCR à la suite, sinon congeler
9. Après l'étape 6 du SDI-METH-BIOMO-028, transférer 400 µl de surnageant dans la plaque de lyse
10. Continuer à l'étape 7 du SDI-METH-BIOMO-028

TROUCHON TESSA

CONTROLE DE L'AGALACTIE CONTAGIEUSE CAPRINE : EVALUATION D'UN PROTOCOLE DE SUIVI SANITAIRE DES TROUPEAUX PAR RECHERCHE SYSTEMATIQUE DANS LES LAITS DE TANK - Etude préliminaire en région Poitou-Charentes -

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le vendredi 27 novembre 2015

RESUME : Le Syndrome Agalactie Contagieuse représente, en élevage caprin, l'une des dominantes pathologiques majeures à l'origine de pertes économiques importantes pouvant parfois compromettre l'avenir d'une exploitation. En l'absence de mesures de contrôle à l'introduction dans un cheptel, la problématique des mouvements d'animaux apparaît donc comme un point central de la lutte contre l'Agalactie Contagieuse caprine.

Etant donné qu'il n'est pas envisageable économiquement de tester individuellement chaque animal entrant dans un cheptel, il conviendrait d'agir à l'échelle des troupeaux afin de mieux sécuriser les échanges. Pour cela, il faudrait pouvoir disposer d'une méthode standardisée et fiable permettant d'avoir une première approche du statut sanitaire des troupeaux vis-à-vis de ces infections à mycoplasmes, hors épisode clinique, et permettant d'identifier les troupeaux comme étant « à risque élevé » ou « à risque faible ».

L'objectif de notre étude était de déterminer quelle serait la fréquence de prélèvement la plus adaptée pour pouvoir suivre au mieux ce statut. Pour cela, l'excrétion mammaire des mycoplasmes au sein de cheptels infectés a été suivie sur des prélèvements mensuels de lait de tank analysés par PCR en temps réel. Les résultats obtenus soulignent le caractère intermittent de l'excrétion des mycoplasmes dans le lait, ce qui rend difficile l'établissement d'une fréquence de prélèvement standardisée réduite mais fiable. En parallèle, l'échantillonnage de lait de tank collecté a permis de valider l'utilisation du buvard FTA® Elute comme support d'échantillon biologique pour la collecte du lait ; ce support permettant un acheminement, un conditionnement et une conservation plus facile des échantillons.

MOTS CLES :

- Caprinés
- Mycoplasma
- Epidémiologie vétérinaire
- Lait de chèvre

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Alain CALENDER
1er Assesseur :	Madame le Professeur Dominique LE GRAND
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Philippe BERNY

DATE DE SOUTENANCE : vendredi 27 novembre 2015

ADRESSE DE L'AUTEUR :

31 avenue Carnot
70200 LURE