

MYCOPLASMOSES DES PETITS RUMINANTS : LE SYNDROME DE L'AGALACTIE CONTAGIEUSE

MYCOPLASMOSES OF SMALL RUMINANTS : CONTAGIOUS AGALACTIA SYNDROME

Par Dominique BERGONIER⁽¹⁾ et Xavier BERTHELOT⁽²⁾
(communication présentée le 6 mars 2008)

RÉSUMÉ

Le syndrome de l'agalactie contagieuse est dû à quatre mycoplasmes principaux provoquant des infections durables et souvent asymptomatiques. Les symptômes, lorsqu'ils sont exprimés, se manifestent de manière relativement variable en fonction des espèces de mycoplasmes et des espèces-hôtes, de leur âge et de leur stade physiologique. À l'échelon du troupeau, une traduction clinique mammaire, respiratoire, articulaire ou oculaire, souvent incomplète, est la plus fréquente. Le diagnostic doit reposer sur la confirmation bactériologique, voire sérologique, des suspicions épidémiocliniques. L'antibiothérapie est décevante. Les vaccins actuels, insuffisamment efficaces, ne sont pas commercialisés en France. La validation et l'application des mesures sanitaires dépendent des filières considérées et des agents mycoplasmatiques; elles ont fait la preuve de leur efficacité dans les départements appliquant une réglementation locale ovine ou caprine (*M. agalactiae*).

Mots-clefs: ovins, caprins, mycoplasmes, agalactie contagieuse.

SUMMARY

Contagious Agalactia syndrome is due to four main (sub) species of *Mycoplasma* causing long-lasting and often silent infections. Symptoms, when they occur, are variable according to *Mycoplasma* and host species, age and physiological status. At the flock/herd level, the most frequent clinical picture includes a mammary, respiratory, joint and ocular expression which is often incomplete. Bacteriological (and sometimes serological) confirmation of epidemio-clinical suspicions is necessary for definitive diagnosis. Antibiotherapy generally does not allow the cure of infection. Current vaccines are not sufficiently efficient to prevent Contagious Agalactia infection and are not commercialised in France. Validation and application of control plans are variable according to husbandry type and mycoplasma species; they are effective in the French ovine or caprine districts strictly applying a sanitary policy against *M. agalactiae*.

Key words: sheep, goat, *Mycoplasma*, Contagious agalactia.

(1) (2) École nationale vétérinaire de Toulouse (Pathologie de la reproduction) et UMR INRA-ENVT 1225 (Interactions hôtes-agents pathogènes) – 23, chemin des Capelles 31076 Toulouse cedex 3 – d.bergonier@envt.fr

L'Agalactie contagieuse (AC) constitue, chez les petits ruminants, la mycoplasmoses la plus commune et la plus grave en Europe. De plus, chez les caprins, l'AC représente une dominante pathologique sur tout le territoire français.

ÉTIOLOGIE

Caractères généraux des mycoplasmes

Ils sont traités dans la présentation de D. Le Grand. L'un des caractères fondamentaux, de par ses conséquences opérationnelles, est la perte des gènes codant pour la biosynthèse de la paroi (*figure 1*).

Mycoplasmes responsables du syndrome Agalactie contagieuse

Le premier agent de l'AC historiquement décrit est *M. agalactiae*. Il a longtemps été considéré comme le seul. Dans les années 1970 et 1980, des tableaux cliniques caprins assez proches ont été attribués à de « nouvelles » espèces: *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony et *M. capricolum* subsp. *capricolum*. Enfin, l'implication, plus rare, de *M. putrefaciens* dans des foyers cliniquement similaires a été plus récemment démontrée. Aujourd'hui, on regroupe communément sous l'appellation d'Agalactie contagieuse le syndrome mycoplasmatique dû à l'un ou plusieurs de ces 4 agents, même si les tableaux cliniques dépassent largement l'atteinte de la mamelle. Exceptionnellement, des syndromes partiels du même type peuvent

être causés par d'autres mycoplasmes, rarissimes en France. Il est fréquent d'isoler dans un même troupeau caprin, et parfois chez une même chèvre, plusieurs espèces mycoplasmatiques (Bergonier & Poumarat, 1996; Bergonier *et al.* 1997; Bergonier & Thiaucourt, 2003; Da Massa *et al.* 1987a; Da Massa *et al.* 1992; Mercier *et al.* 2000).

M. agalactiae représente une espèce phylogénétiquement éloignée du « groupe mycoïdes », auquel appartiennent *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony et *M. capricolum* subsp. *capricolum*. Au sein de ce groupe, les différents mycoplasmes présentent une forte proximité génétique et antigénique. Suite à des travaux récents, des transferts horizontaux de gènes entre différents mycoplasmes pouvant coloniser les mêmes hôtes (oreille externe de la chèvre par exemple), au sein du groupe « mycoïdes » et avec *M. agalactiae*, sont fortement suspectés. Des protéines de surface communes pourraient donc exister, rendant plus difficile l'identification spécifique. C'est l'une des raisons pour lesquelles l'identification d'espèce reste délicate, et la taxonomie quelque peu complexe (Da Massa *et al.*, 1987a; Nicolet 1994; Citti 2006).

Pour le praticien, l'objectif n'est probablement pas de connaître les différences, parfois subtiles, pouvant exister entre biotypes ou sous-espèces, compte tenu de cette relative complexité taxonomique et de l'absence d'impact sur la conduite à tenir. Il est en revanche fondamental de différencier les mycoplasmes pathogènes des mycoplasmes saprophytes (*M. arginini* par exemple).

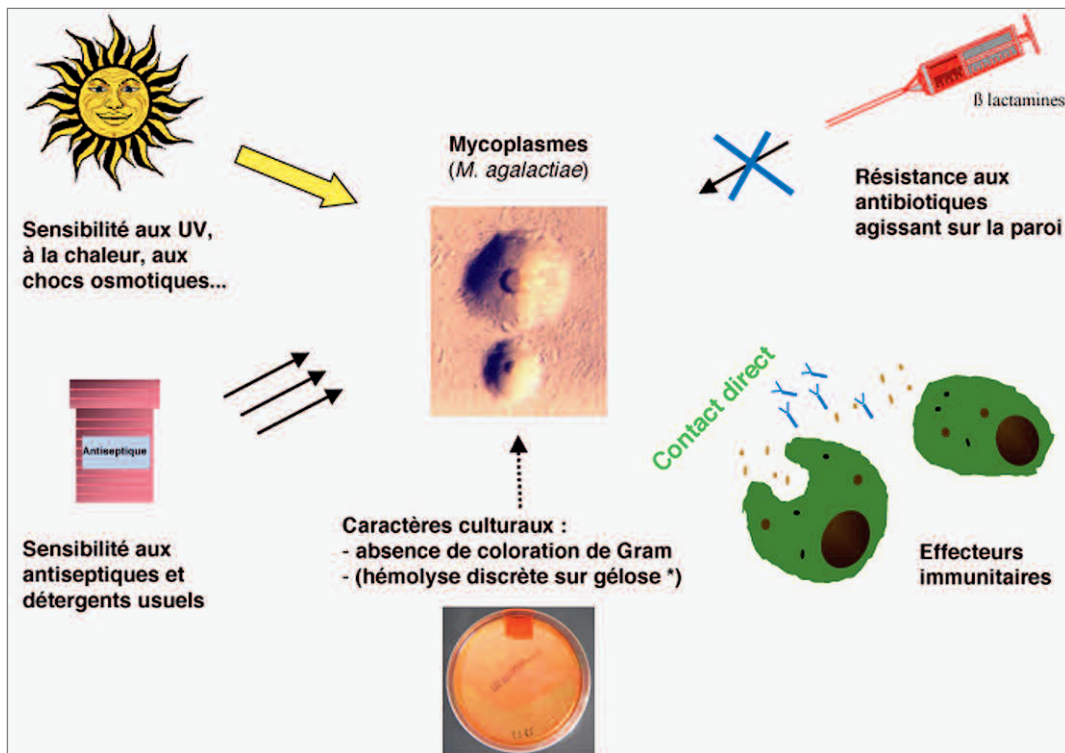


Figure 1 : Les mycoplasmes sont dépourvus de paroi : conséquences. (* indépendant de l'absence de paroi).

SYMPTÔMES

Caractères généraux

L'AC présente un caractère protéiforme. Une triple expression clinique est possible : mammaire, articulaire et oculaire, n'excluant pas une atteinte respiratoire. Ces trois types de symptômes constituent une triade évocatrice, mais qui apparaît en général dissociée dans le temps et/ou d'une région ou filière à l'autre. L'expression la plus typique est en général l'atteinte mammaire observée chez les femelles en lactation. Des formes partielles ou sub-cliniques peuvent exister.

L'évolution de ces tableaux dépend de la forme clinique en cours (aiguë à chronique), du statut immunitaire spécifique et général et des mesures instaurées. Des exemples de récupération fonctionnelle totale ont été décrits. À l'opposé, dans des troupeaux nouvellement atteints par *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony et en particulier par *M. capricolum* subsp. *capricolum*, beaucoup de caprins meurent ou perdent toute valeur économique (Zavagli, 1951 ; Nicolet, 1994 ; Bergonier & Poumarat, 1996 ; Da Massa *et al.*, 1992 ; Bergonier *et al.*, 1997 ; Bergonier & Thiaucourt, 2003 ; collectif, 1984, 1985 ; Perrin, 1993).

Caractères différentiels

Particularités d'espèces mycoplasmiques

M. agalactiae

L'atteinte quasi-systématique de la mamelle est bien souvent la première et parfois, la seule constatée en lactation. Symptômes oculaires et articulaires sont, ensuite, de fréquences approximativement identiques (moins de 20 à 30 % du troupeau en général chez les ovins). Les symptômes mammaires sont au moins fonctionnels (hypogalactie passagère à agalactie brutale) ; les signes cardinaux macroscopiques de l'inflammation aiguë sont inconstants.

Les poly-arthrites (carpes, torses) ainsi que les conjonctivites ou kératites peuvent concerner toutes les catégories d'animaux. Moins fréquemment, des diarrhées et surtout des avortements peuvent survenir, seuls ou associés au tableau clinique typique.

Les pneumonies sont plus fréquentes chez les jeunes (et les chèvres) et, par ailleurs, chez les bouquetins. Des formes septicémiques avec une expression clinique discrète sont possibles (Zavagli, 1951 ; Bergonier & Poumarat, 1996).

Mycoplasma mycoides subsp. *mycoides* LC

La symptomatologie est marquée par une plus forte variabilité, liée à une grande diversité des organes-cibles et à des évolutions différentielles (septicémies mortelles à infections asymptomatiques).

Les atteintes mammaires, respiratoires et articulaires sont de fréquences globalement équivalentes chez l'adulte en lactation. Des poly-arthrites, souvent très nettes chez les caprins, apparaissent en association ou indépendamment des mammites. Les

caprins et les ovins peuvent présenter des bronchopneumonies ou des pleurésies induisant jusqu'à 60 % de mortalité. Les conjonctivites et/ou kératites sont moins fréquentes. Avortements, péritonites ou abcès localisés sont assez rares.

Chez les chevreux, on note souvent des infections généralisées (mortalité néonatale importante). Les manifestations locales sont principalement des polyarthrites, des pneumonies, et moins fréquemment, des diarrhées et des kératites et/ou conjonctivites. Une atteinte du système nerveux central est possible (Da Massa *et al.*, 1987a ; Nicolet, 1994 ; Da Massa *et al.*, 1992 ; Bergonier & Poumarat, 1996 ; collectif, 1984, 1985 ; Perrin, 1993).

Mycoplasma capricolum subsp. *capricolum*

Les deux caractéristiques différenciant *M. agalactiae* de *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony s'appliquent aussi pour *M. capricolum* subsp. *capricolum* : syndromes pouvant être hautement destructeurs (incidence très élevée, en particulier chez les chevreux), de symptomatologie variable.

La majorité des descriptions originales rapportent un syndrome caractéristique de l'AC (voir ci-dessus), même s'il est plus ou moins complet, où l'atteinte articulaire domine.

Dans certains pays, des tableaux dominés par une symptomatologie respiratoire peuvent être observés chez les ovins, en association avec des conjonctivites et/ou kératites et chez les caprins, avec des arthrites et mammites, voire des avortements possibles.

Chez les chevreux, l'atteinte est du même type que celle par *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony (Da Massa *et al.*, 1987a ; Bölske *et al.*, 1988 ; Da Massa *et al.*, 1992 ; Bergonier & Poumarat, 1996).

Mycoplasma putrefaciens

M. putrefaciens possède un tropisme articulaire, surtout, chez les caprins, la localisation mammaire restant prépondérante. Des évolutions bactériémiques ont été rapportées. La question du tropisme respiratoire (voire génital) reste posée. Les descriptions de tableaux cliniques restent cependant rares.

Il provoque une infection de nature et de gravité intermédiaires entre les mycoplasmoses primaires (*M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony, *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. agalactiae*) et les mycoplasmoses dites d'association (*M. ovipneumoniae* par exemple) (Da Massa *et al.* 1987a, 1987b, 1992 ; Bergonier & Poumarat, 1996).

Particularités de tropismes

Des formes cliniques, que nous considérons en France comme atypiques, sont décrites en Afrique, Asie, Australie... Elles peuvent avoir une fréquence ou une importance significative localement. Le praticien doit les garder en tête.

M. agalactiae et *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony (rarement *M. capricolum* subsp. *capricolum*) sont respectivement à

l'origine de vulvovaginites granuleuses chez la chèvre et de balanoposthites-vulvovaginites ulcéreuses chez les ovins. Métrite, salpingite et dégénérescence testiculaire ont été ponctuellement associées, chez la chèvre, à l'isolement de *M. putrefaciens* (associé à *M. agalactiae*) (Singh *et al.*, 1974; Trichard *et al.*, 1993; Kidanemariam *et al.*, 2005a, 2005b; Sylla *et al.*, 2005).

Des pleuro-pneumonies, sans autre symptôme majeur, dues à *M. agalactiae* ont été observées dans divers pays, principalement chez des caprins (Bergonier & Poumarat, 1996).

La Maladie des Œdèmes des chèvres de Sparte, sporadique en Grèce et en Turquie, se présente sous la forme d'un syndrome aigu à suraigu, fatal en trois à cinq jours, avec hyperthermie et installation d'œdèmes chauds et douloureux. Elle serait due à *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony ou *M. capricolum* subsp. *capricolum*.

Particularités d'expression

Une distinction doit être faite entre l'observation de tableaux cliniques de gravité régressive au cours du temps pour un même animal ou troupeau, pouvant aboutir à une absence d'expression clinique, et l'existence de formes d'emblée asymptomatiques. Tous les mycoplasmes, y compris les plus pathogènes, peuvent être isolés à partir de troupeaux sans signe clinique (lait de tank). Ces bactéries doivent être considérées comme des « parasites », pour lesquels la colonisation des muqueuses, souvent silencieuse, est la règle et l'expression du pouvoir pathogène, l'éventualité.

ÉPIDÉMIOLOGIE ANALYTIQUE

Sources mycoplasmiques (figure 2)

La bactériémie, précédant généralement la phase d'état de la maladie, est à l'origine d'une excrétion abondante et diversifiée lors de la phase clinique. Les autres cas sont abordés ci-dessous.

Portage post-clinique

Une des sources majeures est l'excrétion galactophore (et/ou le portage dans les nœuds lymphatiques rétro-mammaires). Elle peut perdurer pendant plusieurs mois, y compris après une période sèche ou même, à l'échelon du troupeau, plusieurs années après l'épisode clinique initial. Les autres sites anatomiques de portage sont les appareils respiratoire, digestif et génital (voire les articulations et culs-de-sac conjonctivaux) et les nœuds lymphatiques associés (Nicolet 1994; Bergonier & Poumarat, 1996; Mercier *et al.*, 2000).

Portage indépendant de l'expression clinique

Les conduits auditifs externes constituent l'habitat le plus fréquent. Chez la chèvre, les quatre mycoplasmes majeurs de l'AC y sont régulièrement identifiés parmi d'autres. La colonisation de l'oreille externe peut faire suite à une bactériémie, mais plus fréquemment sans doute à l'intervention d'acariens hématophages (ou d'arthropodes piqueurs) qui hébergent les mêmes mycoplasmes. Ces réservoirs auriculaires pouvant être riches, il a été suggéré de les considérer comme un site prioritaire de

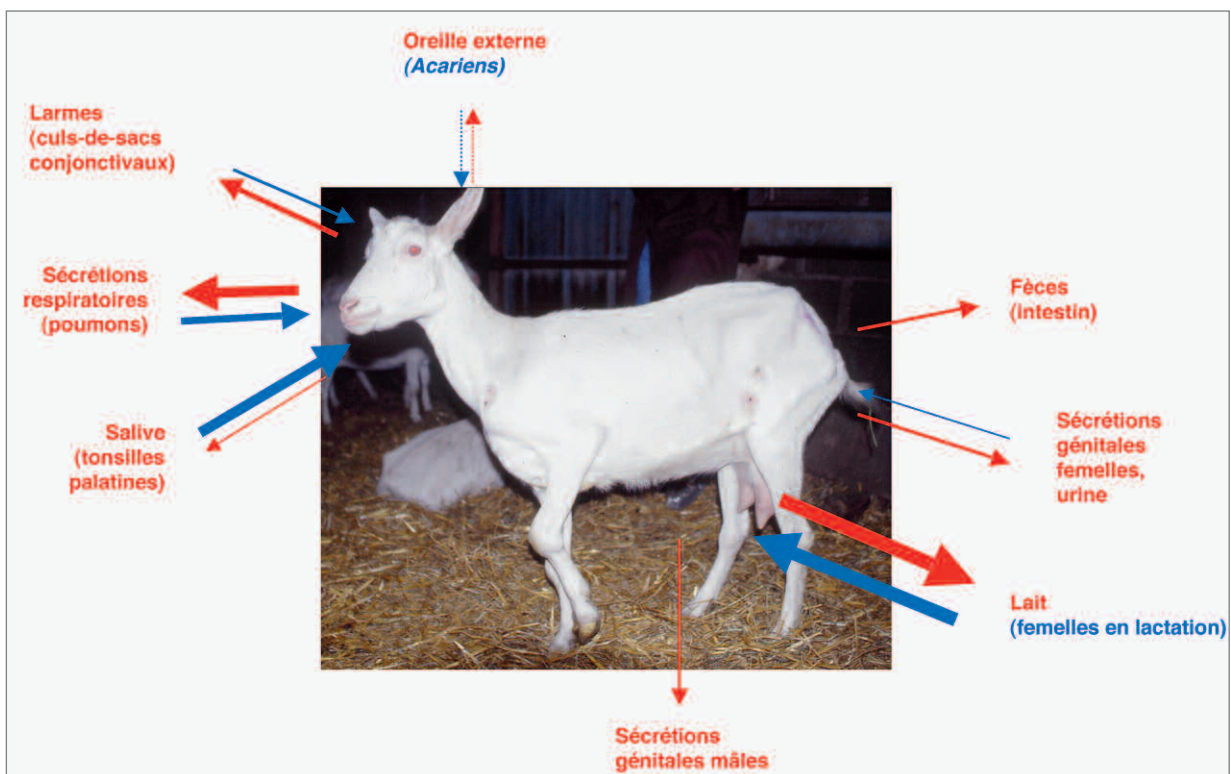


Figure 2: Sources animales de mycoplasmes (excrétion, et portage entre parenthèses) (en rouge), et voies de pénétration (en bleu).

prélèvements. Les conséquences de ce portage, fréquent dans l'estimation du risque de mycoplasmosé clinique, reste délicat (Da Massa & Brooks, 1991 ; Da Massa *et al.*, 1994 ; Bergonier & Poumarat, 1996).

Milieu extérieur

Les mycoplasmes ne semblent pas aptes à une longue survie dans le milieu extérieur, mais l'environnement peut constituer, de manière transitoire au moins, un réservoir de germes.

En moyenne, la survie serait de l'ordre d'une à deux semaine(s) à l'extérieur à température ambiante, un à plusieurs mois au frais (4 à 8 °C) et 6 mois et plus à -20 °C. Les quelques estimations de survie disponibles montrent cependant une variabilité assez importante pour certains supports et/ou certains mycoplasmes, ce qui pourrait être mis en relation avec la découverte récente de leur capacité à former des biofilms, au moins sur des surfaces inertes (*M. agalactiae*, *M. bovis*). Les conséquences opérationnelles ne sont pas connues à ce jour : persistance réelle dans la machine à traire, la litière, ... (Zavagli, 1951 ; Nicolet, 1994 ; Bergonier *et al.*, 1997 ; Mcauliffe *et al.*, 2006)

Voies de pénétration (figure 2)

La voie mammaire a un rôle très important dans les systèmes laitiers. La colonisation diathélique est favorisée par les défauts de technique (phénomène d'impact) ou de matériel de traite et par l'absence générale d'antisepsie des trayons chez les petits ruminants.

La voie orale est considérée comme une voie majeure. Elle est probablement à l'origine d'un portage tonsillaire et/ou intestinal. Celui-ci serait le lieu privilégié d'adhésion, puis d'invasion éventuelle.

La voie nasale est probablement importante, même si des différences peuvent exister entre *M. agalactiae* et *M. putrefaciens* d'un côté et le groupe « *mycoides* » de l'autre.

Les voies oculaire et génitale revêtent en conditions naturelles une importance mal quantifiée, mais probablement accessoire (Zavagli, 1951 ; Sanchis *et al.*, 1997 ; Bergonier & Thiaucourt, 2003).

Facteurs de susceptibilité

Les caprins présentent la réceptivité la plus large, indépendamment de leur propension à exprimer plus nettement les symptômes. Il est possible d'isoler chez eux, outre divers acholeplasmes, *M. agalactiae*, les six mycoplasmes du groupe « *mycoides* », *M. putrefaciens*, *M. auris*, *M. cottewi*, *M. yeatsii*, ainsi que plus rarement *M. arginini*, *M. conjunctivae* et *M. ovipneumoniae*. Il n'est guère que ce dernier mycoplasme, ainsi que *M. sp. 2D* (sérotype 11), à trouver chez les ovins des hôtes plus réceptifs (collectif, 1984, 1985 ; Perrin, 1993, Da Massa *et al.*, 1992, 1994).

Les jeunes présentent la plus grande sensibilité (*M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony et *M. capricolum* subsp. *capricolum* en particulier). Les béliers présentent les symptômes les plus frustes, indépendamment de la susceptibilité d'espèce.

L'importance de la gestation et de la lactation dans l'exacerbation de l'infection a été confirmée (Zavagli, 1951 ; Sanchis *et al.*, 1997).

Les facteurs zootechniques ou nutritionnels sont importants, en particulier chez la chèvre : traite mécanique inadaptée, logement insuffisant ou surpeuplement, déséquilibre alimentaire, facteurs débilissants de nature pathologique ou environnementale... (Zavagli, 1951 ; Da Massa *et al.*, 1987b ; Bergonier & Poumarat, 1996).

Transmission (figure 3)

La transmission horizontale directe est importante lorsque l'excrétion respiratoire est significative (*M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony, *M. capricolum* subsp. *capricolum*). La traite a un rôle majeur dans la transmission des mycoplasmes mammaires.

Des vecteurs parasitaires pourraient intervenir (caprins) dans la transmission des mycoplasmes de l'AC comme de *M. ovis* (hémoplasme) : acariens, puces, ...

La transmission de la mère au jeune se fait tout d'abord *in utero*. Il est en effet possible d'isoler *M. agalactiae*, *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony ou Mcc à partir d'avortons ou d'articulations pathologiques de nouveaux-nés viables à terme. La transmission *per partum* ne peut être exclue. La transmission par la tétée est probablement le mécanisme essentiel de la mère au jeune (collectif, 1984, 1985 ; Nayak & Bhowmik, 1990 ; Da Massa & Brooks, 1991 ; Perrin, 1993 ; Da Massa *et al.*, 1994 ; Bergonier & Poumarat, 1996).

DIAGNOSTIC

Suspicion clinique

Elle est fondée sur l'observation des symptômes présentés ci-dessus, seuls ou en association, et en intégrant la variabilité existant entre les classes d'animaux et l'évolution clinique sur plusieurs campagnes (évolution fréquente d'une atteinte mammaire dominante à des atteintes articulaire ou respiratoire, voire l'inverse...). Le contexte épidémiologique est classiquement celui de contacts ou de mélanges d'animaux (estives, mises en pension, foires, ateliers d'engraissement, ...), d'introductions (achat, prêt) ou de facteurs déclenchants. Dans tous les cas, le recours au laboratoire est nécessaire.

Diagnostic étiologique

Prélèvements

Lors de suspicion clinique, les prélèvements portent sur les organes présentant les atteintes les plus nettes et récentes (animaux non traités).

Le prélèvement de choix, en particulier *ante mortem*, est le lait, compte tenu du tropisme majeur pour la mamelle et de la facilité de prélèvement. Il doit être collecté aseptiquement et trans-

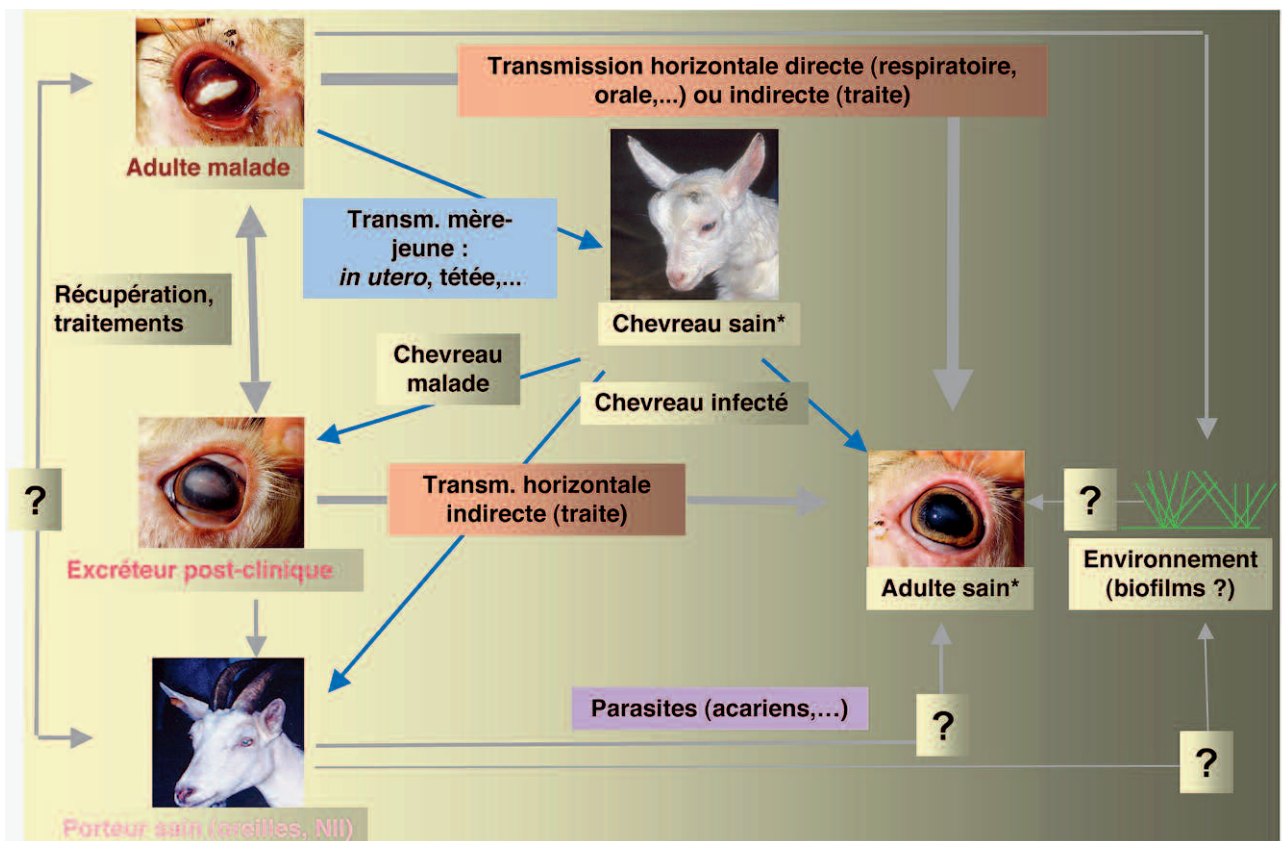


Figure 2 : Sources animales de mycoplasmes (excrétion, et portage entre parenthèses) (en rouge) et voies de pénétration (en bleu). NII : nœuds lymphatiques. * Cliniquement sain et non infecté.

porté rapidement au laboratoire sous le couvert du froid positif (éviter de congeler à -20°C les différents prélèvements).

Le liquide synovial peut constituer un bon prélèvement, surtout après lavage articulaire avec un bouillon de culture ou un sérum physiologique stérile pour en augmenter le rendement culturel. Ce prélèvement donne cependant des résultats inégaux, surtout lorsque l'arthrite est chronique. Il est principalement réalisé à l'autopsie compte tenu de sa difficulté (douleur, tonte et asepsie nécessaires).

L'écouvillonnage oculaire (culs-de-sacs conjonctivaux) et les prélèvements génitaux ou pulmonaires (autopsie) sont intéressants si ces organes sont atteints, mais pourront être contaminés par des micro-organismes ou des mycoplasmes saprophytes (*M. arginini*,...). La plus grande attention doit être portée au respect des conditions de propreté et d'asepsie. Les écouvillons doivent être placés très rapidement dans un milieu de transport ou de culture adéquat etensemencés sans délais. Dans certains cas, ils peuvent faire l'objet d'une PCR directe et donc être simplement réfrigérés ou congelés (*M. conjunctivae*).

En l'absence de symptôme, il est instructif et aisé de prélever du lait de tank (réalisé en France dans les départements mettant en œuvre un plan de lutte contre *M. agalactiae*). Ce prélèvement doit idéalement être réalisé à plusieurs reprises (en particulier en cas de négativité), plutôt en début de campagne

(excrétion maximale) et d'emblée, additionné d'antibiotique à large spectre (céphalosporine de dernière génération par exemple).

À l'échelon individuel, les prélèvements peuvent intéresser le lait ou les conduits auditifs externes, en particulier chez les caprins (Da Massa *et al.*, 1992; Perrin, 1993; Nicolet, 1994; Bergonier & Poumarat, 1996; Bergonier *et al.*, 1997; Bergonier & Thiaucourt, 2003).

L'ensemble, associé à la sérologie ELISA, peut contribuer à limiter les risques d'introduction de chèvres porteuses, mais pas à les supprimer. La principale limitante analytique est en effet l'absence de trousse sérologique disponible pour le « groupe mycoïdes » (voir ci-dessous).

Isolement

Onensemencera les prélèvements précédents (sauf le lait de tank) à la fois sur milieu à large spectre (type gélose au sang) et sur milieux pour mycoplasmes.

Brièvement, les milieux de culture pour mycoplasmes doivent être spécifiques. Leur composition particulière les rend partiellement sélectifs et favorise la culture de ces micro-organismes à croissance, en moyenne, plus lente que la majorité des bactéries classiques. Les espèces impliquées dans l'AC se cultivent toutefois sans difficulté sur les milieux mycoplasmiques usuels

(un à deux jours pour *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony ou *M. capricolum* subsp. *capricolum*, deux à cinq pour *M. agalactiae*). La meilleure solution est d'ensemencer en bouillons mycoplasmes, permettant un repiquage aisé, puis une congélation éventuelle et un envoi postal facile (Nicolet, 1994; Bergonier & Poumarat, 1996). Cette culture initiale est nécessaire pour la majorité des mycoplasmes, à quelques exceptions près.

Identification

Le praticien doit au minimum disposer de l'identification au genre, associée au résultat de la bactériologie classique (non mycoplasémique). L'identification d'espèce paraît impérative pour les troubles respiratoires, car des mycoplasmes saprophytes sont fréquemment isolés (*M. arginini*). Elle est recommandée dans les autres cas.

Brièvement, la technique d'immuno-empreinte (sur membrane ou, mieux, en microplaques poreuses : MF dot) constitue un progrès par rapport à la précédente, du fait de sa faisabilité, de son rendement, de sa standardisation et de la possibilité de détecter des mélanges de mycoplasmes (Poumarat *et al.*, 1991).

Cette technique sérologique ne permet cependant pas toujours une différenciation fine ou définitive des espèces, en particulier au sein du groupe « mycoides ». Il existe en effet des communautés antigéniques à l'intérieur du groupe et avec d'autres espèces, voisines (*M. putrefaciens*,...) ou, rarement, plus éloignées (*M. agalactiae*). La récente mise en évidence de transferts génétiques horizontaux chez certains mycoplasmes des ruminants (du groupe « mycoides » vers *M. agalactiae*) pourrait en effet fournir l'une des explications à certaines réactions sérologiques croisées. D'autre part, une forte hétérogénéité antigénique caractérise plusieurs espèces (*M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony) : il faudrait donc en théorie utiliser plusieurs sérums par espèce.

Les techniques d'amplification génique (PCR) ont été développées postérieurement. En ce qui concerne les amorces disponibles, plusieurs possibilités globalement satisfaisantes existent pour détecter *M. agalactiae*, en particulier en amplifiant des gènes essentiels, non variables. En revanche, pour le groupe « mycoides », certaines séquences proposées ne sont pas suffisamment conservées au sein des (sous) espèces *M. mycoides* subsp. *mycoides* Large Colony, *M. capricolum* subsp. *capricolum* (Nicolet, 1994; Bergonier & Poumarat, 1996; Le Grand *et al.*, 2004; Flitman-Tene *et al.*, 2003; Citti, 2006).

L'intérêt de la PCR pour la différenciation des espèces dépend ainsi, entre autres, du mycoplasme recherché, de la matrice biologique et du contexte d'utilisation. Sa sensibilité ne paraît pas aujourd'hui suffisante pour s'affranchir systématiquement, en routine, d'un enrichissement en bouillon. En dehors de certains cas particuliers (plans de lutte contre *M. agalactiae*), elle doit plutôt être considérée comme une technique complémentaire de l'identification sérologique qui doit être conservée. Ce domaine est cependant en constante évolution.

Sérodiagnostic ELISA (de *M. agalactiae* principalement)

D'un point de vue technique, les techniques ELISA de première génération (antigène total) sont plus sensibles que les techniques anciennes (fixation du complément), mais leur spécificité devait être améliorée (par exemple par l'utilisation d'un conjugué monoclonal) (Nicolet 1994; Lambert *et al.* 1998; Kittelberger *et al.* 2006). Des techniques ELISA de deuxième génération (de compétition avec anticorps monoclonaux ou recombinants), de sensibilité et spécificité améliorées, ont été proposées et pour certaines commercialisées. Plusieurs troupes antigéniquement complémentaires, et ayant fait l'objet d'évaluations indépendantes et publiées (Rosati *et al.*, 2000; Pépin *et al.*, 2003), étaient disponibles pour *M. agalactiae* (troupes Bommeli, Pourquier). Il ne reste plus aujourd'hui que la seconde sur le marché.

Un travail équivalent pour les mycoplasmes du groupe « mycoides » devrait être consenti. Il n'existe en effet à ce jour aucune technique sérologique disponible pour ces mycoplasmes.

D'un point de vue immunologique (*M. agalactiae*), la durée de la séroconversion, concomitante de l'installation des symptômes de l'infection par *M. agalactiae* à l'échelon individuel, est d'une dizaine de jours. La reconnaissance du nombre maximal de protéines survient 30 jours après l'apparition des symptômes et persiste mal pour certaines d'entre elles. L'excrétion précède l'installation des premiers signes, la durée d'incubation étant variable; les séropositivités ne deviennent utilisables pour le diagnostic que quelques semaines plus tard. Très peu d'informations sont disponibles sur la sérologie dans les cas de portage ou d'excrétion asymptomatique.

La persistance sérologique (IgG, antigène total) est de plusieurs mois après inoculation et excède, en général, la lactation en cours (13 mois et 3 ans ont été rapportés). La **figure 4** présente deux exemples de cinétique sérologique de brebis suivies à l'ENVV, chez lesquelles nous avons reproduit expérimentalement l'AC par inoculation de *M. agalactiae* par voie sous-cutanée. La négativité des indices sérologiques de troupeaux (système français de qualification des élevages) n'intervient en moyenne que cinq ans après la déclaration clinique initiale. Les derniers troupeaux ne redeviennent pas séronégatifs avant huit ans (Bergonier & Poumarat, 1996).

D'un point de vue opérationnel, les techniques ELISA sont principalement utiles pour la qualification exhaustive des cheptels (dans les départements des Pyrénées Atlantiques, de la Savoie et de la Haute Savoie), pour le dépistage (en complément du diagnostic direct) en l'absence de symptômes nets, et pour les études épidémiologiques. Elles constituent un outil précieux et fortement complémentaire du diagnostic direct des mycoplasmoses des ruminants.

TRAITEMENT

Le traitement de l'AC est fortement déconseillé dans les départements français appliquant une réglementation locale

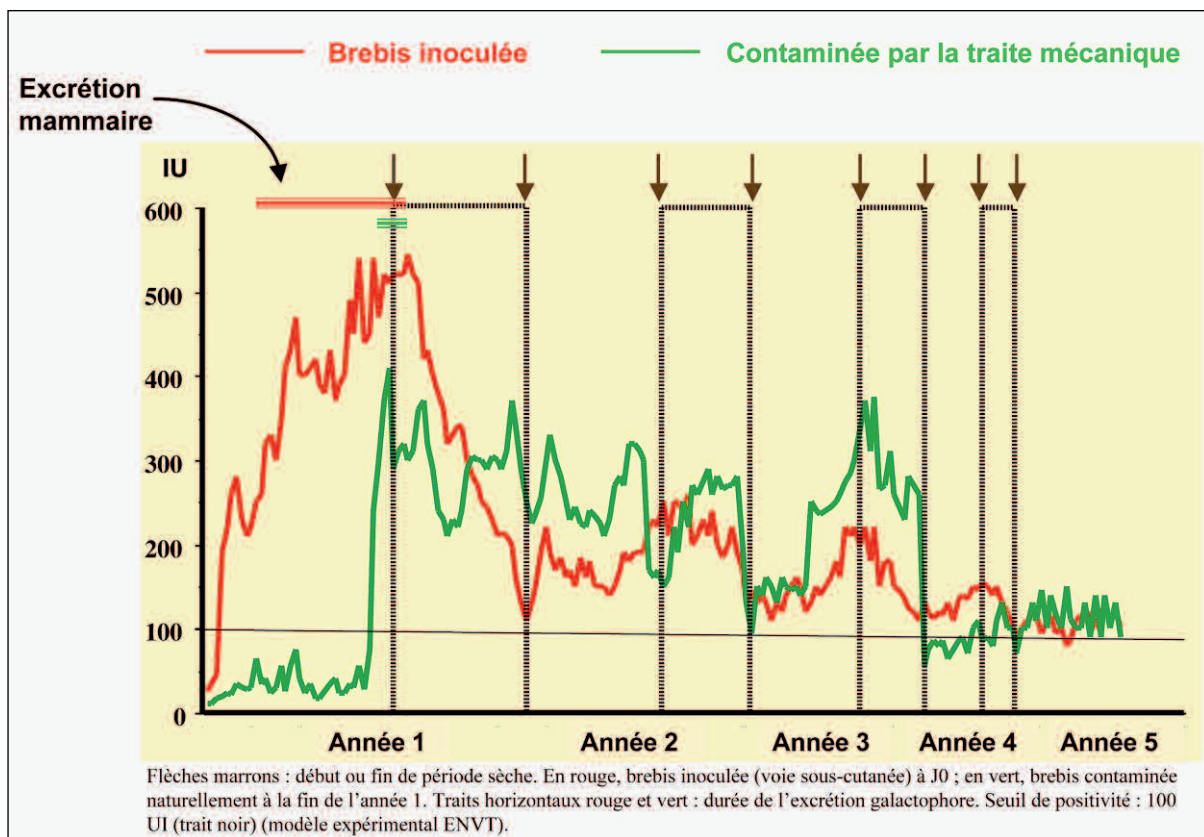


Figure 4 : Cinétiques sérologiques (ELISA) durant 5 années sur brebis adultes (*Mycoplasma agalactiae*).

(Arrêtés préfectoraux) fixant les règles d'une prophylaxie à caractère purement sanitaire, dans un but d'éradication, mise en œuvre par les groupements de défense sanitaire (GDS) des départements des Pyrénées Atlantiques, de la Savoie et de la Haute Savoie. En effet, l'antibiothérapie peut favoriser l'émergence de porteurs chroniques asymptomatiques sans diminuer significativement la contagiosité ou au moins le portage. Dans les autres départements, le traitement est largement utilisé avec, en général, des résultats décevants concernant le rapport coût efficacité. Il n'existe cependant pas dans ces départements de réelle alternative.

Limites de l'antibiothérapie

La première limite de l'efficacité est liée aux particularités de localisation des mycoplasmes (lésions chroniques d'arthrites, de mammites, portage lymphatique,...). L'élimination, voire la concentration, dans le lait, les larmes ou les sécrétions respiratoires constituera un des critères de choix des traitements. La diffusion tissulaire vers les sites de portage est (très) limitée pour les conduits auditifs, voire les amygdales et les culs-de-sac conjonctivaux.

Les mycoplasmes peuvent de plus avoir une localisation intracellulaire, épithéliale et leucocytaire. La capacité de certains mycoplasmes (*M. agalactiae*, *M. bovis*) à former des biofilms a été montrée *in vitro* mais pas encore formellement *in vivo* ; ce mode de

résistance pourrait être à l'origine d'une limitation de l'efficacité de certains traitements (Mcauliffe *et al.*, 2006). Par ailleurs, le traitement doit être débuté très précocement et durer dans le cas général au moins cinq jours (Da Massa *et al.*, 1987a).

Certains échecs sont également dus à la voie utilisée. Le traitement de l'AC devrait être réalisé par voie générale. Des traitements locaux peuvent être associés, en fonction de l'expression clinique : collyres et surtout suspensions intramammaires au tarissement.

Le coût moyen par animal est élevé par rapport à la valeur de réforme (en particulier chez la chèvre), sans que l'on puisse garantir la récupération fonctionnelle. Dans ces conditions, l'objectif de l'antibiothérapie réside uniquement dans l'obtention d'une guérison clinique des animaux, se révélant souvent transitoire ou partielle... Il est conseillé de traiter tous les animaux du troupeau.

Une synthèse des quelques essais thérapeutiques disponibles dans la littérature est disponible (Da Massa *et al.*, 1992 ; Nicolet 1994 ; Bergonier *et al.*, 1997).

Choix des antibiotiques

Les principaux antibiotiques utilisés sont les macrolides et les tétracyclines (bactériostatiques et temps-dépendants), voire les fluoroquinolones (bactéricides et dose-dépendants). Ils pré-

sentent tous trois une bonne diffusion et une distribution intra-cellulaire large. Secondairement, certains phénicolés (florfenicol), des lincosamides (lincomycine), la tiamuline, ... ont été testés. Les antibiotiques actifs sur la synthèse de la paroi sont inefficaces. Les macrolides, composés liposolubles, possèdent une bonne diffusion dans la mamelle.

D'importantes variations des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des mycoplames ont été rapportées en fonction des espèces, des souches et des antibiotiques. Il apparaît cependant que les CMI de *M. agalactiae* sont généralement plus basses que celles des autres espèces, et notamment de *M. bovis*. Selon la bibliographie internationale, les CMI de *M. agalactiae* les plus basses en moyenne seraient obtenues pour la tiamuline, la tylosine, la spiramycine, la lincomycine, la danofloxacin, l'enrofloxacin et les tétracyclines, avec une variabilité importante d'une étude à l'autre. Des CMI très élevées de certaines souches ont cependant été signalées avec l'oxytétracycline, la spectinomycine, la tylosine, la spiramycine, voire la tilmicosine et le florfenicol. L'état des résistances éventuelles en France pour les agents de l'AC n'est pas connu selon la littérature accessible. L'ensemble de ces résultats doit cependant être considéré avec prudence du fait d'importantes variations méthodologiques existant d'une étude à l'autre. La surveillance des résistances pouvant apparaître dans des régions où le recours à l'antibiothérapie est fréquent, paraît nécessaire (Hannan *et al.*, 1997; Loria *et al.*, 2003; Thomas *et al.*, 2003; Francoz *et al.*, 2005; Kidanemariam *et al.*, 2005b; Ayling *et al.*, 2006).

PROPHYLAXIE SANITAIRE

En dehors des trois départements français appliquant réglementairement un plan de prophylaxie sanitaire formalisé et validé à l'échelon national, des mesures sanitaires spécifiques ne sont appliquées à ce jour sporadiquement que dans les cas de foyers cliniques, caprins en général. L'objectif est de tendre vers l'achèvement de la validation, puis vers le développement de programmes réellement préventifs à systématiser dans les filières caprines. Mais avant cela, il faudrait pouvoir disposer d'un outil de sérodiagnostic performant pour le groupe « mycoïdes », et d'une meilleure compréhension du portage silencieux chez les caprins (oreille externe).

Maîtrise de l'AC dans un troupeau infecté

Lors de l'apparition d'un foyer confirmé, il est théoriquement conseillé de procéder à l'abattage total, compte tenu de la forte contagiosité des mycoplasmes, du caractère insidieux, durable et fréquent du portage et surtout, de la relative inefficacité des mesures de lutte. Lorsque l'abattage n'est pas possible, les mesures suivantes doivent être mises en place.

La réduction des sources de mycoplasmes intéresse surtout les réservoirs animaux. Les mesures d'abattage partiel sur la foi de la symptomatologie sont le plus souvent suivies, à la fin de la lactation ou au début de la suivante, par la réforme d'animaux n'ayant pas récupéré leur potentiel de production ou nouvel-

lement malades. La chute éventuelle du taux d'anticorps ne renseigne pas objectivement sur le statut infectieux et contagieux. Un diagnostic bactériologique individuel exhaustif (lait) sur des troupeaux entiers n'est pas envisageable financièrement, et surtout reste très aléatoire.

La désinfection est réalisée à l'aide d'antiseptiques usuels et est suivie d'un vide sanitaire. La récente mise en évidence de biofilms constitués par certaines souches de *M. agalactiae* sur des supports inertes renforce la nécessité d'accorder une attention accrue au nettoyage/désinfection de la machine à traire et des locaux d'élevage en général (McAuliffe *et al.*, 2006).

La limitation de la transmission entre adultes concerne d'abord la traite, par application des mesures classiques : antiseptie des trayons, ordre de traite, ... Elle est cependant loin d'être suffisante. En effet, l'autre voie de transmission majeure est aéro-phore et donc extrêmement difficile à contrôler. D'une manière générale, la réalisation de lots (infectés versus présumés sains) reste soumise à l'utilisation d'outils de diagnostic performants et peu onéreux, qui font actuellement défaut. Les animaux en attente d'être réformés doivent être taris et isolés dans un autre bâtiment.

La transmission *post partum* de la mère aux jeunes peut être enrayée en les séparant dès la naissance et en les nourrissant avec du colostrum chauffé (56 °C pendant 20 minutes) ou du colostrum bovin, puis avec du lait pasteurisé. Une antibiothérapie *per os* est également possible en ateliers d'engraissement.

L'intervention de vecteurs étant fortement suspectée, il est recommandé d'appliquer les mesures de lutte contre les arthropodes et les acariens (chèvre) (Nayak & Bhowmik, 1990; Da Massa & Brooks, 1991; Da Massa *et al.*, 1994).

La diminution de la susceptibilité des chèvres ou des brebis par des mesures non spécifiques paraît importante, puisqu'une bonne partie des cas cliniques surviennent dans des troupeaux présentant des défauts de conduite. Il conviendra donc de vérifier la ration (dont les apports en vitamines A, E, sélénium, ...) et le rationnement, la densité et l'ambiance en chèvrerie ou bergerie, l'état sanitaire global, le matériel et la technique de traite, ... Ces trois premières mesures sont bien sûr fondamentales pour le contrôle des foyers de mycoplasme respiratoire en ateliers d'engraissement (Da Massa *et al.*, 1987b; Nicolet, 1994).

Contrôle de l'AC dans une région infectée (*M. agalactiae* surtout)

Dans les régions d'enzootie, l'objectif peut être de circonscrire progressivement l'infection à certaines zones, puis, à terme, de viser un assainissement généralisé et pérenne. L'éradication est techniquement possible, comme le montre en France l'exemple béarnais ou savoyard. Ce type d'action doit s'appuyer sur la déclaration obligatoire (et la confirmation étiologique) des suspicions cliniques et sur la qualification annuelle exhaustive des troupeaux. Celle-ci est réalisée en appliquant la méthode ELISA aux sérums et les techniques bactériologiques aux laits de tank.

L'extension de l'infection est progressivement limitée en contrôlant les mouvements d'animaux (statut des troupeaux d'origine et, si possible, dépistage des lots en transaction). L'achat-vente et le prêt devraient être ainsi garantis. L'intérêt de la quarantaine avant introduction d'animaux est majoré si elle couvre la période de mise bas. D'autre part, la connaissance des statuts sanitaires de troupeaux permet de gérer leurs mouvements, en proposant des mélanges en pâturages collectifs après tarissement, des transhumances en pâturages-lazarets isolés ou des interdictions de transhumance. L'application de telles contraintes, par rapport aux conduites d'élevage traditionnelles, doit procéder d'une réglementation au moins départementale, prévoyant indemnités et subventions. La possibilité de repeupler avec des jeunes reproducteurs en nombre et de statut garanti reste bien sûr la clef de voûte de ce système.

CONCLUSION

La maîtrise des infections mycoplasmiques ne peut reposer sur la seule antibiothérapie, préventive ou curative en fonction des filières, et ne peut à ce jour s'appuyer sur des protocoles de vaccination éprouvés. Les mesures sanitaires, seules capables d'amener une progression vers l'assainissement ou la prévention efficace, devraient primer partout où cela est possible.

Pour ce faire, la première étape repose sur l'établissement de diagnostics précis, basés sur l'identification du (des) agent(s) en cause dans les cas cliniques et sur une meilleure connaissance de l'épidémiologie, avant la mise en place de plans de prophylaxie adaptés (cas de portage, achat, broncho-pneumonies enzootiques polyfactorielles,...). Sur le plan diagnostique, des progrès significatifs ont été réalisés ces dernières années à trois niveaux : acquisition en recherche fondamentale de bases moléculaires importantes au plan génomique et antigénique, applications pour le développement ou l'évaluation de divers tests PCR, et formalisation d'un service d'identification voire de typage de souches gratuit centralisé à l'AFSSA Lyon (réseau « Vigimyc », Poumarat *et al.*, 2006).

Les progrès à réaliser aujourd'hui devraient en particulier concerner l'amélioration du sérodiagnostic et la compréhension du portage (mycoplasmoses caprines) et, à plus long terme peut-être, la mise au point de candidats-vaccins (à réserver à certaines situations épidémiologiques).

Parallèlement, une prise de conscience collective ainsi qu'une structuration technique et opérationnelle de certaines filières devrait également voir le jour, de manière à pouvoir développer des programmes de contrôle plus ambitieux sur le plan préventif (garantie des achats en particulier).

BIBLIOGRAPHIE

- Ayling, R.D., Bisgaard-Frantzen, S., March, J.-B., Godinho, K., Nicholas, R.A.J. 2005. Assessing the in vitro effectiveness of antimicrobials against *Mycoplasma mycoides* subsp. *Mycoides* Small-Colony type to reduce contagious bovine pleuropneumonia infection. *Antimicrob Agents Ch.* 49: 5162 – 5165.
- Bergonier, D. & Poumarat, F. 1996. Agalactie contagieuse des petits ruminants : épidémiologie, diagnostic et contrôle. *Rev. Sci Tech Off Int Epiz.* 15 (4): 1431 – 1475.
- Bergonier, D., Berthelot, X., Poumarat, F. 1997. Contagious Agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Rev. Sci Tech Off Int Epiz.* 16: 848 – 873.
- Bergonier, D. & Thiaucourt, F. 2003. L'agalactie contagieuse des petits ruminants. In *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes* (ed. P.C. Lefèvre, J. Blancou et R. Chermette), pp. 809 – 825. Éditions Tec et Doc, Lavoisier.
- Bölske, G., Msami, H., Humlesjö, N.E., Emo, H., Jönsson, L. 1988. *Mycoplasma capricolum* in an outbreak of polyarthritis and pneumonia in goats. *Acta vet Scand.* 29 (3-4): 331 – 338.
- Citti, C. 2006. Les mycoplasmes : stratégies d'adaptation et de persistance. *Le nouveau praticien. Elevage et santé* 3: 15 – 21.
- Collectif. 1984. *Les maladies de la chèvre*. Niort, 9-11 octobre 1984. Les colloques de l'Institut National de la Recherche Agronomique. N° 28, édit. INRA, 340 pp.
- Collectif. 1985. Contagious Agalactia and other infections with *Mycoplasma mycoides*. In *Proceedings of CEC Meeting, Nice, september 1985*. 542 pp. Eur 10984 en-87, CEC, General Directorate, Information, Market and Innovation, Luxembourg.
- Da Massa, A.J. & Brooks, D.L. 1991. The external ear canal of goats and other animals as a mycoplasma habitat. *Small Ruminant Res.* 4: 85 – 93.
- Da Massa, A.J., Holmberg, C.A., Brooks, D.L. 1987a. Comparison of caprine mycoplasmosis caused by *Mycoplasma capricolum*, *Mycoplasma mycoides* subsp. *Mycoides* and *Mycoplasma putrefaciens*. *Isr J Med Sci.* 23(6): 636–640.
- Da Massa, A.J., Brooks, D.L., Holmberg, C.A., Moe, A.I. 1987b. Caprine mycoplasmosis: an outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *Vet Rec.* 120 (17): 409 – 413.
- Da Massa, A.J., Wakenell, P. S., Brooks, D.L. 1992. *Mycoplasmas* of goats and sheep. *J Vet Diagn Invest.* 4: 101 – 113.
- Da Massa, A.J., Tully, J.-G., Rose, D.C., Pitcher, D., Leach, R.H., Cottew, G.S. 1994. *Mycoplasma auris* sp. Nov., *Mycoplasma cotewii* sp. Nov., and *Mycoplasma yeatsii* sp. Nov., new sterol-requiring mollicutes from the external ear canals of goats. *Int Syst Bacteriol.* 44: 479 – 484.

- Flitman-Tene, R., Mudahi-Orenstein, S., Levisohn, S, Yogev, D. 2003. Variable lipoprotein genes of *Mycoplasma agalactiae* are activated in vivo by promoter addition via site-specific dna inversions. *Infect Immun.* 71 (7):3821–3830.
- Francoz, D., Fortin, M., Fecteau, G., Messier, S. 2005. Determination of *Mycoplasma bovis* susceptibilities against six antimicrobial agents using the e test method. *Vet Microbiol.*, 105: 57 – 64.
- Hannan, P.C.T., Windsor, G.D., De Jong, A.N., Schmeer, N., Stegemann, M. 1997. Comparative susceptibilities of various animal-pathogenic mycoplasmas to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Ch.* 41: 2037 – 2040.
- Kidanemariam, A., Gouws, J., Van Vuuren, M., Gummov, B. 2005. Ulcerative balanitis and vulvitis of Dorper sheep in South Africa: a study on its aetiology and clinical features. *J South African Vet Assoc.* 76(4):197–203.
- Kidanemariam, A., Gouws, J., Van Vuuren, M., Gummow, B. 2005. *In vitro* antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma mycoides mycoides* Large Colonies and *Arcanobacterium pyogenes* isolated from clinical cases of ulcerative balanitis and vulvitis in Dorper sheep in South Africa. *J South African Vet Assoc.* 76: 204 – 208.
- Kittelberger, R., O’Keefer, J.-S., Meynell, R., Sewell, M, Rosati, S, Lambert, M., Dufour, P., Pépin, M. 2006. Comparison of four diagnostic tests for the identification of serum antibodies in small ruminants infected with *Mycoplasma agalactiae*. *Nz Vet J.* 54(1):10–15.
- Lambert, M., Calamel, M., Dufour, P, Cabasse, E, E., Vitu, C., Pépin, V. 1998. *Et al.* Detection of false-positive sera in Contagious agalactia with a multiantigen ELISA and their elimination with a protein G conjugate. *J Vet Diagn Invest.* 10 (4): 326 – 330.
- Le Grand, D., Sara, E., Blond, D., Solsona, M., Poumarat, F. 2004. Assessment of PCR for routine identification of species of the *Mycoplasma mycoides* cluster in ruminants. *Vet Res.* 35(6):635–649.
- Loria, G.R., Sammantino, C., Nicholas, R.A., Ayling, R.D. 2003. In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin-spectinomycin. *Res Vet Sci.* 75 (1):3–7.
- Mcauliffe, L., Ellis, R.J., Miles K., Ayling, R.D., Nicholas, R.A. 2006. Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology* 152: 913 – 922.
- Mercier P., Lenfant D. and Perrin G. 2000. Contagious agalactia in goats in Center-West of France. In *Mycoplasmas of ruminants : pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics* (ed. J.B. Poveda, A. Fernandez, J. Frey). pp. 130 – 133, Eur 16934 – cost 826 – Commission Européenne. Office des publications officielles des Communautés européennes, Luxembourg.
- Nayak, N.C. & Bhowmik, M.K. 1990 Goat flea (order siphonaptera) as possible vector for the transmission of caprine mycoplasmal polyarthrititis with septicaemia. *Preventive Vet Med.* 9: 259 – 266.
- Nicolet, J. 1994. Infections à mycoplasmes chez les bovins, ovins et caprins : méthodes de diagnostic et de prophylaxie. In *Rapports de synthèse sur les thèmes techniques présentés au comité international ou aux commissions régionales*, pp. 31 – 42, Office International des Epizooties, Paris.
- Pépin, M., Dufour, P., Lambert, M., Valognes, A., Rotis, T., Van de Wiele, A., Bergonier, D. 2003. Comparison of three enzyme-linked immunosorbent assays for serologic diagnosis of contagious agalactia in sheep. *J Vet Diagn Invest.* 15(3):281–285.
- Perrin, G. 1993. *Pathologie caprine et production.* Deuxième colloque international, Niort, 26 – 29 juin 1993. Centre de coopération internationale en recherche agronomique et pour le développement - Département d'élevage et de médecine vétérinaire tropicale (CIRAD-DENV), Maisons-Alfort, 560 pp.
- Poumarat, F., Perrin, B., Longchambon, D. 1991. Identification of ruminant mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration. *Vet Microbiol.* 29: 329 – 338.
- Poumarat, F., Le Grand, D., Mercier P., Tardy, F., Garivaud, P., Calavas, D.. 2006. Vigimyc: le réseau français d'épidémiologie des mycoplasmoses des ruminants. *Bilan 2003-2005. Le nouveau praticien, Elevage et santé* 3 : 22 – 26.
- Rosati, S., Robino, P., Fadda, M., Pozzi, S., Mannelli, A, Pittau, M. 2000. Expression and antigenic characterization of recombinant *Mycoplasma agalactiae* P48 major surface protein. *Vet Microbiol.* 71 : 201 – 210.
- Sanchis, R. Abadie G., Lambert M. and Pepin, M. 1997. Experimental conjunctival-route infection with *Mycoplasma agalactiae* on lambs. *Small Ruminant Res.* 27: 31 – 39.
- Singh, N., Rajya, B.S., Mohanty, G.C. 1974. Granular vulvovaginitis (GVV) in goats associated with *Mycoplasma agalactiae*. *Cornell Vet.* 64: 435 – 442.
- Sylla, L., Stradaoli, G., Manuali, E., Rota, A., Zelli, R., Vincenti, L., Monaci, M. 2005. The effect of *Mycoplasma mycoides* ssp. *Mycoides* LC of bovine origin on in vitro fertilizing ability of bull spermatozoa and embryo development. *Anim Reprod Sci.* 85: 81 – 93.
- Thomas, A., Nicolas, C., Dizier, I., Mainil, J., Linden, A. 2003. Antibiotic susceptibilities of recent isolates of *Mycoplasma bovis* in Belgium. *Vet Record* 153: 428 – 431.
- Tola, S., Manunta, D., Cocco, M., Turrini, F., Rocchigiani, A.M., Idini, G., Angioi, A., Leori, G. 1997. Characterization of membrane surface proteins of *Mycoplasma agalactiae* during natural infection. *FEMS Microbiol Letters* 154: 355 – 362.
- Trichard, C. J, Jordaan, P., Prozesky, L., Jacobsz, E.P., Henton, M.M. 1993. The identification of *Mycoplasma mycoides mycoides* LC as aetiological agent of balanoposthitis and vulvovaginitis in sheep in South Africa. *Onderstepoort j Vet Res.* 60: 29 – 37.
- Zavagli, V. 1951. L'agalactie contagieuse des brebis et des chèvres. *Bull Off Int Epizoot.* 36:336–362.

