

# Corrélation entre l'excrétion des mycoplasmes et les cinétiques des anticorps mis en évidence par fixation du complément, hémagglutination passive et séroagglutination rapide, au cours d'une infection expérimentale de bovins par *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC

F. Poumarat<sup>1</sup>

M. Perrin<sup>1</sup>

P. Belli<sup>1</sup>

J. L. Martel<sup>1</sup>

**POUMARAT (F.), PERRIN (M.), BELLI (P.), MARTEL (J. L.).** Corrélation entre l'excrétion des mycoplasmes et les cinétiques des anticorps mis en évidence par fixation du complément, hémagglutination passive et séroagglutination rapide, au cours d'une infection expérimentale de bovins par *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1989, 42 (3) : 357-364.

Dans un foyer expérimental de péripneumonie contagieuse bovine (PCB), 5 bovins infectés expérimentalement et 5 bovins infectés naturellement au contact des premiers ont fait l'objet d'un suivi hebdomadaire de l'excrétion de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC et d'un suivi sérologique en fixation du complément (FC), en hémagglutination passive (HAP) et en séroagglutination rapide (SAG). Ces suivis ont été effectués sur 4 mois à compter de l'inoculation. Dans les cas d'évolution aiguë ou chronique avec lésions, aucune défaillance du dépistage en FC et en SAG excepté en phase prodromique n'a été constatée sur une période de 11 à 13 semaines après le début de l'excrétion. L'HAP semble pouvoir détecter précocement les infections débutantes, mais est insuffisante en phase chronique et ultime de la maladie. Dans les cas d'infection latente évoluant sans symptôme ni lésion malgré une excrétion prolongée dans le temps, des défaillances importantes du dépistage sont notées, cela quelle que soit la technique utilisée. **Mots clés :** Bovin - *Mycoplasma mycoides* - Test ELISA - Infection expérimentale - Sérologie - Technique immunologique.

## INTRODUCTION

Chez l'animal vivant, l'examen sérologique est le seul moyen crédible de diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine (PPCB) et représente donc la base de toute prophylaxie. Historiquement, trois tests ont été utilisés largement sur le terrain : la séroagglutination sur lame (SAG) (20), l'immunodiffusion double en gélose (IDG) (8, 21), la fixation du complément (FC) (2).

Des erreurs, par défaut, du dépistage sérologique utilisant ces tests, surviennent essentiellement durant trois phases particulières de l'évolution de la PPCB : la phase prodromique ; la phase ultime de la maladie aiguë, où à cette période, la présence de grandes quantités d'antigène circulant (le galactane) peut aboutir au blocage des anticorps détectés par les divers tests (19) ; la phase chronique de la PPCB caractérisée anatomiquement par l'existence de séquestres.

1. Laboratoire de Pathologie Bovine, Ministère de l'Agriculture, Centre National d'Études Vétérinaires et Alimentaires, 31 avenue Tony Garnier, BP 7033, 69342 Lyon cédex 07, France.

Reçu le 13.03.89, accepté le 26.04.89.

Les anticorps détectés par FC apparaissent dans un délai de 6 à 11 jours après une inoculation expérimentale (9).

Lors d'affections sévères conduisant à la mort, la FC et l'IDG détectent pratiquement 100 p. 100 des animaux (7, 20). En phase ultime de cette évolution aiguë des « éclipses » sérologiques peuvent exister ; très rares en FC (19), elles sont fréquentes en SAG : 28 p. 100 (7). L'IDG qui détecte le galactane a l'avantage de suppléer la défaillance des autres tests à cette période.

En phase chronique, le nombre d'animaux sérologiquement détectables diminue, 72 p. 100 en FC, 35 p. 100 en SAG, 21 p. 100 en IDG (7) et ce d'autant que cette phase subclinique s'allonge (20).

La FC est par ailleurs très spécifique, 0,12 p. 100 de faux positifs (6), 0,9 p. 100 chez les vieux animaux contre 17 p. 100 en SAG (20).

Au-delà de ces trois tests classiques, d'autres tests, dont principalement l'hémagglutination passive (HAP) et les tests immunoenzymatiques (ELISA), ont été mis en oeuvre plus récemment.

Sur la valeur de l'HAP, les avis divergent. PERREAU et collab. (15), démontrent que l'HAP présente les mêmes défaillances que la SAG et manque de spécificité. CHIMA et ONOVIRAN (3) utilisent une technique d'HAP modifiée par rapport à la précédente : ainsi l'HAP pourrait détecter des anticorps plus précocement que la FC et plus tardivement que la FC chez les porteurs chroniques (4).

Comparée aux autres tests, l'ELISA s'avère extrêmement sensible. Des anticorps sont encore détectés chez des animaux 19 mois et 23 mois, respectivement, après guérison clinique et après vaccination (13), alors que les défaillances en FC sont déjà nombreuses au-delà de 10 mois (20). Cependant, cette sensibilité s'accompagne d'un manque de spécificité : 11 p. 100 de fausses réactions positives (11) et presque la moitié des sérums d'animaux issus d'une zone du Niger, où la PPCB est endémique, sont positifs en ELISA, alors que tous les autres tests donnent des résultats négatifs (13).

Ainsi, il est évident qu'aucun test, utilisé seul, n'assure la détection systématique des infectés au cours de tous les stades de la maladie. Pour le problème délicat

F. Poumarat, M. Perrin, P. Belli, J.L. Martel

de la détection des porteurs chroniques l'ELISA apparaît comme une technique d'avenir si sa spécificité peut être améliorée. A ce jour, le test de FC qui est recommandé par l'Office International des Épizooties demeure le mieux adapté.

A l'occasion de la reproduction expérimentale d'un foyer de PPCB effectuée au Laboratoire de Pathologie Bovine (LPB), 10 bovins (5 inoculés et 5 témoins-contacts) ont fait l'objet d'un suivi simultané des cinétiques d'excrétion de l'agent de la PPCB et d'évolution des taux d'anticorps sériques sur une période de 4 mois. Ces anticorps ont été recherchés parallèlement à l'aide de 5 techniques sérologiques : l'HAP, la SAG, la FC, l'ELISA et l'IDG. Ces deux derniers tests ont été mis en oeuvre à l'Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux (IEMVT), les résultats font l'objet d'un développement complet dans l'article de LE GOFF et LEFEVRE (12).

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

En ce qui concerne le protocole exact de la reproduction expérimentale, le matériel et les méthodes ont été décrits avec précision par BELLI et collab. (1).

### Les animaux

Dix vaches adultes de race française Frisonne ont été mises en quarantaine 18 mois avant l'inoculation et ont été soumises à des contrôles sérologiques trimestriels qui ont permis d'affirmer l'absence, chez ces animaux, premièrement d'anticorps anti-*Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* « small colony » (*M.m.m.* SC) recherchés par FC (5), deuxièmement d'anticorps anti-*M. capricolum* et *M.m.m.* « large colony » recherchés par FC (14) et troisièmement d'anticorps anti-*M. bovis* et *M. species* groupe 7 de LEACH (10) recherchés par HAP (16).

Dix jours avant l'inoculation, les vaches ont été introduites dans la zone protégée du Laboratoire de Pathologie Bovine (LPB) et y sont restées 3 mois et 4 mois respectivement pour les inoculées et les témoins-contacts.

### L'inoculation

Cinq bovins (bovins 11, 13, 15, 17, 19) ont été inoculés par voie endobronchique.

Cinq bovins (bovins 10, 12, 14, 16, 18) ont été conservés comme témoins-contacts.

La souche de *M.m.m.* SC d'origine africaine (AFADE) reconnue comme hautement virulente a été utilisée.

L'inoculum consistait en  $3 \cdot 10^9$  mycoplasmes viables par animal, dilué dans 50 ml de sérum physiologique.

### Suivi des animaux

Suivi sérologique : dès leur entrée en zone protégée des prises de sang bihebdomadaires ont été effectuées sur chacun des animaux.

Suivi bactériologique : des lavages trachéobronchiques hebdomadaires (LTB) ont été réalisés sur chacun des animaux.

### Abattage des animaux

Les autopsies de tous les animaux ont été complètes, une attention toute particulière étant portée sur l'appareil respiratoire.

### Techniques d'analyse

#### Analyse bactériologique

Chacun des LTB ainsi que les prélèvements effectués à l'autopsie ont fait l'objet d'une analyse bactériologique classique et d'une recherche de mycoplasme avec estimation semi-quantitative de la densité en *M.m.m.* SC dans ces prélèvements selon les techniques décrites dans l'article de BELLI et collab. (1).

#### Analyse sérologique

**Fixation du complément (FC) :** la méthode de CAMPBELL et TURNER (2) modifiée en microméthode telle qu'elle est décrite par DANNACHER et collab. (5) a été utilisée avec l'antigène ayant servi de référence pour le contrôle de qualité européen (5) et préparée à l'IEMVT à partir d'une souche de *M.m.m.* SC B 17 provenant d'un foyer naturel africain de PPCB.

Les dilutions sont effectuées de 2 en 2 à partir du 1/10 ; la lecture s'effectue selon la gamme +, ++, +++, +++++, correspondant respectivement à 75, 50, 25 et 0 p. 100 d'hémolyse.

Interprétation : les animaux sont sérologiquement négatifs à 100 p. 100 d'hémolyse au 1/10, douteux soit pour + ou ++ au 1/10, soit pour + au 1/20, au-delà ils sont significativement positifs.

**Séroagglutination rapide sur lame (SAG) :** la méthode utilisée est celle décrite par TURNER et ETHERIDGE (20) ; l'antigène est préparé au LPB, à partir de la souche de référence internationale *M.m.m.* SC PG<sub>1</sub>. L'agglutination est estimée par une notation de + à ++++ ; les animaux sont considérés comme significativement positifs pour des agglutinations à ++ et plus.

**Hémagglutination passive (HAP) :** la technique mise en oeuvre est très proche de celle proposée par CHIMA et ONOVIRAN (3) utilisant des hématies fixées au glutaraldéhyde et sensibilisées par un antigène complet ; elle est en tous points semblable à celle employée régulièrement au LPB pour la recherche des infections à *M. bovis* (16), l'antigène étant préparé à partir de la souche de référence internationale *M.m.m.* SC PG<sub>1</sub>.

Les dilutions sont effectuées de 2 en 2 à partir du 1/10, et les animaux sont considérés comme significativement positifs pour des titres supérieurs à 40.

## RÉSULTATS

L'ensemble des résultats concernant la comparaison pour chacun des 10 animaux de la cinétique de l'excrétion de *M.m.m.* SC et des cinétiques des anticorps anti-*M.m.m.* SC détectés en FC, SAG, HAP est illustré dans la figure 1.

Compte tenu des résultats du suivi clinique et des données de l'autopsie (1), on peut classer les animaux en 3 groupes assez homogènes :

### Groupe A (vache 15) :

— PPCB « expérimentale », de type aigu à évolution mortelle, l'autopsie ayant révélé des lésions aiguës étendues caractéristiques de cette maladie ;

— excrétion massive, c'est-à-dire continue avec des densités en *M.m.m.* SC toujours supérieures à 10<sup>4</sup> mycoplasmes par ml de LTB, jusqu'au 29ème jour ;

### Groupe B (vaches 10, 12, 14, 16, 18) :

— PPCB « naturelle », d'évolution chronique, l'autopsie ayant révélé des lésions chroniques caractéristiques de cette maladie ;

— l'excrétion débute chez ces animaux dans la période du 25ème au 39ème jour, elle est massive (plus de 10<sup>4</sup> mycoplasmes par ml de LTB) sur respectivement 53, 60, 57, 35, 53 jours (moyenne = 50 jours, écart-type = 10). Au delà, l'excrétion est faible mais continue pratiquement jusqu'à l'abattage.

### Groupe C (vaches 11, 17, 19) :

— PPCB « expérimentale » inapparente évoluant vers la guérison, l'autopsie n'ayant révélé aucune lésion macroscopique ;

— l'excrétion s'est prolongée jusqu'à l'abattage au 81ème jour de façon continue pour les vaches 17 et 19 et discontinuée pour la vache 11 ; pour les vaches 17 et 19, une excrétion massive est notée jusqu'au 29ème jour.

D'autre part : vache n° 13

— PPCB « expérimentale avortée » et PPCB « naturelle » probablement par réinfection vers le 43ème jour : l'excrétion a été faible et continue sur 36 jours.

### Erreurs par défaut du dépistage sérologique en phase initiale d'infection

Les délais d'apparition des anticorps par rapport au jour de l'inoculation chez les vaches inoculées sont donnés au tableau I. Le comportement sérologique des animaux est très homogène, ce qui permet d'envisager des moyennes. Des titres supérieurs à 40 en HAP apparaissent précocement, significativement par rapport à l'apparition de titres significativement positifs en FC (test du « t » de Student) (18) mais non par rapport à des titres douteux en FC.

Les délais d'apparition des anticorps par rapport au début de l'excrétion chez les vaches témoins-contacts sont donnés au tableau II. La dispersion des résultats recoupe le rythme de prélèvement des LTB.

### Erreurs par défaut du dépistage en phase ultime de la maladie aiguë

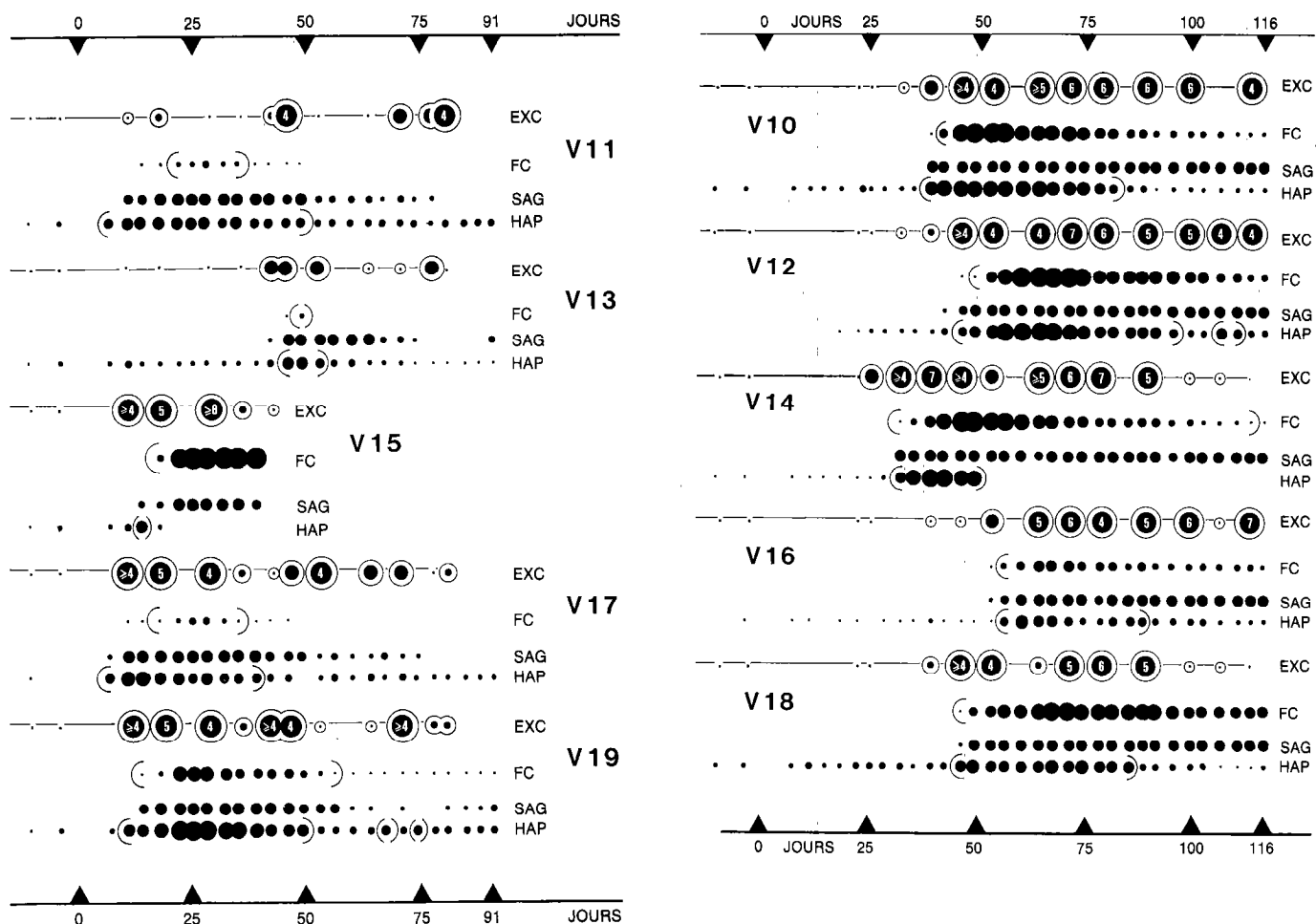
Seule la vache 15 a présenté une forme de PPCB ayant entraîné la mort ; aucune baisse des taux d'anticorps en FC et en SAG n'est constatée, en revanche en HAP les titres s'annulent dans les 22 jours précédant la mort.

### Erreurs par défaut du dépistage sérologique en phase terminale d'infection assimilée à la période d'excrétion détectable

Pour le groupe B représenté par les témoins-contacts : tous les animaux sont restés significativement positifs en FC et en SAG jusqu'au dernier contrôle sérologique effectué selon les animaux entre la 11ème et la 13ème semaine (moyenne = 83 jours) après le début de l'excrétion (Fig. 1).

En revanche, l'HAP ne couvre pas l'ensemble de la période : les animaux ne sont plus détectables 50, 64, 25, 50, 47 jours, respectivement pour les vaches 10, 12, 14, 16, 18, après le début de l'excrétion, soit environ 6 à 8 semaines ; pour la vache 14, on constate une chute brutale et précoce des titres en HAP.

F. Poumarat, M. Perrin, P.Belli, J.L. Martel



Vaches (V) n° 11, 13, 15, 17, 19 : vaches inoculées  
 Vaches n° 10, 12, 14, 16, 18 : vaches témoins-contacts  
 Jour 0 = jour d'inoculation

Excrétion (EXC)    .    ⊙    ⊙    ⊙    ⊙    ⊙    ⊙  
 0    1    2    3    4    5    6

Densités (exprimées en log<sub>10</sub>) de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC par millilitre de liquide de lavage trachéobronchique = supérieur ou égal à

Titre en FC et en HAP    .    .    .    .    .    .    .    .  
 10    20    40    80    160    320    640    1280    2560

Séroagglutination à    .    .    .    .  
 +    ++    +++    ++++

( ) Intervalle dans lequel tous les titres sont significativement positifs

Fig. 1 : Comparaison de la cinétique des anticorps sériques anti-*Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC et de la cinétique d'excrétion de cet agent, établies pour une période de 3 mois pour 5 vaches inoculées expérimentalement et de 4 mois pour 5 vaches témoins-contacts. Pour la recherche des anticorps 3 tests ont été mis en oeuvre : la fixation du complément (FC), la séroagglutination rapide (SAG) et l'hémagglutination passive (HAP).

**TABLEAU I** Délai (en jours) d'apparition des anticorps sériques par rapport au jour d'inoculation chez les vaches inoculées (excepté la vache n° 13).

	Vache n° 11	Vache n° 15	Vache n° 17	Vache n° 19	$\tilde{m}$ = moyenne s = écart-type
F.C. { 1 <sup>er</sup> titre non négatif 1 <sup>er</sup> titre significativement positif	14 22	18 18	11 18	14 14	$\tilde{m}$ = 14 (s = 2,9) $\tilde{m}$ = 18 (s = 3,3)
S.A.G. { 1 <sup>re</sup> agglutination $\geq$ ++ 1 <sup>re</sup> agglutination à + + + +	11 18	14 22	11 11	14 18	$\tilde{m}$ = 12,5 (s = 1,7) $\tilde{m}$ = 17 (s = 4,6)
H.A.P. 1 <sup>er</sup> titre $\geq$ à 80	7	14	7	11	$\tilde{m}$ = 10 (s = 3,4)

F.C. = fixation du complément ; S.A.G. = séroagglutination rapide sur lame ; H.A.P. = hémagglutination passive :  $\geq$  = supérieur ou égal à.

**TABLEAU II** Délai (en jours) d'apparition des anticorps sériques par rapport au début de l'excrétion chez les vaches témoins-contacts.

	Vache n° 10	Vache n° 12	Vache n° 14	Vache n° 16	Vache n° 18	$\tilde{m}$ = moyenne s = écart-type
F.C. { 1 <sup>er</sup> titre non négatif 1 <sup>er</sup> titre significativement positif	8 11	15 18	8 8	15 18	8 8	$\tilde{m}$ = 11 (s = 3,8) $\tilde{m}$ = 13 (s = 5,1)
S.A.G. { 1 <sup>re</sup> agglutination $\geq$ ++ 1 <sup>re</sup> agglutination à + + + +	8 8	11 15	8 8	18 22	11 15	$\tilde{m}$ = 11 (s = 4) $\tilde{m}$ = 14 (s = 5,8)
H.A.P. 1 <sup>er</sup> titre $\geq$ à 80	8	15	8	18	8	$\tilde{m}$ = 11 (s = 4,7)

Pour le groupe C représenté par les inoculés (sauf la vache 15) : quel que soit le test choisi, aucun ne permet la détection certaine de ces animaux durant la totalité de la phase d'excrétion. Les périodes pour lesquelles les animaux ne sont pas détectables sont

**TABLEAU III** Périodes (en jours) durant lesquelles les vaches inoculées (à l'exception de la n° 15) étaient redevenues sérologiquement douteuses ou négatives bien qu'excrétant encore M.m.m. SC. (Les titres faiblement positifs isolés ne sont pas pris en compte pour l'H.A.P. et la S.A.G.).

	Vache n° 11	Vache n° 13	Vache n° 17	Vache n° 19
Durée de l'excrétion par rapport à la durée du suivi	81/81	36/81	81/81	81/81
F.C. { absence d'anticorps absence de titres significatifs	31, 45	28 28	34 45	0 24
S.A.G. agglutination nulle ou +	16	6	31	24
H.A.P. titres $\leq$ à 40	31	25	41	31

données au tableau III, ces chiffres ne représentent que des minima puisque 4 vaches sur 5 excrétaient encore M.m.m. SC peu de temps avant l'abattage.

Le tableau IV donne les proportions de temps durant lesquelles ces animaux ne seraient pas détectables sur l'ensemble de la phase d'excrétion.

**TABLEAU IV** Périodes (en p. cent par rapport à la durée d'excrétion) durant lesquelles les vaches 11, 13, 17, 19 ne seraient pas détectables sérologiquement, le délai d'apparition des anticorps en phase initiale étant inclus.

	Vache n° 11	Vache n° 13	Vache n° 17	Vache n° 19
F.C. { sérologie nulle sérologie nulle ou douteuse	55 83	89 97	55 63	17 47
S.A.G. agglutination nulle ou +	33	28	52	47
H.A.P. titres $\leq$ à 40	47	80	59	52

## DISCUSSION

---

Il convient au préalable de justifier les seuils de positivité significative retenus dans cette étude. Pour la FC, les normes proposées par CAMPBELL et TURNER (2) et reprises intégralement pour le contrôle de qualité européen de 1983 (5) ont été appliquées. Pour l'HAP, parmi 35 vaches sûrement indemnes de PPCB et s'étant révélées sur plusieurs contrôles séronégatives en FC, des titres de 10 à 20 étaient fréquents, des titres de 40 exceptionnels ; aussi, il a été choisi le titre 80 pour seuil de positivité, ceci correspondant exactement aux conclusions de PERREAU et collab. (15). Pour la SAG, antérieurement à l'inoculation, aucune trace d'agglutination n'était détectable chez les 10 bovins de l'essai ; cependant TURNER et ETHERIDGE (20) signalent chez de vieux animaux, sûrement indemnes de PPCB, près de 17 p. 100 de réactions le plus souvent faibles ; aussi, comme le préconisent ces auteurs, le seuil de positivité pour une agglutination a été placé à ++.

La transmission de la PPCB ne peut se réaliser qu'à travers un contact étroit entre les animaux. La détection des animaux potentiellement virulents est donc la base de toute prophylaxie sanitaire. Le suivi de la cinétique d'excrétion chez les infectés, dont l'étude n'avait jamais été envisagée jusqu'à ce jour, visualise exactement la phase de virulence des animaux et permet de définir avec précision les insuffisances du dépistage sérologique indépendamment des données cliniques ou lésionnelles parfois inexistantes.

L'HAP serait le test qui détecte le plus précocement les infections récentes. Si en maladie « naturelle » (groupe B) l'infection n'est détectable sérologiquement qu'au bout de 1 à 3 semaines après le début d'excrétion (Tabl. II), les 3 tests couvrent cependant la phase d'excrétion massive.

La chute brutale des titres en HAP constatée 22 jours avant la mort chez la vache 15 peut s'expliquer par la présence de galactane en grande quantité dans la circulation générale (19) confirmée par les résultats en IDG effectués à l'IEMVT.

Lors de la phase chronique de la maladie, telle qu'elle évolue chez les témoins-contacts (groupe B), aucune défaillance du dépistage sérologique n'est constatée sur la période de suivi, c'est-à-dire 11 à 13 semaines après le début de l'excrétion ou 10 à 12 semaines à compter de la date du premier titre positif en FC. Les travaux antérieurs sur d'aussi longues périodes sont limités. TURNER et ETHERIDGE (20) signalent l'apparition de séronégatifs en FC et SAG après respectivement 7 et 3 semaines d'évolution chronique à compter de la date du premier titre positif en FC. L'HAP, en revanche, apparaît nettement insuffisante pour la

détection des porteurs de séquestres puisqu'aucun animal n'est détectable au-delà de 7 semaines à compter de la date du premier titre positif en HAP, ce qui infirme les déductions de CHIMA et PAM (4).

Des défaillances très importantes du dépistage sérologique, quel que soit le test utilisé, sont constatées systématiquement chez les animaux du groupe C qui, bien que potentiellement virulents sur une longue période, ne présentent ni symptôme, ni lésion (Tabl. IV). Cela est d'autant plus dommageable qu'il s'agit de séronégativité définitive et que le renouvellement des prélèvements ne permettrait pas plus de les détecter.

Si les résultats obtenus sur les témoins-contacts sont directement transposables sur le terrain, l'évolution constatée chez les inoculés du groupe C peut n'être qu'un artéfact expérimental. Cependant, au cours des nombreuses reproductions expérimentales effectuées en Australie et rapportées par HUDSON et TURNER (9), 14 sur 94 témoins-contacts présentent les mêmes caractéristiques que le groupe C : pas de symptôme, pas de lésion, malgré une séroconversion en FC. TURNER et ETHERIDGE (20) constatent que pour les 17 animaux de ce type (sans que l'on sache quelle est la proportion de PPCB « naturelle » et « expérimentale »), 8 étaient séronégatifs en FC et SAG à la date de leur abattage effectué 5 à 9 semaines à compter du jour de première positivité en FC ; par comparaison, les animaux du groupe C ont été abattus 9, 5, 9 et 10 semaines respectivement pour les vaches 11, 13, 17, 19 à compter du premier titre positif en FC.

La forte proportion d'infections inapparentes constatée chez les inoculés peut résulter de l'excellent entretien des animaux et d'une hypovirulence de la souche ayant subi plusieurs passages préalables en milieux artificiels : ce phénomène est classiquement décrit (17).

## CONCLUSION

---

Cette reproduction expérimentale d'un foyer de PPCB a permis de révéler l'existence d'infection prolongée évoluant sans symptôme, ni lésion et difficilement détectable sérologiquement. Dans les autres cas, évolutions aiguë ou chronique avec lésions, aucune défaillance en FC et SAG excepté en phase prodromique, n'a été constatée malgré un suivi prolongé sur 11 à 13 semaines après le début de l'excrétion. Si l'HAP assure une détection précoce des infections débutantes, elle s'avère insuffisante en phase ultime et en phase chronique de la maladie.

POUMARAT (F.), PERRIN (M.), BELLI (P.), MARTEL (J. L.). Correlation between mycoplasmas excretion and antibodies kinetics detected by complement fixation test, passive haemagglutination test and slide agglutination serum test during an experimental infection of cattle with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony variant. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1989, **42** (3) : 357-364.

During an experimental reproduction of CBPP, 5 inoculated cows and 5 contacts cows were bled twice a week and antibodies research was performed using complement fixation test (CFT), passive haemagglutination test (PHAT) and slide agglutination test (SAT). In the same period, trachobronchial washings were performed weekly to detect and to count *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC. For four months these tests were used to compare antibodies kinetics with kinetics of mycoplasmas excretion. With titer over 40 as threshold of positivity, PHAT detects antibodies earlier than CFT and SAT at the beginning of infection, but fails to detect chronic carriers. In contacts cows no failure has been observed with CFT and SAT except during prodromic phase of infection. These results are valid for natural infections. However, for inoculated animals, most serious failures to detect infected cows occur. *Key words* : Cattle - *Mycoplasma mycoides* - Experimental infection - Serological test - ELISA test.

POUMARAT (F.), PERRIN (M.), BELLI (P.), MARTEL (J. L.). Correlación entre la excreción de los micoplasmas y las cinéticas de los anticuerpos evidenciados por fijación del complemento, hemaglutinación pasiva y seroaglutinación rápida, durante una infección experimental de bovinos por *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1989, **42** (3) : 357-364.

En un foco experimental de perineumonía contagiosa bovina (PCB), se observaron cada semana la excreción, en 5 bovinos infectados experimentalmente y 5 bovinos infectados naturalmente al contacto de los primeros, de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC; se estudiaron también la serología por fijación del complemento (FC), hemaglutinación pasiva (HAP) y seroaglutinación rápida (SAG); eso durante 4 meses a partir de la inoculación. En los casos de evolución aguda o crónica con lesiones, no se constató ningún fallo de la detección por FC y SAG salvo en fase prodromica durante 11 a 13 semanas después del principio de la excreción. La HAP parece poder revelar pecozmente las infecciones principiantes, pero es insuficiente en fase crónica y última de la enfermedad. En los casos de infección latente evolucionando sin sintoma ni lesión a pesar de una excreción prolongada en el tiempo, se notan fracasos importantes de la detección, cualquiera que sea la técnica utilizada. *Palabras claves* : Bovino - *Mycoplasma mycoides* - Infección experimental - Serología - Técnica inmunológica - Prueba ELISA.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BELLI (P.), POUMARAT (F.), PERRIN (M.), LONGCHAMBON (D.), MARTEL (J. L.). Reproduction expérimentale et évolution de la péripneumonie contagieuse bovine dans un groupe de bovins et de caprins : aspects anatomocliniques. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1989, **42** (3) : 349-356.
2. CAMPBELL (A. D.), TURNER (A. W.). Studies on contagious pleuropneumonia of cattle. IV. An improved complement fixation test. *Aust. vet. J.*, 1953, **29** : 154-163.
3. CHIMA (J. C.), ONOVIRAN (O.). A passive haemagglutination test for detection of antibodies against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* using glutaraldehyde-fixed sheep erythrocytes. *Vet. Microbiol.*, 1982, **7** : 343-349.
4. CHIMA (J. C.), PAM (G.). Contagious bovine pleuropneumonia : a comparison between the passive haemagglutination test and the complement fixation test. *Revue scient. tech. Off. int. Épizoot.*, 1985, **4** : 517-522.
5. DANNACHER (G.), PERRIN (M.), MARTEL (J. L.), PERREAU (P.), LE GOFF (C.). Report on evaluation of the European comparative trial concerning complement fixation test for diagnosis of contagious bovine pleuropneumonia. *Annls Rech. vét.*, 1986, **17** : 107-114.
6. ETHERIDGE (J. R.), COTTEW (S. D.), LLOYD (L. C.). Studies on the origin of false positive reactions to the complement fixation test for contagious bovine pleuropneumonia. *Aust. vet. J.*, 1976, **52** : 299-304.
7. GOURLAY (R. N.). Comparison between some diagnostic tests for contagious bovine pleuropneumonia. *J. comp. Path.*, 1965, **75** : 97-109.
8. GRIFFIN (R. M.). A gel diffusion precipitin test for contagious bovine pleuropneumonia. *J. comp. Path.*, 1965, **75** : 223-231.
9. HUDSON (J. R.), TURNER (A. W.). Contagious bovine pleuropneumonia : a comparison of the efficacy of two types of vaccine. *Aust. vet. J.*, 1963, **39** : 373-385.
10. LEACH (R. H.). Comparative studies of *Mycoplasma* of bovine origin. *Annls N.Y. Acad. Sci.*, 1967, **143** : 305-316.
11. LE GOFF (C.). Technique immunoenzymatique appliquée au diagnostic sérologique de la péripneumonie. Note préliminaire. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1986, **39** : 171-173.

12. LE GOFF (C.), LEFEVRE (P. C.). Péripleurite contagieuse bovine : Test immunoenzymatique et cinétique d'apparition des anticorps au cours d'une infection expérimentale. Relation entre fixation du complément, excrétion et recherche de l'antigène circulant. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1989, **42** (3) : 365-369.
13. ONOVIRAN (O.), TAYLOR-ROBINSON (D.). Detection of antibody against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* in cattle by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet. Rec.*, 1979, **105** : 165-167.
14. PERREAU (P.), LE GOFF (C.), GIAUFFRET (A.). Le diagnostic sérologique de l'agalaxie contagieuse des petits ruminants : un test de fixation du complément. *Bull. Acad. vét. Fr.*, 1976, **49** : 185-192.
15. PERREAU (P.), PROVOST (A.), REGNOULT (R.), ORUE (J.). Valeur de la réaction d'hémagglutination indirecte dans la péripleurite bovine. Emploi d'hématies formolées, sensibilisées et lyophilisées. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1964, **17** : 5-14.
16. POUMARAT (F.), PERRIN (M.), BELLI (P.), MARTEL (J. L.). Recherche des anticorps anti-*Mycoplasma bovis* dans le sérum des bovins à l'aide de la réaction d'hémagglutination passive, valeur et limites de la réaction. *Revue Méd. vét.*, 1987, **138** : 981-989.
17. PROVOST (A.), PERREAU (P.), BRÉARD (A.), LE GOFF (C.), MARTEL (J. L.), COTTEW (G. S.). Péripleurite contagieuse bovine. *Revue scient. tech. Off. int. Épizoot.*, 1987, **6** : 565-624.
18. SCHWARTZ (D.). Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Paris, Flammarion Médecine Sciences, 1969. 318 p.
19. TURNER (A. W.). Circulating *M. mycoides* antigens as a cause of loss of agglutination and complement fixation activity during acute pleuropneumonia. *Aust. vet. J.*, 1962, **38** : 401-405.
20. TURNER (A. W.), ETHERIDGE (J. R.). Slide agglutination tests in the diagnosis of contagious bovine pleuropneumonia. *Aust. vet. J.*, 1963, **39** : 445-451.
21. WHITE (G.). Agar double diffusion precipitation reaction applied to the study of *Asterococcus mycoides*. *Nature*, 1958, **181** : 278-279.