

# comment diagnostiquer *M. bovis*

fiche

Pour mettre en évidence la présence de *M. bovis* en élevage lors d'un épisode aigu, un diagnostic direct est nécessaire. Au contraire, pour connaître le statut d'un troupeau vis-à-vis de l'infection par *M. bovis*, le diagnostic indirect avec des tests sérologiques est plutôt conseillé.

## PRÉLÈVEMENTS

### Pour le diagnostic direct

- Les prélèvements à réaliser sur les animaux malades\*, et non traités sont de préférence des prélèvements profonds : LBA (lavage broncho-alvéolaire) ou ATT (aspiration trans-trachéale).

- Un écouvillonnage nasal profond, de réalisation plus aisée, peut aussi être fait, même si la représentativité de cet échantillon (flore profonde versus flore nasale polycontaminée) est moins bonne, notamment à l'échelon individuel [38].

Les écouvillons ne doivent pas sécher et ne doivent pas être congelés ; de préférence, il convient d'utiliser des écouvillons en polyester ou dacron [15].

- Sur des cadavres, à l'autopsie, des échantillons de poumons peuvent être prélevés à la limite entre les zones saines et lésées.

- Les prélèvements doivent être conservés au froid positif (4°C), et envoyés rapidement au laboratoire (24 à 48 h).

Si l'envoi ne peut être fait rapidement, la congélation est possible pour tous les types d'échantillons, sauf les écouvillons.

### Pour le diagnostic indirect

- Pour le diagnostic indirect, un prélèvement de sang sur tube sec pour récupérer le sérum est nécessaire.

- Toute demande de recherche de mycoplasme, accompagnée des commémoratifs et de l'anamnèse les plus précis possibles, doit être spécifiée au laboratoire, puisque la mise en œuvre demande la plupart du temps des techniques spécifiques, non communes avec les agents pathogènes classiques. Certains laboratoires proposent tou-

tefois des formules de diagnostic "pathologie respiratoire", qui incluent les principaux agents pathogènes impliqués dont *M. bovis*, et qui permettent le diagnostic par PCR (cf. supra).

## DIAGNOSTIC DIRECT

La mise en évidence de l'agent pathogène peut être faite de manière directe de deux façons à partir des prélèvements cités au-dessus :

- soit par isolement par culture bactériologique ;
- soit par amplification de l'ADN bactérien par des techniques de biologie moléculaire.

### La mise en culture

- La mise en culture des mycoplasmes nécessite d'utiliser des milieux spéciaux, qui contiennent des suppléments nécessaires à la croissance de ces organismes au métabolisme réduit. De plus, l'isolement simple d'un mycoplasme en culture n'est pas significatif. Il existe de nombreuses espèces de mycoplasmes qui sont des commensaux ou des opportunistes (cf. infra).

- L'identification d'espèce est obligatoire pour avoir la certitude que le mycoplasme isolé est bien *M. bovis* ou une autre espèce pathogène.

- Le réseau Vigimyc permet une surveillance épidémiologique en proposant de rechercher et d'identifier au moins huit espèces mycoplasmiques simultanément sur chaque prélèvement issu de pathologie bovine [35].

- Après une première étape d'isolement par culture dans un laboratoire partenaire, les souches sont envoyées à l'Anses Lyon, seul laboratoire à avoir le savoir-faire et le matériel nécessaire (sérum spécifiques) pour identifier les souches par la technique de MF-dot (*membrane-filtration dot immunobinding*). Cette technique, utilisée en routine, est adjointe de l'expertise scientifique et technique de l'Anses qui peut avoir recours à d'autres méthodes d'identification en cas de résultat douteux.

### Les techniques de biologie moléculaire

- La deuxième façon de mettre en évidence *M. bovis* dans un prélèvement est d'avoir

Claire A.M. Becker<sup>1,2</sup>

Renaud Maillard<sup>3</sup>

Sébastien Assié<sup>4</sup>

François Poumarat<sup>2,1</sup>

Florence Tardy<sup>2,1</sup>

Marie-Anne Arcangioli<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Université de Lyon, VetAgro Sup, UMR Mycoplasmoses des Ruminants

1 avenue Bourgelat,

F-69280 Marcy l'Etoile, France

<sup>2</sup>Anses, Laboratoire de Lyon

UMR Mycoplasmoses des Ruminants

31 avenue Tony Garnier

F - 69364 Lyon Cedex 07, France

<sup>3</sup>Pathologie des ruminants

UMR IHAP équipe MYC, ENVT

23 chemin des capelles

31076 Toulouse Cedex

<sup>4</sup>BIOEPAR, INRA

Oniris, 44307, Nantes, France

## NOTE

\* cf. la fiche "Symptômes et lésions d'infections à *Mycoplasma bovis* des mêmes auteurs dans ce numéro.

## En pratique

■ Pour mettre en évidence *M. bovis*, les prélèvements à réaliser sont de préférence des prélèvements profonds : LBA (lavage broncho-alvéolaire) ou ATT (aspiration trans-trachéale).

■ Pour le diagnostic indirect, un prélèvement de sang sur tube sec pour récupérer le sérum est nécessaire.

## RUMINANTS

■ Crédit Formation Continue : 0,05 CFC par article