

REPUBLIQUE DU SENEGAL

Un peuple - Un but - Une foi

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'EQUIPEMENT RURAL



Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA)

**FICHE TECHNIQUE n° 6 : CARACTERISATION DE MYCOPLASMA mycoides subsp  
mycoides (SC)**

MBENGUE Mb<sup>1</sup>., DIALLO A M<sup>1</sup>., LO FT<sup>1</sup>., LO MM<sup>1</sup>., DIOP M<sup>1</sup>., SAMB Y<sup>1</sup>., DIOUF  
M<sup>1</sup>., THIONGANE Y<sup>1</sup>.

1. Laboratoire de Microbiologie et de Pathologie Aviaire (LMPA) - Laboratoire National de l'Elevage et des Recherches Vétérinaires (LNERV) - Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA) - Hann - Dakar, Sénégal PO BOX 2057

Contact : Dr Mbaye MBENGUE, Chercheur Microbiologiste, ISRA – LNERV – Hann – Dakar –  
Route du Front de Terre - BP 2057 Tel : 221 33 832 36 79 Cel : 221 77 618 29 27 Fax : 221  
33 832 36 78 - E – mail ; [mbenguem@yahoo.fr](mailto:mbenguem@yahoo.fr)

ISSN : 0850 - 9980

ISRA  
VISA  
Commission de validité des documents  
scientifiques et techniques

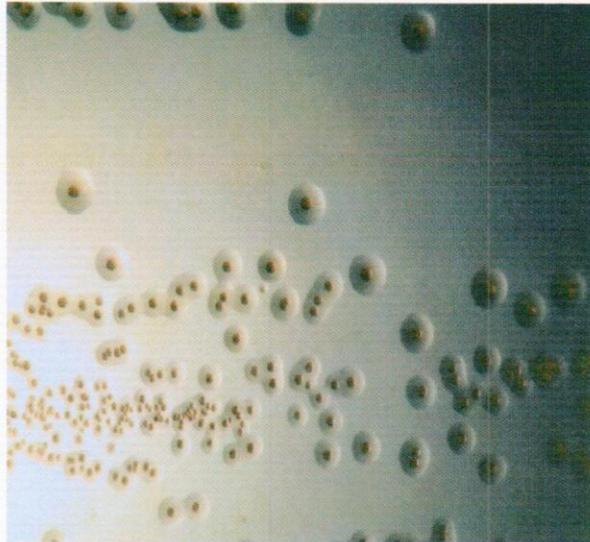
Vol 10 n°4

ISSN n° .....  
Date ..... 25 JAN 2017

Le Président

1

Dr El Hadji TRAORÉ  
Directeur Scientifique  
de l'ISRA



***Mycoplasma mycoides subsp mycoides SC (Small Colonies) : caractères spécifiques « en œuf sur le plat »***

**INTRODUCTION :**

La PPCB est une maladie infectieuse, contagieuse, transmissible, causée par *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* biotype petite colonie (*MmmSC*) [5, 8]. Elle est caractérisée cliniquement par des troubles au niveau des voies respiratoires (toux, dyspnée, écoulement nasal), des troubles articulaires (boiterie) chez les jeunes bovins de moins de deux ans d'âge et par des lésions de pleurésie exsudative et de la pneumonie, séro-fibrineuse dans les cas aigus mais aussi par la présence de séquestres pulmonaires chroniques dans des cas [2, 3]. Elle affecte principalement les bovins (*Bos indicus*, *Bos taurus*) et le buffle d'eau (*Bubalus bubalis*). En raison de son importance économique, cette maladie fait partie de la liste des maladies prioritaires dans le monde telle que définies par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) [7, 4]. La péripneumonie contagieuse bovine se transmet par contact direct entre animaux infectés et en bonne santé. La présence de la PPCB sur animal suspect peut être confirmée en laboratoire par la méthode directe classique d'isolement et d'identification de l'agent causal à partir de lésions suspectes. Nous avons utilisé les méthodes directes pour l'isolement et l'identification de l'agent causal *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides biotype petite colonie (MmmSC)* à partir d'échantillons de sang suspect et des parties des poumons présentant ainsi des lésions. Avec la ré apparition de cette maladie au Sénégal, et en Gambie, Il s'avère donc urgent de prendre toutes les mesures nécessaires et utiles afin d'assurer un meilleur contrôle de la maladie dans ces deux pays qui sont voisins

## **Objectif général**

L'objectif général de cette activité est de parvenir à un meilleur contrôle de cette maladie dans la sous région Ouest Africaine et Particulièrement au Sénégal et en Gambie où cette maladie est ré émergente après 40 années d'absence et contribuer ainsi à une sécurisation du bétail et l'augmentation de sa productivité dans le but d'assurer l'autosuffisance, la sécurité alimentaire, à la réduction de la pauvreté. Il constitue un des axes importants de la politique économique et sociale du Sénégal.

## **Objectifs spécifiques:**

Assurer l'isolement et l'identification de *Mycoplasma mycoides subsp mycoides* par des méthodes classiques. Répondre aux demandes de diagnostic de cette maladie surtout dans des cas isolés ou dans des foyers suspect afin de prendre les dispositions nécessaires pour lutter efficacement contre la maladie et mettre en place un bon suivi épidémiologique en rapport avec la direction des services vétérinaires.

## **Description du matériel biologique :**

Sur le plan taxonomique, *Mycoplasma mycoides subsp mycoides*, appartient au règne des Procaryotes, à la division des Ténéricutes, à la classe des Mollicutes, à l'ordre des Mycoplasmatales, à la famille des Mycoplasmataceae, au genre *Mycoplasma* et à l'espèce *Mycoplasma mycoides*

Cette étude a été conduite suite à la ré émergence de la PPCB au Sénégal (Novembre 2012)..

## **MATERIELS ET METHODE :**

Isolement : Après broyage des organes (poumon, liquide pleural, foie) et ensemencement dans un bouillon préparé avec l'extrait de viande (infusion de cœur de bœuf) dans lequel a été ajouté de la peptone et de l'extrait de levure de bière 10% de sérum en concentration finale : ce milieu renferme du glucose (2 g / l) du phosphate (système tampon), de la glycérine et de l'ADN, mais également des antibiotiques des bactéries inhibiteurs de liaison tels que la pénicilline G (100UI / ml), l'acétate de Thallium, l'acétate d'éthyle (1/10000) et de la fungizone pour éviter la contamination fongique. Les milieux sont utilisées soit liquide ou solide par ajout d'agar ou d'agarose (15g/l). Les milieux liquides ont été stérilisés par filtration et les milieux solides autoclavés. Pour effectuer l'isolement, des échantillons de poumon ou de liquide pleural ont été dilués de 10 à 10 pour réduire au minimum la contamination bactérienne et sont ensemencées dans des tubes de bouillon le milieu solide à raison de 200 µl. Le sang a été inoculé directement sans dilution. L'incubation est réalisée en présence de tampon pour Gaspack micro aérophile, dans une cloche et l'ensemble est mis dans un incubateur réglé à 37°C. Les boîtes de Pétri et les tubes sont examinés quotidiennement pendant 10 jours.

**Identification** Nous avons procédé à une purification préliminaire de la colonie observée par clonage avec trois purifications consécutives. Dans les cas où le bouillon est contaminé, nous avons utilisé procédé à une filtration de la culture par utilisation d'un filtre à porosité 0,45  $\mu$  voire 0,22  $\mu$

**Caractéristiques biochimiques:** Nous avonsensemencé les colonies de la culture pure dans les milieux renfermant chacun du glucose, de l'arginine, et du phosphate qui sont par la suite incubés dans un incubateur à 37°C pendant 24 heures. L'identification définitive est effectuée sur la base des résultats obtenus à partir de ces différents caractères morphologiques culturaux et biochimiques.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS :

**Les études bactériologiques ont donné les résultats suivants :**

- Sur milieu solide: après quatre jours d'incubation, nous avons observé au microscope à immersion à partir de l'échantillon de Lounthy des colonies caractéristiques disposées "en oeuf sur le plat" de 1mm de taille observée. Ces colonies ont montré des aspects caractéristiques dans de la gélose. L'observation au microscope à l'immersion et après coloration au Giemsa a montré que ces éléments sont d'une taille de l'ordre du mm, violet de couleur (ni virus ni bactéries).
- Sur milieu liquide: Après quatre jours d'incubation, nous avons observé à partir de la culture obtenue sur échantillon de Lounthy, certains éléments d'opacité uniforme produisant des ondes moirées et fugaces à l'agitation. Le milieu qui était initialement rouge a viré au jaune confirmant son utilisation par les bactéries. Cette culture résultant de l'échantillon de Lounthy a montré après coloration au Giemsa de très petites particules qui ne sont pas des bacilles ou coques, inférieure à celle des bactéries et constitué par de petits points en longs filaments minces.
- L'étude des caractéristiques biochimiques ont donné les résultats suivants à savoir l'hydrolyse du glucose, de l'arginine et du phosphate à partir de la culture obtenue sur les échantillons de Lounthy et qui sont caractéristiques de *Mycoplasma mycoides sub sp mycoides SC* confirmant ainsi les observations de Leon leminor (5)
- La PPCB est une maladie ré-émergente au Sénégal sur la base des résultats obtenus. La transhumance et le mouvement des personnes et du bétail au cours de ces dernières années, peuvent être ciblées comme pouvant être la cause de la réémergence de cette maladie et pourraient constituer de ce fait un sérieux obstacle au développement de l'élevage dans nos pays. L'identification de *Mycoplasma mycoides* observée au Sénégal pourrait être l'occasion de l'établissement d'un système de surveillance épidémiologique adéquat à l'intérieur et dans les

pays voisins limitrophes comme la Gambie [6] le Mali, où la maladie entraîne environ 4 à 10% de mortalité avec 25% des animaux chroniquement infectés qui après demeurent des sources dangereuses de l'infection à long terme avec des facteurs qui peuvent favoriser la propagation de la maladie au Mali à savoir le caractère extensif de l'élevage, la transhumance et l'utilisation des antibiotiques [1].

### CONCLUSION:

Bien que des foyers de PPCB semblent avoir disparu au Sénégal pendant trente ans (1987), et suite à l'analyse d'échantillons consécutive à l'apparition de foyers avec suspicion de péripneumonie contagieuse bovine, révélés par cette étude de diagnostic direct par isolement et identification des germes porteurs pourrait être compatible avec une situation de contamination récente des bovins par *Mycoplasma mycoides* sous espèces *mycoides* petites colonies et traduit ainsi une résurgence de la maladie dans la partie orientale du Sénégal. Il est donc nécessaire de procéder en accord avec les pays voisins avec le Sénégal à des enquêtes séro-épidémiologiques plus larges afin de localiser toute nouvelle apparition de PPCB et d'analyser les facteurs de risque. Le Sénégal doit combiner ses efforts avec la Gambie où un foyer de PPCB a été localisée dans la localité de Niamina Dankunku en Août 2013 après une absence de cas avéré de PPCB depuis une quarantaine d'années [6], dans le but de développer de nouvelles stratégies de surveillance de cette maladie afin d'assurer son éradication au niveau de la sous région où les mouvements du bétail sont très fréquents.

### REFERENCES :

1 - BASHIRUDIN J.B. (1996). Observations from Outbreaks of CBPP in Europe and Africa. In: (J. Frey, K. Sarris, editors) *Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics, and biotechnology* Agriculture, Berne, p.150-154.).

2 – CHANTAL J. - Contagious bovine pleuropneumonia. EISMV lecture. Dakar 1976

3 MBENGUE Mb., LO FT., DIALLO A M., LO MM., DIOP M., SAMB Y., DIOUF M., THIONGANE Y (2013) – Réémergence de la PPCB au Sénégal

4 - EMVT - CIRAD: *Mycoplasma and Mycoplasma* ruminants. Technical Document technical service infectious disease. June 1985

5 - LEMINOR, L. (1989) - Medical bacteriology, 2nd edition

6. MBENGUE Mb., LO FT., DIALLO A M., LO MM., DIOP M., SAMB Y., DIOUF M., DAFFE K., THIONGANE Y.

“Re emergence of Peuropneumonia Contagious in the Gambia.” – 2013 - AJRC, Vol 01 – 09

7 - OIE – *Mycoplasmosis* in ruminants. In: Scientific and Technical Review of the OIE., 1987, 6 (3)

8 - PROVOST A., P. PERREAU, BREARDA., C. Le GOFF, JL MARTEL., COTTEW GS -  
Contagious bovine pleuro pneumonia, Rev.Off.int.epizoot. (1987) 6: 625-679