

PARATUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE : DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE CHEZ DES VEAUX INOCULÉS AVEC DES SOUCHES DE MYCOBACTÉRIES MYCOBACTINE-DÉPENDANTES

M.F. THOREL¹, J. MARLY², D. TRAP¹, P. PARDON² et P. LECHOPIER²

Avec la collaboration technique de Denise AUCLAIR, Anne-Marie MAHE, Huguette PETIT, Christiane CAU et Jacqueline VANDEVELDE

1 : Ministère de l'Agriculture, Direction de la Qualité, Services Vétérinaires, Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, 22 rue Pierre Curie, BP 67, 94703 Maisons-Alfort cédex, France

2 : Institut National de la Recherche Agronomique, Station de Pathologie de la Reproduction, Nouzilly, 37380 Monnaie, France

Summary

EXPERIMENTAL PARATUBERCULOSIS : BIOLOGICAL DIAGNOSIS IN CALVES INOCULATED WITH MYCOBACTIN-DEPENDENT MYCOBACTERIA STRAINS. — During an experiment on the pathogenicity of mycobactin-dependent mycobacteria strains for calf, the kinetics of antibody formation during infection was studied. The progress of cellular immunity was followed by examining delayed hypersensitivity using four allergens (bovine tuberculin HCSM, avian tuberculin HCSM, avian tuberculin PPD, and johnin PPD), and that of humoral immunity using complement fixation test and ELISA. Simultaneously, the elimination of bacilli in the faeces was examined. The excretion of bacilli, although intermittent, appeared to be the most demonstrative proof of infection : it could be shown at any stage of the disease. On the contrary, the delayed hypersensitivity using the avian tuberculin, and the serologic tests (the complement fixation test and ELISA), were positive only at defined periods of the disease : hypersensitivity reactions developed earlier than humoral reactions. The results obtained during these experiments confirmed that the mycobactin-dependent strains of « wood-pigeon » mycobacteria caused a disease in calves similar to the disease caused by *Mycobacterium paratuberculosis*.

Au cours de l'étude du pouvoir pathogène chez le veau de souches de Mycobactéries mycobactine-dépendantes, nous avons montré que les souches de *Mycobacterium* « wood-pigeon » se comportaient de la même façon que celles de *M. paratuberculosis* exception faite pour la souche 2103 (Thorel *et al.*, 1984). En effet, l'utilisation simultanée de veaux âgés de moins d'un mois, de la voie veineuse et d'une dose infectante de 10^6 à 10^9 unités viables a permis de reproduire des symptômes et des lésions

analogues à ceux de l'infection naturelle à *M. paratuberculosis*.

Cette expérimentation nous a aussi permis de suivre l'évolution de l'hypersensibilité retardée cutanée et des anticorps sériques au cours de l'infection. Simultanément nous avons étudié l'élimination des bacilles dans les fèces par culture des matières fécales.

Nous rapportons ici les résultats obtenus avec ces différentes méthodes utilisées pour le

diagnostic de la paratuberculose : bactériologie, allergie et sérologie.

Matériel et Méthodes

Les souches (Thorel *et al.*, 1984)

Veaux

Vingt-huit veaux de race holstein, normande ou frisonne, ont été acquis à l'âge de 3 à 4 semaines dans

des cheptels présumés indemnes de paratuberculose. Ils ont été répartis en sept lots par tirage au sort, puis infectés par voie veineuse avec un inoculum de 4 ou 8 ml selon les souches. Les animaux ont été sacrifiés un an après l'inoculation ou plus précocement si leur état le nécessitait (Thorel *et al.*, 1984).

Inoculation

La préparation des inoculums a été décrite précédemment (Thorel *et al.*, 1984).

Tableau 1. — Résultats des cultures effectuées à partir des fèces.

Souches	Veaux	Semaines après inoculation ^a													
		2	4	7	11	15	19	23	27	31	35	39	44	49	52
Mycobacterium « wood-pigeon » 6861															
	1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	A
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	A
	3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	A
	4	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	A
Mycobacterium « wood-pigeon » 6409															
	5	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	A
	6	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	A	...
	7	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	A
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	A
Mycobacterium « wood-pigeon » VI-72															
	9	-	+	+	+	+	+	M
	10	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	A
	11	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	A
	12	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	A
Mycobacterium « wood-pigeon » M 21															
	13	-	+	+	+	M
	14	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M	...
	15	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
	16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	A
Mycobacterium paratuberculosis 1077															
	17	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	M	...
	18	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	A
	19	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	A
	20	-	M
Mycobacterium paratuberculosis 7912															
	21	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	A
	22	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	A
	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	A
	24	-	M
Mycobacterium paratuberculosis 2103															
	25	-	+	M
	26	-	-	+	M
	27	-	-	M
	28	+	+	M

a : +, isolement d'une ou plusieurs colonies ; -, absence de colonie ; M, mort ou abattage des cas cliniques avancés ; A, autopsie d'animaux survivants.

Isolement des Mycobactéries

Les bacilles ont été recherchés dans les fèces prélevés par fouille rectale au jour J de l'inoculation puis à J + 15, J + 30 et ensuite toutes les quatre semaines.

Les techniques et les milieux utilisés ont été décrits précédemment (Thorel *et al.*, 1984).

Tuberculinations

Après une intradermotuberculination qualitative réalisée le jour de l'inoculation, des intradermotuberculinations quantitatives ont été pratiquées ultérieurement toutes les cinq semaines puis toutes les six semaines.

Quatre tuberculines ont été utilisées :

— tuberculine bovine CCMS (concentrée à chaud sur milieu synthétique) titrant 10 000 UCT/ml (Unité Communautaire de Tuberculine) (Ifra-Mérieux, Lyon).

— tuberculine aviaire CCMS titrant 25 000 UI/ml (Unité Internationale) (Ifra-Mérieux, Lyon).

— tuberculine aviaire PPD (purified protein derivative) titrant 25 000 UI/ml ou 0,8 mg/ml (Ifra-Mérieux, Lyon).

— johnine PPD titrant 0,5 mg/ml (Central Veterinary Laboratory, Weybridge, England).

Les tuberculines CCMS ont été employées à raison de 0,2 ml par dose et les tuberculines PPD à raison de 0,1 ml par dose. Les tuberculinations ont été effectuées de part et d'autre de l'encolure : chaque côté de l'encolure recevait deux injections intradermiques d'un allergène différent.

Avant chaque tuberculination, l'affectation d'une tuberculine à un lieu d'injection était déterminée par permutation circulaire. Les réactions au lieu d'injection des allergènes ont été appréciées par mesure de l'épais-

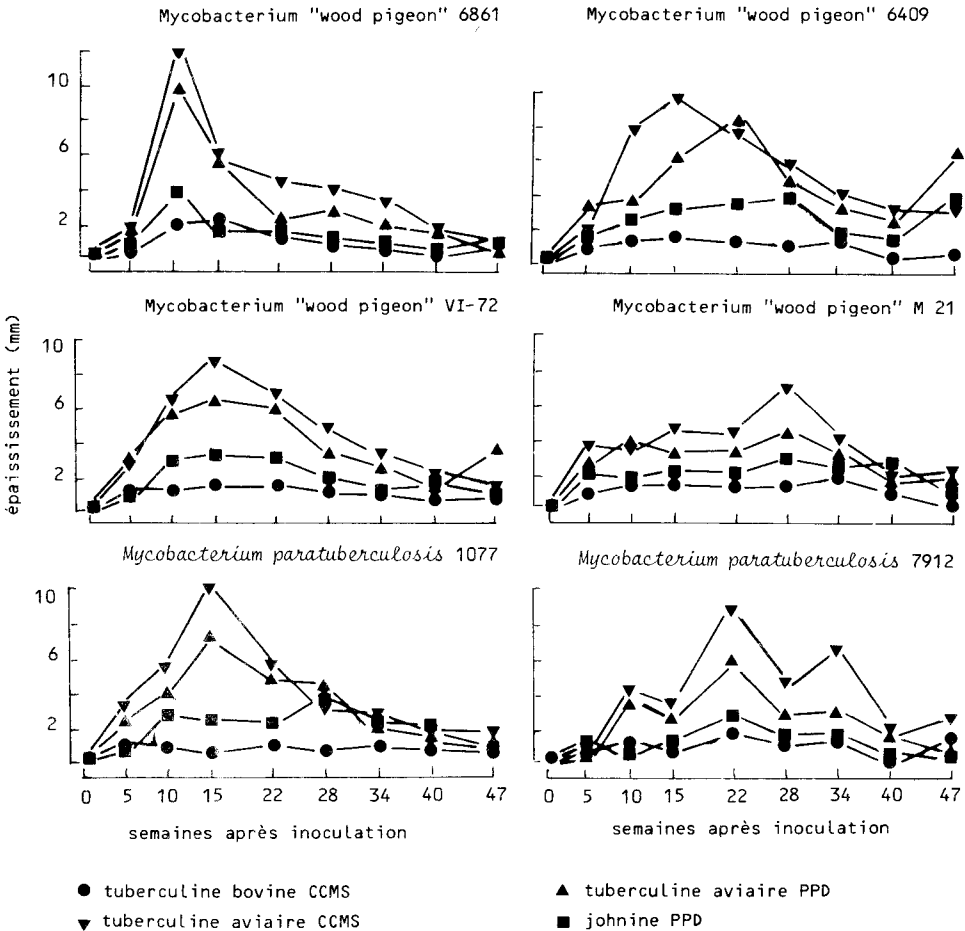


Fig. 1. — Cinétique de l'hypersensibilité retardée mesurée à la 72^e heure et comparaison de 4 allergènes (moyenne des épaissements cutanés pour 3 ou 4 veaux en fonction du temps).

sissement du pli de peau au moyen d'un pied à coulisse 4, 24, 48, 72 et 96 heures après l'injection (Lucas et Gayot, 1967).

Étude sérologique

Les anticorps ont été recherchés, d'une part, par l'épreuve de fixation du complément avec un antigène soluble consistant en un extrait aqueux de corps bactériens délipidés de *M. paratuberculosis* 316 F (Parafix, Iffa-Mérieux, Lyon), selon la technique décrite par Desmetre (1979) et, d'autre part, par l'ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) avec un antigène soluble obtenu par action des ultrasons sur une suspension de *M. paratuberculosis* «promise» selon la technique décrite par Jorgensen et Jensen (1978).

Quelques modifications ont été apportées à la technique de Jorgensen et Jensen (1978). La sérumalbumine de lapin a été remplacée dans le diluant des

sérums et du conjugué par la fraction V de l'albumine bovine à 1 % (Miles, Epernon), et l'appréciation visuelle des résultats par une lecture automatique à l'aide du spectrophotomètre Multiskan (Flow, Asnières) à la longueur d'onde de 450 nm.

Pour tenir compte des diverses sources de variation les résultats de l'ELISA n'ont pas été exprimés directement en densité optique mais suivant un rapport (Pellegrin et al., 1980):

Rapport réel = (DO sérum - DO «blanc») / DO négatif
Ce rapport servira à exprimer tous les résultats.

D'autre part, l'épreuve de fixation du complément a été réalisée sur des sérums dilués du 1/2 au 1/128 et l'ELISA sur des sérums dilués uniquement au 1/100.

Ces épreuves ont été réalisées sur des prélèvements de sang effectués au jour J des inoculations puis à J + 8, J + 15, J + 30 et ensuite toutes les quatre semaines.

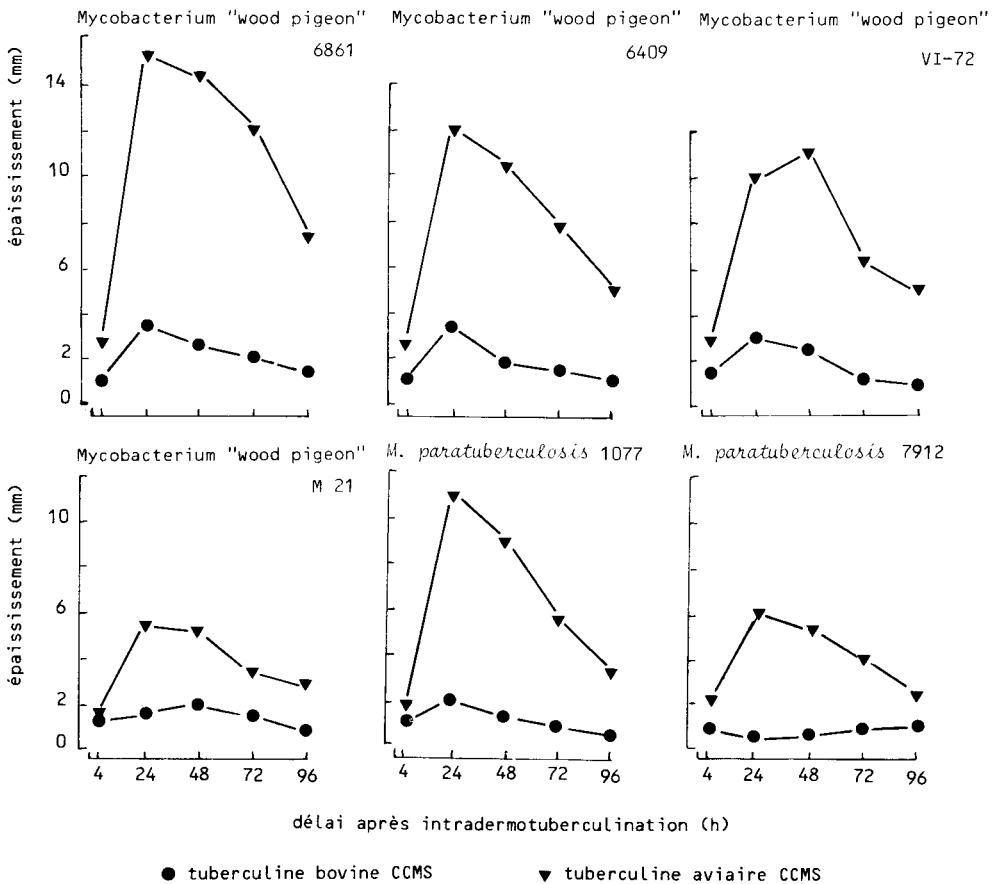


Fig. 2. — Évolution de l'épaississement cutané après l'intradermotuberculation de la 10^e semaine avec les tuberculines CCMS bovine et aviaire (moyenne des épaississements cutanés pour 3 ou 4 veaux en fonction du temps).

Résultats

Isolement des Mycobactéries à partir des fèces (tabl. 1).

Tuberculinations

La cinétique de l'hypersensibilité cutanée montre qu'une infection à *M. paratuberculosis* ou à *Mycobacterium* «wood-pigeon» peut être mise en évidence chez certains animaux dès la 10^e semaine après l'inoculation du germe (fig. 1).

La comparaison des quatre tuberculines montre que les tuberculines aviaires CCMS et PPD provoquent de plus fortes réactions cutanées que la

tuberculine bovine ou la johnine. Ce phénomène est observé avec toutes les souches étudiées (fig. 1).

L'évolution de l'épaississement du pli cutané pendant 96 heures après une intradermotuberculination avec les tuberculines CCMS bovine et aviaire montre que les résultats de cette épreuve comparative peuvent être interprétés en début d'infection dès la 24^e heure après l'injection de l'allergène (fig. 2).

La comparaison des résultats obtenus uniquement avec la tuberculine aviaire CCMS à l'occasion de chaque intradermotuberculination, indique une augmentation de l'épaississement cutané à la 4^e heure en fonction du temps après l'inoculation

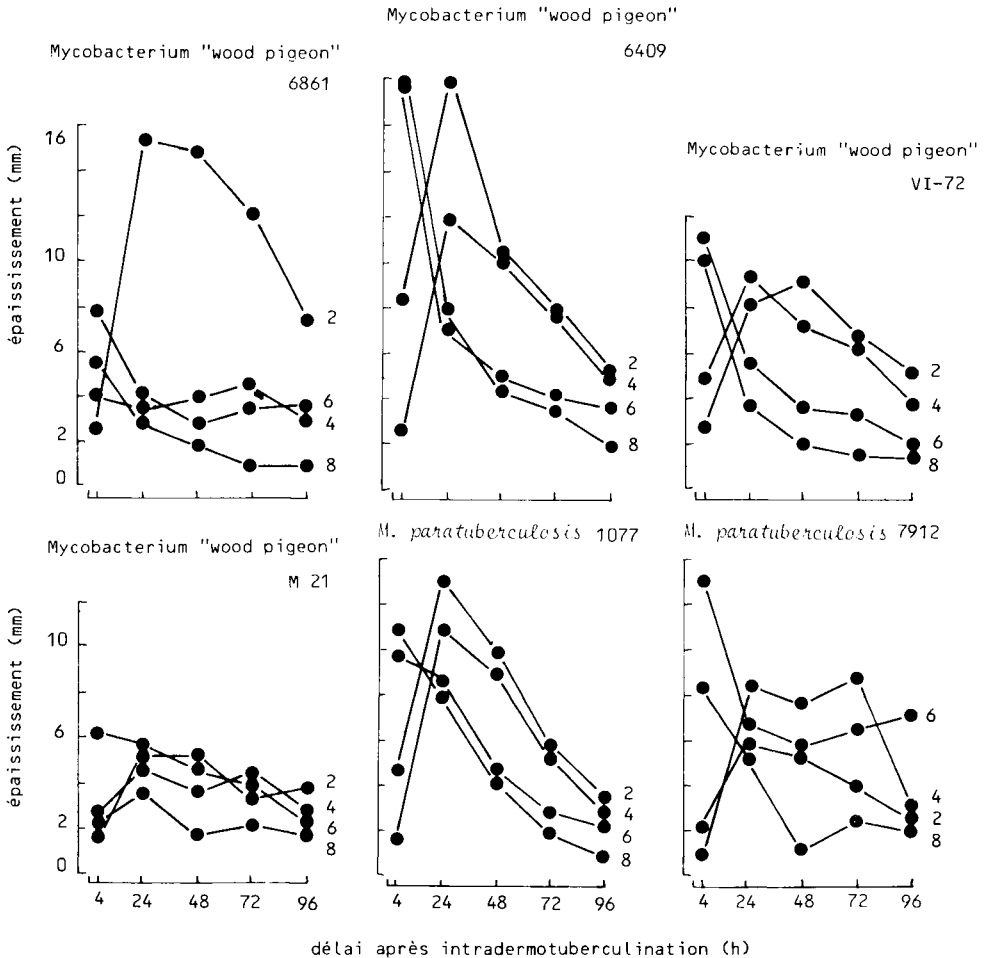


Fig. 3. — Évolution de l'épaississement cutané au cours de 4 tuberculinations successives avec la tuberculine aviaire CCMS. Intradermotuberculinations: 2, 10^e semaine; 4, 22^e semaine; 6, 34^e semaine; 8, 47^e semaine. (moyenne des épaissements cutanés pour 3 ou 4 veaux en fonction du temps).

(fig. 3). Comme précédemment ce phénomène est observé avec toutes les souches étudiées.

Pour toutes les souches étudiées, les premières réactions de l'ELISA apparaissent en même temps ou plus tardivement que celles de l'épreuve de fixation du complément (fig. 4).

Épreuves sérologiques

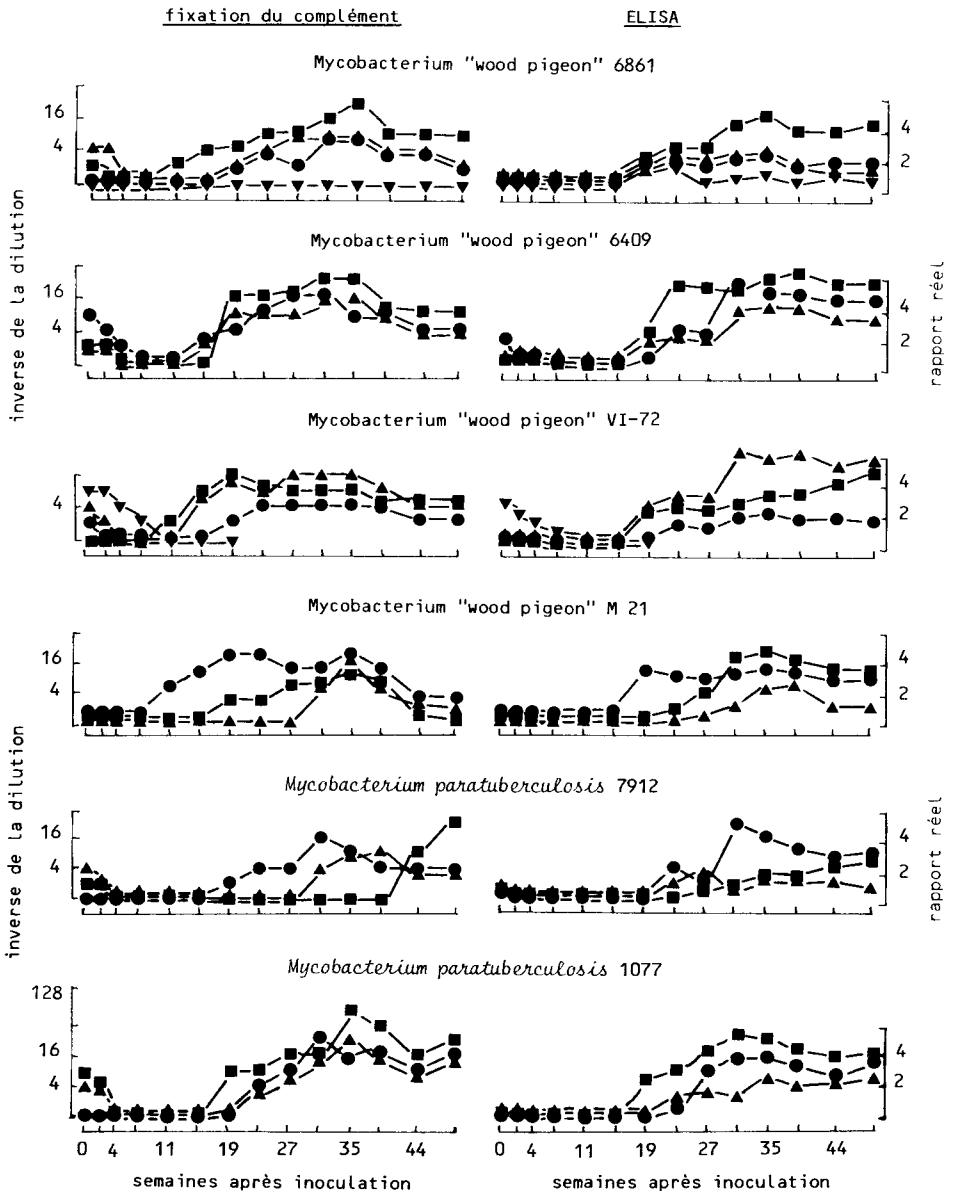


Fig. 4. — Cinétique des anticorps circulants: comparaison des résultats de l'épreuve de fixation du complément avec ceux de l'ELISA. Chaque signe correspond à un veau et chaque veau est représenté par le même signe sur le graphique de l'épreuve de fixation du complément et sur celui de l'ELISA.

Discussion

Malgré le nombre relativement faible d'animaux utilisés par lot, cette étude nous a permis de comparer certaines techniques employées pour le diagnostic de la paratuberculose et d'apprécier leur valeur aux différents stades de l'infection. D'une façon générale nous n'avons pas observé de différence significative entre les résultats obtenus chez les veaux inoculés avec *Mycobacterium* «wood-pigeon» et chez ceux inoculés avec *M. paratuberculosis*, que ce soit avec les techniques bactériologiques, allergiques ou sérologiques (tabl. 2).

L'élimination des bacilles dans les fèces est variable d'une souche à l'autre et d'un animal à

l'autre. De plus, chez un même individu elle est soit intermittente, soit constante. Nous savons que le nombre d'unités viables peut varier très largement d'une récolte de fèces à l'autre et qu'un animal doit éliminer au moins 100 organismes par gramme de fèces pour pouvoir être détecté par culture après traitement par le chlorure de benzalkonium (Merkal, 1970, 1973). Il est donc logique de penser qu'au cours de cette expérimentation un animal à culture négative peut ne pas avoir éliminé assez de bacilles dans les fèces pour pouvoir être décelé par la culture. Or, pour la culture des matières fécales nous avons utilisé comme décontaminant non seulement le chlorure de benzalkonium, mais aussi l'acide oxalique. Il semble que dans les conditions de décontamina-

Tableau 2. — Comparaison des résultats obtenus aux différentes épreuves

Veaux	1 ^{re} apparition des bacilles dans les fèces en mois (P.I)		Tuberculinations épaississement maximum (mm)		Fixation du complément ^a	Délais d'abattage (mois)	Ganglion mésentérique		iléon + caecum	
	aviare	bovine	aviare	bovine			lésions ^b	culture	lésions ^b	culture
<i>Mycobacterium</i> «wood-pigeon» 6861										
1	7		17,6	4,1	8	12	—	+	—	—
2	10		11,0	3,0	32	12	—	+	—	—
3	7		7,4	1,9	8	12	—	+	—	—
4	7		12,5	1,6	0	12	+	+	—	+
<i>Mycobacterium</i> «wood-pigeon» 6409										
5	7		18,8	1,6	32	12	+	+	+	+
6	7		10,7	2,8	16	11	—	+	—	+
7	5		10,6	3,5	16	12	+	+	+	—
<i>Mycobacterium</i> «wood-pigeon» VI-72										
9	1		5,0	0,7	0	5	+	+	+	+
10	2		9,1	2,1	16	12	—	+	—	—
11	2		17,6	3,8	4	12	—	+	—	+
12	2		7,6	2,7	16	12	+	+	—	+
<i>Mycobacterium</i> «wood-pigeon» M 21										
13	1		3,5	3,3	0	3	... ^c	+	... ^c	+
14	1		11,8	2,3	16	11	+	+	+	+
15	0		6,1	1,7	16	12	—	+	—	+
16	1		6,6	3,0	8	12	+	+	—	—
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i> 1077										
17	3		12,9	1,2	128	10	+	+	+	... ^d
18	3		11,5	1,0	32	12	+	+	+	+
19	3		5,6	1,6	32	12	+	+	+	+
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i> 7912										
21	4		8,3	2,4	32	12	+	+	+	+
22	4		17,6	2,6	16	12	—	+	—	+
23	9		3,6	2,0	8	12	—	+	—	—

a : taux maximum en inverse de la dilution

b : lésions spécifiques de la paratuberculose : +, importantes ; ±, discrètes ; —, absentes.

c : lésions non spécifiques

d : examen non fait

P.I. : post inoculation

tion par l'acide oxalique, un animal éliminant moins de 100 organismes par gramme de fèces puisse être détecté par culture (Stuart, 1965). En effet, lors de cette expérimentation les excréments bacillaires ont été décelés plus précocement en utilisant l'acide oxalique.

L'hypersensibilité cutanée ne permet pas de différencier les animaux infectés par *Mycobacterium* « wood-pigeon » ou par *M. paratuberculosis*. De plus, la comparaison des quatre allergènes utilisés montre que les plus importantes réactions aux intradermotuberculinations ont été obtenues avec les tuberculines aviaires CCMS ou PPD. L'hypersensibilité cutanée ne permet donc pas de distinguer un animal infecté par *M. avium* d'un animal infecté par *M. paratuberculosis* ou par *Mycobacterium* « wood-pigeon » (Magnusson, 1980).

Au contraire, il est particulièrement intéressant de confirmer que la tuberculine bovine provoque des réactions cutanées faibles chez des animaux infectés avec *M. paratuberculosis*, démontrant ainsi le peu d'influence des réactions croisées existant entre *M. bovis* et *M. paratuberculosis* dans une telle épreuve. Ceci justifie l'emploi en routine de l'intradermo double comparative ou IDC pour interpréter les éventuelles réactions croisées (Jorgensen, 1981).

D'autre part, la johnine n'a provoqué que de faibles réactions chez les animaux inoculés avec *M. paratuberculosis* ou *M. « wood-pigeon »*. On peut donc s'interroger sur la valeur de cet allergène par rapport aux autres tuberculines utilisées (Johnson *et al.*, 1949).

Certains auteurs utilisant le même produit dans les mêmes conditions ont également remarqué les mêmes effets, c'est-à-dire, une faible réaction à la johnine et une forte réaction à la tuberculine aviaire (Taylor, 1953; Stuart, 1962, 1965; Zorawski, 1972). De même Milner *et al.* (1981) ont observé un indice de stimulation des lymphocytes plus important avec la tuberculine aviaire qu'avec la johnine chez des animaux infectés avec *M. paratuberculosis*.

L'observation de l'évolution de l'épaississement du pli cutané après une injection de l'allergène a permis de montrer qu'au cours des premières intradermotuberculinations, c'est-à-dire au début de l'infection, il était possible d'effectuer la lecture de l'épreuve dès la 24^e heure. Il semble que ce soit le fait des animaux massivement infectés (De Lisle, 1979). Mais, cette capacité disparaît avec le temps. En effet, au cours de l'infection, on constate l'apparition d'une réaction de plus en plus importante à la 4^e heure après l'injection de l'allergène qui diminue ensuite régulièrement jusqu'à la 96^e heure.

La réaction obtenue à quatre heures est une réponse habituellement considérée comme non

spécifique. Cette réponse immédiate est due à une réaction entre l'allergène injecté et les anticorps solubles présents chez l'hôte (Merkal *et al.*, 1970; Merkai, 1973).

En général un épaississement cutané maximum est obtenu après 48 ou 72 heures. De plus il a été observé à 96 heures une légère augmentation des épaississements cutanés montrant ainsi que certains animaux qui ne réagissaient pas à 72 heures pouvaient devenir positifs à 96 heures (Paterson *et al.*, 1958; De Lisle, 1979; Ketterer *et al.*, 1981). Ces réactions tardives seraient en relation avec une infection légère des animaux. Il semble que l'évolution de l'épaississement du pli cutané soit fonction de l'intensité de l'infection.

Les épreuves sérologiques (fixation du complément et ELISA), comme l'hypersensibilité cutanée retardée, ne nous ont pas permis de distinguer les animaux infectés par *Mycobacterium* « wood-pigeon » ou par *Mycobacterium paratuberculosis*. La variabilité du délai d'apparition des anticorps fixant le complément ou déterminant une réaction enzymatique, semble en rapport avec l'animal et non avec la souche inoculée.

La comparaison des résultats obtenus avec ces deux épreuves ne nous a pas permis de conclure à la supériorité de l'une des techniques par rapport à l'autre. A l'inverse de nombreux auteurs, l'ELISA ne s'est pas révélée plus sensible que l'épreuve de fixation du complément (Morris *et al.*, 1979; Riemann *et al.*, 1983; Yokomizo *et al.*, 1983). Il faut donc s'interroger sur la valeur des techniques et sur la sensibilité des antigènes utilisés.

De Lisle (1983) a montré chez le mouton que la technique de fixation du complément à chaud était moins sensible que celle à froid. De même, quelle que soit la technique de fixation du complément employée, celle utilisant comme antigène un extrait aqueux ou un carbohydrate, était plus sensible que celle employant un extrait au méthanol. D'autre part, les réactifs disponibles pour l'ELISA à l'heure actuelle ne possèdent pas tous la même sensibilité. Comme De Lisle, Riemann (1983) a comparé l'efficacité de deux préparations antigéniques démontrant ainsi que les résultats de l'ELISA effectuée avec un antigène purifié étaient plus significatifs que ceux obtenus en utilisant un antigène brut. Ces investigations suggèrent le développement de la standardisation des méthodes et des antigènes utilisés dans ces différents tests.

Dans la comparaison des différentes épreuves utilisées au cours de cette expérimentation, seul le problème des fausses réactions négatives a pu être envisagé, tous les veaux s'étant révélés infectés après la mise en culture des organes (tabl. 2).

Chez les veaux inoculés avec les différentes souches étudiées, les anticorps circulants sont apparus plus tardivement que l'hypersensibilité

retardée. L'immunité cellulaire serait plus précoce que l'immunité humorale. D'autre part, l'intensité des réactions obtenues avec ces différents tests semble être en rapport avec le degré d'infection des animaux. En effet, d'après De Lisle *et al.* (1980), des sujets éliminant irrégulièrement un petit nombre de bacilles donnaient généralement des examens sérologiques négatifs; au contraire des animaux éliminant constamment un grand nombre de bacilles donnaient des examens sérologiques positifs.

Au cours d'une infection à *M. paratuberculosis* les réactions positives à la tuberculine aviaire précèdent en règle générale l'isolement des bacilles dans les fèces, mais cette aptitude à réagir décline rapidement. Les anticorps circulants ne se développent pas au début de l'infection mais leur taux augmente dès que la maladie clinique se manifeste. D'autre part, un animal infecté en apparence bonne santé, peut excréter des bacilles dans les fèces pendant plusieurs mois avant l'apparition des symptômes ou des réactions significatives à la fixation du complément (Taylor, 1953; Stuart, 1962; Merkal, 1973).

A la lumière des résultats obtenus au cours de cette expérimentation, l'excrétion bacillaire, bien qu'intermittente, apparaît comme l'épreuve la plus démonstrative de l'existence de la maladie; elle peut être positive à n'importe quel stade de l'infection. En revanche, l'hypersensibilité retardée mise en évidence en utilisant la tuberculine aviaire et les réactions sérologiques (fixation du complément et ELISA), ne sont positives qu'à un stade

déterminé de la maladie: la première au début de l'infection et les secondes ultérieurement.

Tous ces résultats confirment le développement d'une infection paratuberculeuse aussi bien chez les veaux inoculés avec *M. paratuberculosis* que chez ceux inoculés avec *Mycobacterium* «wood-pigeon».

Reçu le 23 mars 1984.

Accepté le 16 avril 1984.

Remerciements

M.F. Thorel tient à remercier:

J.B. Jorgensen, State Veterinary Serum Laboratory Copenhagen, P.R.I. Matthews, Institute for Research on Animal Diseases, Compton, et C.O. Thoen, College of Veterinary Medicine, Ames, Iowa, qui ont bien voulu lui transmettre leurs souches.

R.S. Merkal, National Animal Diseases Center, Ames, Iowa, qui, en plus de ses conseils judicieux, lui a fourni la mycobactine.

Ph. Desmettre, Institut Mérieux Lyon, et le Central Veterinary Laboratory de Weybridge qui lui ont procuré les tuberculines.

Mireille Gonzalez, Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, qui a participé à la rédaction de ce travail.

Le personnel animalier de la Station de Pathologie de la Reproduction qui a assuré les soins aux animaux et une partie des prélèvements.

Résumé

Au cours d'une expérimentation sur le pouvoir pathogène chez le veau de souches de mycobactéries mycobactine dépendantes, la cinétique de la formation des anticorps au cours de l'infection a été étudiée. Le développement de l'immunité cellulaire a été suivi en utilisant l'hypersensibilité retardée réalisée avec quatre allergènes (tuberculine bovine CCMS, tuberculine aviaire CCMS, tuberculine aviaire PPD et johnine PPD) et celui de l'immunité humorale en employant l'épreuve de fixation du complément et l'ELISA. Simultanément l'élimination des bacilles dans les fèces a été recherchée. L'excrétion bacillaire bien qu'intermittente est apparue comme l'épreuve la plus démonstrative de l'existence de la maladie; elle peut être positive à n'importe quel stade de l'infection. Au contraire l'hypersensibilité retardée réalisée avec la tuberculine aviaire et les réactions sérologiques (fixation du complément et ELISA) n'étaient positives qu'à un stade déterminé de la maladie: la première au début de l'infection et les secondes ultérieurement. Les résultats obtenus au cours de cette expérimentation ont confirmé le développement d'une infection paratuberculeuse aussi bien chez les veaux inoculés avec *Mycobacterium paratuberculosis* que chez ceux inoculés avec *Mycobacterium* «wood-pigeon».

Références

- DE LISLE G.W., 1979. Johne's Disease. A study of the immunological responses and cattle infected with *Mycobacterium paratuberculosis*. *Diss. Abstr. Int.*, **39B**, 5266-5267.
- DE LISLE G.W., SEGUIN P., SAMAGH B.S., CORNER A.H., DUNCAN J.R., 1980. Bovine Paratuberculosis. I A Herd Study Using Complement Fixation and Intradermal tests. *Can. J. Comp. Med.*, **44**, 177-182, 183-191.

- DE LISLE G.W., WALL E.P., 1983. Serological tests for detecting Johne's Disease in sheep. *Proceedings of the International Colloquium on Research in Paratuberculosis*. The National Animal Disease Centre, Ames, Iowa, USA, June 16-18, 113-119.
- DESMETTRE P., 1979. Réaction de fixation du complément appliquée au dépistage de la maladie de Johne. *SVP Labo. IFFA MERIEUX*, **15**, 1-4.
- DESMETTRE Ph., VALETTE L., 1979. Diagnostic experimental de la paratuberculose des ruminants à *Mycobacterium paratuberculosis*. *Colloque International sur les Mycobactéries Atypiques*, Lyon-Bron, France, 1-2-3 Octobre, 194-214.
- JOHNSON H.W., LARSON A.B., HENLEY R.R., GROTH A.H., 1949. Studies on Johnin. VI The relationship of the allergens of *Mycobacterium paratuberculosis*, *M. tuberculosis var. avium*, *bovis* and *hominis* and *M. phlei*. *Am. J. Vet. Res.*, **10**, 138-141.
- JORGENSEN J.B., 1981. Pathogenicity and immunogenicity of a typical Mycobacteria for calves: a short summary. *Rev. Infect. Dis.*, **3**, 979-980.
- JORGENSEN J.B., JENSEN P.T., 1978. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for detection of antibodies to *Mycobacterium paratuberculosis* in cattle. *Acta Vet. Scand.*, **19**, 310-312.
- KETTERER P.J., ROGERS R.J., DONALD B., 1981. Pathology and Tuberculin sensitivity in cattle inoculated with *Mycobacterium avium* complex serotypes 6, 14 and 18. *Aust. Vet. J.*, **57**, 61-65.
- LUCAS A., GAYOT G., 1967. *Pathologie de la production du lait. III Procédés actuels de dépistage de la Tuberculose bovine*. CNRS, Paris.
- MAGNUSSON M., 1980. Classification and identification of Mycobacteria on the basis of sensitin specificity. In: MEISSNER G., SCHMEIDEL A., NELLES A., PFAFFENBERG R. (Eds), *Infektionskrankheiten und ihre Erreger, Mykobakterien und mykobakterielle Krankheiten, Systematik der Mykobakterien*, 319-348. VEB Gustav Fischer Verlag Jena.
- MERKAL R.S., 1970. Diagnostic methods for detection of paratuberculosis (Johne's Disease). *Proceedings of 74th Annual Meeting US Animal Health Association*.
- MERKAL R.S., 1973. Laboratory Diagnosis of bovine paratuberculosis *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **163**, 1100-1102.
- MERKAL R.S., KOPECKY K.E., LARSEN A.B., NESS R.D., 1970. Immunologic Mechanisms in bovine Paratuberculosis. *Am. J. Vet. Res.*, **31**, 475-485.
- MILNER A.R., WILKS C.R., BORLAND R., 1981. *In vitro* responses of lymphocytes from cattle with advanced *Mycobacterium paratuberculosis* infection to homologous and heterologous antigens. *Res. Vet. Sci.*, **31**, 93-99.
- MORRIS J.A., STEVENS A.E., STUART P., LITTLE T.W.A., 1979. A pilot study to assess the usefulness of ELISA in detecting tuberculosis in badgers. *Vet. Rec.*, **104**, 14.
- PATERSON A.B., STUART P., LESLIE I.W., LEECH F.B., 1958. The use of tests on slaughterhouse cattle for estimating relative potencies of tuberculins and for the calculation of discrimination tests. *J. Hyg.*, **56**, 1-18.
- PELLERIN J.L., GERAL M.F., LAUTIE R., 1980. Le Test immuno-enzymatique ELISA dans le diagnostic sérologique de la brucellose humaine. *Rev. Méd. Vét.*, **131**, 741-766.
- RIEMANN H., ABBAS B., LONNERDAL B., 1983. Diagnosis and control of paratuberculosis. *The international colloquium on research in paratuberculosis*. The National animal disease center, Ames, Iowa USA, June 16-18, 47-70.
- STUART P., 1962. The diagnosis of Johne's Disease in cattle and the effect of vaccination on tuberculin and Johnin tests. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, **58**, 33-50.
- STUART P., 1965. Vaccination against Johne's Disease in cattle exposed to experimental infection. *Brit. Vet. J.*, **121**, 289-318.
- TAYLOR A.W., 1953. Experimental Johne's Disease in cattle. *J. Comp. Pathol.*, **63**, 355-367.
- THOREL M.F., PARDON P., IRGENS K., MARLY J., LECHOPIER P., 1984. Paratuberculose expérimentale: pouvoir pathogène chez le Veau de souches de mycobactéries mycobactine-dépendantes. *Ann. Rech. Vét.*, **15**, 365-374.
- YOKOMIZO Y., YUGI H., MERKAL R.S., 1983. A method for avoiding false positive reactions in an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the diagnosis of bovine paratuberculosis. *The International colloquium on research in paratuberculosis*. The National Animal Disease Center, Ames, Iowa, USA, June, 16-18.
- ZORAWSKI C., SPRYSZAK A., KARPINSKI T., 1972. Reactions to Johnin, avian and mammalian Tuberculin in cattle affected with paratuberculosis (Johne's Disease). *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, **16**, 41-42.