

THESE de DOCTORAT d'UNIVERSITE MONTPELLIER II

**Ecole Doctorale : Biologie Intégrative
Formation : Parasitologie**

Présenté par François ROGER

Pour obtenir le grade de Docteur d'Université

**Recherches épidémiologiques et microbiologiques sur une maladie émergente du
dromadaire (*Camelus dromedarius*) dans la Corne de l'Afrique :
rôles possibles du virus de la peste des petits ruminants (*Paramyxoviridae*, Morbillivirus)
et de *Streptococcus equi* subsp. *equi*.**

Soutenue le 15 décembre 2000

Devant le Jury composé de :

**Pr Bernard GODELLE
Dr Pierre-Charles LEFEVRE
Pr Jean CHANTAL
Dr Bruno ANDRAL
Pr Philippe DORCHIES
Dr Adama DIALLO
Dr Bernard FAYE**

**CIRAD-Dist
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE
Baillarguet**

**Président
Directeur
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur**

THESE de DOCTORAT d'UNIVERSITE MONTPELLIER II

**Ecole Doctorale : Biologie Intégrative
Formation : Parasitologie**

Présenté par François ROGER

Pour obtenir le grade de Docteur d'Université

Recherches épidémiologiques et microbiologiques sur une maladie émergente du dromadaire (*Camelus dromedarius*) dans la Corne de l'Afrique : rôles possibles du virus de la peste des petits ruminants (*Paramyxoviridae*, Morbillivirus) et de *Streptococcus equi* subsp. *equi*.

Soutenue le 15 décembre 2000

Devant le Jury composé de :

**Pr Bernard GODELLE
Dr Pierre-Charles LEFEVRE
Pr Jean CHANTAL
Dr Bruno ANDRAL
Pr Philippe DORCHIES
Dr Adama DIALLO
Dr Bernard FAYE**

**Président
Directeur
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur**

A

*Catherine,
Marie, Louis et Lola,*

A la mémoire de Jeanette et Jacky

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur le Professeur Bernard GODELLE, de l'Université de Montpellier II, qui a bien voulu présider ce jury de thèse.

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur le Professeur Jean CHANTAL, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et au Docteur Bruno ANDRAL, Directeur du Laboratoire AFSSA de Lyon, pour avoir cordialement accepté d'être les rapporteurs de ce mémoire.

Je tiens à manifester toute ma reconnaissance au Dr Pierre-Charles LEFEVRE, du Conseil Général Vétérinaire du Ministère français de l'Agriculture, qui a soutenu ce projet dès le début et accepté d'être le directeur de ces travaux.

Je remercie également Monsieur le Professeur André RAIBAULT, de l'Université Montpellier II, qui nous avait accordé sa confiance lors de l'initiation de ce travail.

Ce travail a été réalisé entre l'Ethiopie et la France, puis à Madagascar, dans un contexte de coopération toujours amical. Dans ce cadre, je tiens à remercier les confrères et collègues suivants :

En Ethiopie, pays pour lequel je garderai un souvenir impérissable des années passées à Debre-Zeit :

Le Dr Joseph FIKRE, ancien Directeur du National Veterinary Institute pour son accueil amical lors de mon arrivée en Ethiopie et ses encouragements lors du démarrage de cette étude. Le Dr Tesfaye KASSA, actuel Directeur, pour avoir continué à appuyer cette entreprise ainsi que le Dr Mebratu GUEBRE YESUS, le Dr Antonio Di MARIA et le Dr Berhe GEBRE EGZIABHER TEKOLA pour leur soutien toujours amical ; Mesdames Selam TARIKU et Almaz SHAREW, pour leur appui technique et leur amitié ; Berhanu BEYENE pour son assistance cordiale ; Getaneh ASHENAFI et Fekadu DEMISSIE pour leur participation active et leur amitié ; ainsi que tout le personnel du NVI ;

Le Dr Boubacar SECK, Directeur du PANVAC (FAO) à Debre-Zeit, pour son amitié ;

Le Dr Pascal BONNET, du CIRAD-EMVT en poste à l'ILRI, Addis-Abeba, et son épouse Sophie, avec qui ces études sur les dromadaires pourront, je l'espère, se poursuivre dans la Corne de l'Afrique ; Abera SOLOMON du Projet Vétérinaire français en Ethiopie, pour son efficacité et sa gentillesse.

En France, au CIRAD-EMVT,

Le Dr Joseph DOMENECH, Directeur, et le Dr Emmanuel CAMUS, Chef du Programme Santé Animale, pour m'avoir donné la possibilité de poursuivre ce travail ;

Le Dr Geneviève LIBEAU pour ses conseils et sa grande disponibilité, ainsi que Colette GRILLET, Monique BARBRON et Corinne HURARD pour leur appui technique.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance au Dr Alain PROVOST, conseiller avisé de mes premières années, de l'Institut Pasteur à mon premier poste en Guinée-Conakry.

A Madagascar,

Catherine CATOEN-ROGER et June FREEAR-RABEMANANTSOA pour les relectures attentives des manuscrits.

La conception puis la réalisation de cette étude et de ce mémoire n'auraient pu se faire sans l'aide des personnes suivantes que je remercie vivement :

Monsieur le Professeur Philippe DORCHIES, de l'Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse, pour son soutien, ses encouragements amicaux permanents et ses conseils ;

Le Dr Jean-Jacques TULASNE, du CIRAD-EMVT, pour son soutien toujours chaleureux tout au long de ce travail depuis mon arrivée en Ethiopie jusqu'à aujourd'hui ;

Le Dr Bernard FAYE, du CIRAD-EMVT, pour son appui et sa passion communicative pour l'Ethiopie et le dromadaire ;

Le Dr Laike Mariam YIGEZU, du National Veterinary Institute de Debre-Zeit en Ethiopie, qui a toujours été à mes côtés ;

Denise BASTRON, du CIRAD-EMVT, qui a assuré le lien permanent, bienveillant et amical entre l'Outre-mer et la France et qui a ainsi permis l'aboutissement de ce travail.

Enfin, ce travail n'aurait pu être réalisé sans l'encadrement scientifique et le soutien indéfectible du Dr Adama DIALLO, du CIRAD-EMVT. Je le remercie très sincèrement pour son appui permanent, rigoureux, enthousiaste et toujours chaleureux.

Summary

An epizootic disease has substantially affected the camel population in Ethiopia in 1995-1996. It was a highly contagious infection characterized by a febrile and respiratory syndrome. The morbidity rate was elevated and the mortality rates were variable, especially after an antibiotic treatment. In less than two years, the disease was registered in all the camel rearing areas of the Horn of Africa.

The occurrence of a syndrome similar to a rinderpest-like disease, as well as the high prevalence of the peste des petits ruminants (PPR) in caprine and ovine populations in the epidemic area, its remarkably rapid spread and its pathology, has prompted us to search for a viral disease and particularly for morbillivirus as primary etiologic agent.

The PPR virus has been detected by immunocapture of antigens (ELISA test) and by genetic amplification (RT-PCR). Sequencing of amplified fragments showed genetic proximity with PPR virus strains. A competitive ELISA test for the detection of PPR antibodies has been applied on serum samples from three epidemiologically defined regions. An increase in the seroprevalence rates among non affected, diseased and convalescent animals, has been observed. Moreover, bacteriological works have been carried out handling different culture media. *Streptococcus equi* subsp. *equi* strain has been isolated. It was apparently the first isolation of the equine strangles agent from camelids.

It is assumable that the outbreak could have been initiated by a morbillivirus closely related to the PPR virus. The virus might have an immunosuppressor effect that favored the occurrence of secondary bacterial infections. However, considering that the specificity of strangles on equine is a highly contagious disease, the exact role of *Streptococcus equi* subsp. *equi* remains to be evaluated.

These hypothesis are discussed, notably in the context of the emerging diseases and the interspecies transfer.

Sommaire

Summary	5
Liste des abréviations	12
Liste des illustrations	13
Liste des annexes.....	13
Introduction générale	14
Le dromadaire et sa pathologie	17
1. Le dromadaire et son élevage	17
2. Pathologie infectieuse du dromadaire	22
2.1. Maladies de la liste A de l'O.I.E.....	23
2.1.1. Peste bovine.	23
2.1.1.1 De 1900 à 1960	24
2.1.1.2 De 1960 à 2000	25
i. Observations cliniques et suivis sérologiques	25
ii. Infections expérimentales.....	25
2.1.2. Peste des petits ruminants.....	28
2.1.3. Peste équine	28
2.1.4. Influenza aviaire hautement pathogène	28
2.1.5. Fièvre de la Vallée du Rift.....	29
2.1.6. Fièvre catarrhale du mouton	29
2.1.7. Fièvre aphteuse.....	29
2.1.8. Péripneumonie contagieuse bovine.....	30
2.1.9. Dermatose nodulaire contagieuse, clavelée et variole caprine	30
2.2. Maladies, syndromes et infections respiratoires du dromadaire	31
2.3. Les agents pathogènes	32
2.3.1. Les bactéries.....	32
2.3.1.1 <i>Arcanobacterium pyogenes</i> (Syn.: <i>Actinomyces pyogenes</i> ; <i>Corynebacterium pyogenes</i>).....	35
2.3.1.2 <i>Streptococcus</i> spp.	36
2.3.1.3 <i>Burkholderia (Pseudomonas) mallei</i> et <i>Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei</i>	36
2.3.1.4 <i>Enterobacteriaceae</i> (Entérobactéries).	37
2.3.1.5 <i>Mycoplasma</i> spp.	37
2.3.1.6 <i>Mycobacterium</i> spp.....	38

2.3.1.7	<i>Chlamydiaceae</i>	38
2.3.1.8	<i>Rickettsiaceae</i>	39
2.3.1.9	La famille des <i>Pasteurellaceae</i> et les genres <i>Pasteurella</i> et <i>Mannheimia</i>	39
i.	<i>Pasteurella multocida</i>	39
ii.	<i>Mannheimia (Pasteurella) haemolytica</i>	40
iii.	<i>Pasteurella trehalosi</i>	40
2.3.2.	Les virus	42
2.3.2.1	Virus Influenza A et B	42
2.3.2.2	Virus parainfluenza 3 (PI-3)	43
2.3.2.3	Virus respiratoire syncytial bovin (BRSV)	43
2.3.2.4	Virus IBR (BHV-1) et virus de la rhinopneumonie équine (EHV-1)	43
2.3.2.5	Virus de la maladie des muqueuses (BVDV)	44
2.3.2.6	Virus camelpox (variole du dromadaire)	44
2.3.2.7	Autres virus	44
2.3.3.	Parasites (protozoaires, helminthes et arthropodes ; champignons)	45
2.3.3.1	Protozooses (hémoparasitoses)	45
2.3.3.2	Helminthoses (endoparasitoses)	45
2.3.3.3	Ectoparasitoses	45
2.3.3.4	Champignons	46
2.4.	Les maladies et infections respiratoires	47
2.4.1.	La tuberculose	47
2.4.2.	La septicémie hémorragique	48
2.4.3.	Le complexe des maladies respiratoires	50
2.4.3.1	Présentation du complexe respiratoire des bovins et des pasteurelloses des petits ruminants	50
i.	Complexe respiratoire des bovins	50
ii.	Pasteurelloses des petits ruminants	52
ii.1	Mannheimiose	52
ii.2	Infection à <i>Pasteurella trehalosi</i>	52
2.4.3.2	Le "complexe respiratoire" du dromadaire.	53

Observations et hypothèses	57
1. Chronologie des événements : observations et résultats préliminaires.....	57
1.1. Introduction : présentation succincte de l'Ethiopie et du secteur élevage.....	57
1.2. Epizootie de 1995 – 1996	59
1.2.1. Observations, données et échantillons recueillis sur le terrain.	59
1.2.2. Premiers résultats de laboratoire.....	61
1.2.2.1 Ethiopie, NVI	61
1.2.2.2 CIRAD-EMVT, France.....	62
1.2.3. Situation dans les pays limitrophes	63
1.2.4. Premiers bilans.....	64
1.3. Pathologies camelines rapportées en 1997 – 1998.....	65
2. Bilan clinique et lésionnel.....	66
2.1. Bilan clinique	66
2.2. Bilan lésionnel.....	66
3. Synthèse épidémiologique.....	67
3.1. Evolution dans l'espace et le temps.....	67
3.2. Hôtes.....	68
3.3. Taux épidémiologiques.....	68
3.4. Aspects zoonotiques	68
4. Hypothèses étiologiques.....	69
Résultats	71
1. Analyse du rôle potentiel du virus de la peste des petits ruminants	71
1.1. La peste des petits ruminants: revue bibliographique.....	71
1.1.1. Le virus de la PPR.....	72
1.1.1.1 Taxonomie.....	72
1.1.1.2 Caractéristiques générales.....	73
1.1.2. La maladie : pathogénie, symptomatologie, contrôle.....	74
1.1.2.1 Pathogénie	74
1.1.2.2 Symptomatologie.....	75
1.1.2.3 Contrôle : diagnostic, traitement et prophylaxie	76
1.1.3. Epidémiologie (en Afrique).....	78
1.1.3.1 Facteurs intrinsèques.....	78

i.	Espèces	78
ii.	Race	79
iii.	Age et sexe	79
1.1.3.2	Facteurs extrinsèques	79
i.	Conduite d'élevage	79
ii.	Facteurs climatiques	79
1.1.3.3	Formes épidémiologiques	80
1.2.	Travaux expérimentaux	81
1.2.1.	Mise en évidence d'anticorps spécifiques de la PPR et de la RP : ARTICLE 1: Roger F, Guebre Yesus M, Libeau G, Diallo A, Yigezu LM, Yilma T. Detection of antibodies of rinderpest and peste des petits ruminants viruses (<i>Paramyxoviridae</i> , <i>Morbillivirus</i>) during a new epizootic disease in Ethiopian camels (<i>Camelus dromedarius</i>). Revue Med. Vet. In press.	81
1.1.1.	Détection d'ARN et séquençage	90
1.1.1.1	Méthodologie : ARTICLE 2. Couacy-Hymann E, Roger F, Hurard C, Guillou JP, Libeau G, Diallo A. Rapid and sensitive detection of peste des petits ruminants virus by a polymerase chain reaction assay. J. of Virological Methods. In press.	90
1.1.1.2	Détection d'ARN du virus PPR chez les dromadaires. ARTICLE 3 : Roger F, Shamaki D, Hurard C, Mebratu GY, Yigezu LM, Grillet C, Libeau G, Diallo A. Detection of Peste des Petits Ruminants RNA in Lungs of Camels Suffering from Respiratory Disease in Ethiopia and Nigeria. Soumis à Vet. Microbiol.	113
1.1.2.	Reproductions expérimentales préliminaires	126
1.1.2.1	Matériels et méthodes	126
i.	Animaux	126
ii.	Expérimentation 1 : processus et tissus utilisés	127
iii.	Expérimentation 2 : souches virales utilisées	128
iv.	Suivi des animaux	128
v.	Analyses	128
1.1.2.2	Résultats	128
i.	Expérimentation 1 : inoculations des tissus et passage sur petits ruminants...128	
i.1	Ovins et caprins : NVI, Debre-Zeit (Ethiopie)	128
i.2	Ovins et caprins : IAH-Pirbright (GB)	129
i.3	Dromadaires, ovins et caprins (NVI, Debre-Zeit, Ethiopie)	129
ii.	Expérimentation 2 : inoculation de la souche PPRV 'Ethiopia 94'	133
1.1.2.3	Commentaires	136
2.	Analyse du rôle potentiel de <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	137
2.1.	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i> et la gourme	137
2.1.1.	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	137

2.1.1.1	Taxonomie.....	137
2.1.1.2	Caractères bactériologiques	138
2.1.2.	La maladie chez les équidés.....	138
2.1.2.1	Symptômes et épidémiologie	138
2.1.2.2	Diagnostic bactériologique.....	139
2.1.2.3	Contrôle.....	140
2.1.3.	<i>S. equi</i> et les camélidés.....	140
2.2.	Travaux expérimentaux	141
2.2.1.	Isolement du germe <i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i> chez un dromadaire malade. ARTICLE 4 : Yigezu LM, Roger F*, Kiredjian M, Tariku S. 1997. Isolation of <i>Streptococcus equi</i> subspecies <i>equi</i> (strangles agent) from an Ethiopian camel. Vet Record, 140, 608 (*Corresponding author).....	141
2.2.2.	Mise au point d'outils et caractérisation moléculaire de la souche isolée en Ethiopie. ARTICLE 5 : Sechi LA, Roger F, Diallo A, Yigezu LM, Zanetti S, Fadda G . 1999. Molecular Characterization of <i>Streptococcus equi</i> subspecies <i>equi</i> isolated from an Ethiopian Camel by Ribotyping and PCR-Ribotyping. Microbiologica, 22, 383-387.	143

Discussion générale et perspectives	149
1. Méthodologies utilisées : limites et contraintes.....	149
1.1. Approches cliniques, microbiologiques et expérimentales.....	149
i. Approche clinique.....	149
ii. Approche microbiologique.....	149
iii. Infections expérimentales.....	150
1.2. Approches épidémiologiques	151
2. Discussion des hypothèses étiologiques.....	151
2.1. Hypothèse virale : PPRV	151
2.2. Hypothèse bactérienne : <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	152
2.3. Hypothèse relative à l'association virus et bactérie(s).....	152
2.4. Autres hypothèses.....	153
2.5. Maladies infectieuses émergentes	153
2.5.1. Définition(s).....	154
2.5.2. Origines des maladies émergentes	154
2.5.3. Les Morbillivirus et les maladies émergentes.....	155
3. Perspectives.....	158
3.1. Microbiologie et infections expérimentales.....	158

3.2. Surveillance et enquêtes épidémiologiques158
 3.2.1. Epidémiosurveillance158
 3.2.2. Enquêtes transversales.....159
3.3. Etudes épidémiologiques159
 3.3.1. Etudes analytiques.....159
 3.3.2. Modélisation159

Conclusion.....160

Références161

Annexes.....176

Résumé.....188

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	Acide désoxyribonucléotidique complémentaire
ARN	Acide ribonucléique
BHV-1	Bovine herpesvirus 1 (virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine)
BRSV	Bovine respiratory syncytial virus
BVDV	Bovine viral disease virus (virus de la maladie des muqueuses)
CDV	Virus de la maladie de Carré
CIRAD-EMVT	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement. Département d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux
EAU	Emirats Arabes Unis
EHV-1	Equine herpesvirus 1
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FCM	Fièvre Catarrhale Maligne
IAH	Institute of Animal Health (Pirbright, Royaume-Uni)
MEM	Milieu essentiel minimum
MOA	Ministry of Agriculture (Ethiopie)
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NVI	National Veterinary Institute (Debre-Zeit, Ethiopie)
OIE	Office International des Epizooties
PARC	Pan African Rinderpest Campaign (campagne panafricaine contre la peste bovine)
PB	peste bovine
PI-3	Parainfluenza virus 3
PPCB	Péripneumonie contagieuse bovine
PPCC	Pleuropneumonie contagieuse caprine
PPR	Peste des petits ruminants
PPRV	Virus de la peste des petits ruminants
RPV	Virus de la peste bovine (rinderpest virus)

Liste des illustrations

Tableaux

Tableau I : essais de reproduction expérimentale de la peste bovine chez des dromadaires africains.	26
Tableau II : bactéries isolées d'organes respiratoires de dromadaires au cours de quatre études différentes.....	33
Tableau III : distribution annuelle des principales pathologies du dromadaire en Ethiopie.	54
Tableau IV : virus du genre Morbillivirus, Famille des <i>Paramyxoviridae</i>	72
Tableau V : bilan de l'inoculation des tissus du dromadaire C0	129
Tableau VI : résultats d'analyses par PCR des tissus des petits ruminants inoculés avec les échantillons.	130
Tableau VII : résultats d'analyses par PCR des tissus des petits ruminants inoculés la souche 'Ethiopia 94'.	133
Tableau VIII: caractères bactériologiques des streptocoques du groupe C de Lancefield.....	138

Figures

Figure I : phylogénie de l'ordre <i>Artiodactyla</i>	17
Figure II : schéma de la progression du complexe des maladies respiratoires chez les bovins	51
Figure III : hypothèses relatives à la progression du "complexe respiratoire" des dromadaires	55
Figure IV : processus expérimental par inoculations successives.....	127
Figure V : légende des figures VI, VII, VIII et IX ; et X, XI, XII et XIII.....	130
Figure VI : suivi clinique de l'ovin n°33869 (inoculum TL24-25).....	131
Figure VII : suivi clinique de l'ovin n°33870 (inoculum TL24-25).....	131
Figure VIII : suivi clinique du caprin n°33877 (inoculum TL24-25)	132
Figure IX : suivi clinique du caprin n°33879 (inoculum TL24-25).....	132
Figure X : suivi clinique de l'ovin n°33863 (inoculum 'Ethiopia 94').....	134
Figure XI : suivi clinique de l'ovin n°33874 (inoculum 'Ethiopia 94').....	134
Figure XII : suivi clinique du caprin n°33862 (inoculum 'Ethiopia 94').....	135
Figure XIII : suivi clinique du caprin n°33866 (inoculum 'Ethiopia 94').....	135

Cartes

Carte I : aire de distribution globale des dromadaires en Afrique (d'après Fassi-Fehri, 1987).....	19
Carte II : découpage par régions et zones de l'Ethiopie et localisation des lieux visités	58
Carte III : progression de la maladie en 1995-1996.....	67
Carte IV : répartition géographique de la PPR et positionnement des groupes génétiques du virus PPR.....	73

Liste des annexes

Annexe I: Situation géographique de l'Ethiopie au sein de la Corne de l'Afrique et de l'Afrique de l'Est	176
Annexe II : zones d'élevage du dromadaire en Ethiopie (d'après M. CORA, ILRI, 1989).....	177
Annexe III : liste des communications (congrès, symposiums) des résultats préliminaires	178
Annexe IV : Article accepté pour publication dans JCPR.....	179
Annexe V : Arbre phylogénétique des souches de PPRV (Np) et de la classification en quatre groupes	182
Annexe VI : classification des sous-espèces de <i>Streptococcus equi</i>	183
Annexe VII : photographies (Régions Afar et Somali, 1995-1996, F. Roger)	184



Introduction générale

En 1995, en Ethiopie, une maladie à caractère épidémique est apparue dans la population de dromadaires. Elle était considérée comme nouvelle pour les éleveurs et les services vétérinaires d'Ethiopie et son diagnostic n'a pu être établi de manière formelle. Amplement médiatisée, elle a été effectivement considérée comme importante par les responsables politiques et techniques du secteur agricole en raison du rôle socio-économique que joue l'élevage des dromadaires dans cette région de l'Afrique.

Cette maladie était caractérisée par une contagiosité très élevée et un syndrome essentiellement respiratoire. Elle s'est traduite par des taux de morbidité et de mortalité importants. Ne pouvant rattacher ces observations, essentiellement celles de nature épidémiologique, à une maladie connue du dromadaire, l'étude de cette nouvelle pathologie requiert en premier lieu un bilan exhaustif des maladies contagieuses du dromadaire à pouvoir de diffusion important et à expression clinique respiratoire.

Le travail présenté se propose d'explorer certaines hypothèses relatives à l'étiologie de cette maladie ainsi que les conséquences qu'elle pourrait avoir sur les plans épidémiologique et économique.

L'élevage contribue pour une part importante aux économies des pays de l'Afrique subsaharienne. Il fournit les produits alimentaires nécessaires à l'homme. C'est une source d'emploi et un moyen de lutte contre la pauvreté. L'élevage participe au développement durable de l'agriculture et favorise la diversification de ses activités. Son rôle bancaire reste indispensable (Tacher et Letenneur, 1999).

Le dromadaire, animal particulièrement adapté aux régions semi-arides et arides, fournit aux populations de ces régions à la fois aliments (lait, viande) et travail (traction, travail de la terre, etc.). Il peut en outre jouer un rôle important dans la limitation de la désertification par la valorisation qu'il apporte à ces milieux arides et la faible dégradation de l'environnement qu'il induit de par son comportement alimentaire. La population cameline en Ethiopie était estimée en 1999 à 1.050.000 têtes (FAO, 2000). La Somalie, pays limitrophe de l'Ethiopie, et partageant populations humaines et animales avec l'Ogaden éthiopien, en possédait plus de 6 millions. Dans le reste de la Corne de l'Afrique, les effectifs (FAO, 2000) étaient, en 1999, de 3.150.000 au Soudan, de 75.000 en Erythrée, de 66.000 à Djibouti et de 830.000 au Kenya.

Si la pathologie parasitaire a fait l'objet de nombreux travaux, synthèses et publications, la pathologie infectieuse n'apparaît pas, en comparaison, avoir une place prépondérante et jouer un rôle majeur. Serait-ce du à une faible sensibilité générale du dromadaire aux divers agents microbiens et/ou à un manque d'études spécifiques ? Il est à noter, en particulier, que les recherches se sont faites le plus souvent par référence aux maladies connues chez les bovins. L'existence de pathologies et d'agents spécifiques, ou de variants de micro-organismes pathogènes connus, n'a pas fait l'objet d'investigations précises.

Cette maladie étant à priori nouvelle, émergente, il semble nécessaire de bien préciser ce que l'on entend par "maladie émergente".

L'émergence, ou la ré-émergence, de maladies humaines ou animales sont des concepts pris en compte depuis quelques années et basés sur l'observation de pathologies dont la symptomatologie, l'étiologie, le tropisme d'espèce n'avaient pas été décrits jusqu'à présent.

Sont ainsi classées comme émergentes :

- les maladies effectivement totalement inconnues ;
- mais, également, les maladies anciennes ayant disparu et se manifestant de nouveau ;
- les pathologies causées par des souches et variants de pathogènes nouveaux ;
- et celles dont la répartition géographique s'étend.

Les modifications écologiques, économiques et biotechnologiques, incluant l'utilisation de produits thérapeutiques (médicaments, vaccins), et avant tout liées à l'activité humaine, sont considérées comme étant le principal facteur à l'origine de ces émergences observées depuis quelques décennies. En outre, ces maladies remettent généralement en question la notion de barrière d'espèce et sont, pour certaines, des zoonoses. Ces maladies émergentes peuvent être à l'origine de pertes économiques importantes dans le domaine de l'élevage ou de la faune sauvage (nouvelles maladies virales du porc, extension de l'aire de répartition de la peste porcine africaine, nouveaux morbillivirus chez les mammifères marins, maladie de Carré (morbillivirus) affectant les lions, etc.). Elles peuvent avoir des conséquences sur la santé publique (Sida, ESB, *Paramyxoviridae* Hendra et Nipah virus transmis à l'homme par les chevaux et porcs, etc.).

*

**

La gravité de la maladie observée en Ethiopie et dans la Corne de l'Afrique a tout de suite provoqué un intérêt majeur de la part des autorités sanitaires des pays concernés ainsi que de la part de la FAO et de l'OUA/IBAR. Le CIRAD-EMVT est intervenu immédiatement et pu suivre le développement de l'épidémie et discuter les premières hypothèses étiologiques avec les responsables internationaux et les chercheurs en santé animale. Cette coopération a été exemplaire et a permis de commencer à avancer des hypothèses qui ont été acceptées en publications dans les revues internationales.

*

**

Cette thèse sera présentée en quatre parties complétées par des annexes :

Une première partie présentera le dromadaire et sa place au sein de l'économie pastorale africaine. Elle fera un bilan bibliographique synthétique des principales maladies connues afin de pouvoir disposer d'éléments nécessaires à l'étude du syndrome observé et aux discussions des hypothèses qui seront formulées dans la seconde partie.

La deuxième partie décrira l'épidémie observée dans la Corne de l'Afrique et les premiers résultats obtenus. La participation de deux agents pathogènes a été suspectée: le virus de la peste des petits ruminants et le streptocoque de la gourme du cheval. Ces pathologies sont inhabituelles chez le dromadaire et cela nécessitait donc une étude approfondie de chacune.

La troisième partie détaillera les travaux effectués et les résultats obtenus avec chacun des pathogènes isolés.

Enfin, une quatrième partie discutera les résultats obtenus et présentera les hypothèses soulevées par ces observations avant d'envisager les perspectives possibles pour la poursuite des investigations.

Le dromadaire et sa pathologie

Le dromadaire et le chameau sont sans doute les espèces domestiques les moins étudiées (Fassi-Fehri, 1987, Yagil, 1994). Avec l'arrivée des véhicules motorisés, l'utilisation des camélidés devenait obsolète, excepté pour certaines zones isolées et leur nombre a diminué considérablement. Une inversion de cette tendance s'observe depuis quelques années, avec la confirmation que ces animaux évoluent toujours dans leur environnement mieux que n'importe quelle autre espèce (Fowler, 1996). Les informations générales relatives au dromadaire et à son élevage sont issues des ouvrages et synthèses de Wilson (1984), de Richard *et al.* (1985), de Saint Martin (1990) et de Faye *et al.* (1997, 1999).

1. Le dromadaire et son élevage

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) appartient¹, avec le chameau de Bactriane (*Camelus bactrianus*, chameau *sensu stricto*), à la famille des *Camelidae* (camélidés). Cette famille est placée dans l'Ordre des *Artiodactyla*, sous-ordre des *Tylopoda*. En effet, animal ruminant, le dromadaire n'est cependant pas classé dans le sous-ordre des *Ruminantia* qui comprend notamment les bovins, ovins et caprins (famille des *Bovidae*). Il se distingue des ruminants « vrais » par l'existence de compartiments pré-stomachaux différents. La phylogénie des trois sous-ordres est résumée par la figure I qui fait apparaître un ancêtre commun aux deux sous-ordres *Tylopoda* et *Ruminantia* et une plus grande distance génétique avec le troisième sous-ordre des Artiodactyles, les *Suina* (les *Camelidae* étaient auparavant inclus dans le sous-ordre des *Ruminantia*).

Nota bene : les termes de "ruminants *sensu stricto*" pour les *Bovidae* (bovins, ovins et caprins) et "ruminants *sensu lato*" pour les *Bovidae* et *Camelidae* seront utilisés.

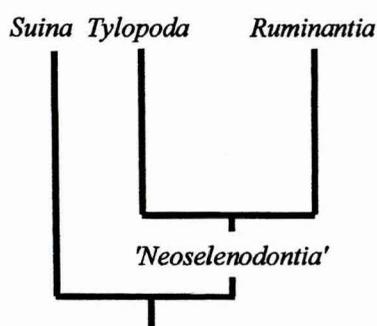


Figure I : phylogénie de l'ordre *Artiodactyla*²

¹ Sauf précision, la taxonomie présentée tout au long du document fait référence aux données du National Center for Biotechnology Information (NCBI). URL : www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/taxonomyhome.html/
National Library of Medicine, Building 38A, Room 8N805, Bethesda, MD 20894

² Institute of Cell, Animal and Population Biology. University of Edinburgh, UK.
URL : helios.bto.ed.ac.uk/icapb/collection/museum/SF-MUS97/text/artiodactyla.html

La famille des *Camelidae* comprend deux autres genres, le genre *Lama* et le genre *Vicugna*. Le genre *Camelus* occupe les régions semi-arides et arides de l'Ancien Monde alors que les genres *Lama* et *Vicugna* sont présents dans les zones arides d'altitude d'Amérique andine, avec trois espèces distinctes pour le genre *Lama* - le lama au sens strict (*Lama lama*), le guanaco (*Lama guanacoe*) et l'alpaga (*Lama pacos*) - et une espèce pour le genre *Vicugna*, la vigogne (*Vicugna vicugna*), seul camélidé non domestiqué.

Le dromadaire est un des derniers animaux à avoir été domestiqué, il y a 4 000 ans, alors que les ovins l'ont été il y a 12 000 ans, les caprins, 10 000 ans, et les bovins, 7 000 ans.

Les aires d'extension du dromadaire et du chameau sont les zones arides et semi-arides des continents africain et asiatique, caractérisées par l'alternance d'une saison des pluies courte et d'une saison sèche, chaude et longue de plus de 8 mois. Leurs limites d'extension se situent approximativement à l'isohyète 400 à 450 mm de pluie correspondant aux milieux semi-aride et aride³ caractérisés par la faiblesse et la grande dispersion des ressources alimentaires et une forte variabilité saisonnière, voire inter-annuelle.

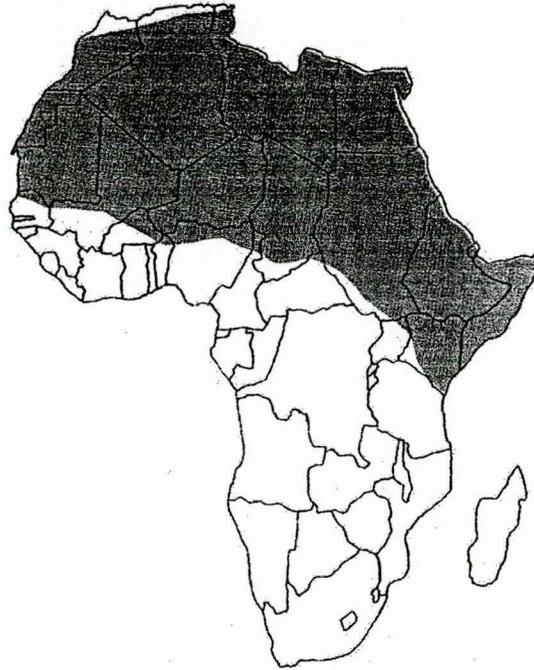
La population globale cameline est approximativement de 20 millions et en constante augmentation depuis quelques années. Près de 80 % de cette population se situe en Afrique du Nord et sub-saharienne où l'essentiel des effectifs est concentré dans les pays de la Corne (Somalie, Soudan, Ethiopie, Kenya et Djibouti) qui abritent environ 60 % du cheptel camelin mondial (Carte I, la carte détaillant les zones d'élevage du dromadaire en Ethiopie est en annexe II). La sécheresse et la désertification ont contribué à amplifier les déplacements du cheptel camelin du Sahel vers la zone sahélo-soudanaise.

Une des caractéristiques physiologiques remarquable du dromadaire est son extrême adaptation au climat aride chaud. La sécheresse observée dans les pays du Sahel durant les années 1970 et au début des années 1980 a été à l'origine d'une mortalité considérable dans les cheptels bovins et ovins. Elle semble avoir moins affecté les populations de dromadaires. A titre d'exemple, la mortalité attribuée à la sécheresse de 1981-1983 en Mauritanie était estimée à 5% pour le dromadaire, 15 à 30% pour les petits ruminants, et 20 à 30% pour les bovins (Fassi-Fehri, 1987). Yagil (1994) souligne également que les seules populations humaines pratiquement non affectées par la grande sécheresse africaine de 1983-1984 puis par celle de Somalie en 1992-1993 étaient les propriétaires de dromadaires.

³ La zone aride se caractérise par le pastoralisme et l'absence d'agriculture, sauf là où il y a irrigation. La végétation indigène est généralement rare, composée de graminées annuelles et pérennes et d'autres plantes herbacées ainsi que de buissons et de petits arbres. Les précipitations sont extrêmement variables, avec des quantités annuelles allant de 100 à 300 millimètres.

La zone semi-aride peut supporter une agriculture pluviale avec des niveaux de production plus ou moins réguliers. On y pratique parfois aussi l'élevage sédentaire. La végétation indigène est représentée par diverses espèces, telles que les graminées et plantes graminiformes, herbes non graminéennes et petits buissons, arbrisseaux et arbres. La précipitation annuelle varie de 300-600 à 700-800 millimètres, avec des pluies d'été, et de 200-250 à 450-500 millimètres avec des pluies d'hiver. Le climat des zones arides et semi-arides est caractérisé par des précipitations se produisant en été. Plus on est loin de l'équateur, plus la saison des pluies est courte. Les hivers sont longs et secs.

Les déserts correspondent aux zones hyper-arides.



Carte I : aire de distribution globale des dromadaires en Afrique (d'après Fassi-Fehri, 1987).

Le dromadaire est le seul mammifère domestique à pouvoir perdre un tiers de son poids en eau sans conséquences vitales, et à récupérer son poids initial aussi rapidement après abreuvement. Alors que la majorité des animaux meurt si la perte de poids vif dépasse 15 %, il résiste sans difficulté notable à des déperditions supérieures à 25-30 %. Par ailleurs, parmi les ruminants *sensu lato*, il dispose d'une meilleure capacité à digérer les fourrages pauvres grâce à une plus longue rétention des particules solides dans les pré-estomacs.

L'élevage du dromadaire a longtemps été considéré comme un élevage de subsistance dont les productions ne peuvent s'intégrer dans une économie de marché mais son intérêt socio-économique est indéniable. Une étude menée en Ethiopie a montré que la contribution par groupe d'animaux aux revenus des éleveurs nomades était de 58% pour les dromadaires, 25% pour les bovins et 17% pour les petits ruminants (Baars, 2000).

Le dromadaire est utilisé comme animal de bât, de traction, de selle, et bien entendu comme source de viande et de lait. Le lait de chamelle peut représenter la base exclusive de l'alimentation pour certaines populations nomades. La consommation de viande est assez faible dans les zones pastorales. Toutefois, il n'existe pas en Afrique de tabou religieux lié à la consommation de viande cameline. Elle est en général meilleur marché que celle des bovins et ovins et certains circuits d'exportation sont très actifs. La production de viande cameline devrait s'assurer d'une progression annuelle de l'ordre de 1,3 % dans les 25 prochaines années.

Le dromadaire fait avant tout l'objet d'un élevage pastoral extensif. L'émergence de systèmes intensifs est cependant observée depuis plusieurs années et est liée notamment à la sédentarisation de populations (en particulier dans les pays producteurs de pétrole) pour lesquelles les habitudes alimentaires n'ont pas changé.

Le dromadaire permet d'occuper et de valoriser des milieux peu favorables à l'agriculture marginalisée pour des raisons climatiques et présente dans ce contexte un intérêt écologique. En effet, il exploite de grandes surfaces pour s'alimenter et ne provoque jamais de surpâturage. En outre, le phénomène de transhumance assure une utilisation saisonnière des différents types de parcours. Le dromadaire se trouve rarement en compétition alimentaire car il consomme des plantes non utilisées par les autres espèces (Henchi, 1994). Lors de son déplacement, il ne provoque pas d'érosion du sol comme le font les bovins, ovins et caprins car ses coussinets plantaires ne détruisent pas la végétation. Les nomades considèrent, à juste titre, que "le dromadaire améliore son environnement" (Yagil, 1994).

L'élevage camelin est presque toujours associé aux ovins et caprins, parfois aux bovins, rarement aux élevages asin et équin. La taille des troupeaux varie considérablement en fonction des systèmes d'élevage et des régions : de quelques unités à plusieurs dizaines voire centaine. En moyenne, les troupeaux camelins, notamment dans la Corne de l'Afrique, sont constitués d'une quarantaine de têtes.

La pathologie est une contrainte qui n'est pas actuellement suffisamment documentée. La pauvreté des connaissances dans ce domaine pourrait être due à l'importante dispersion des troupeaux et à la mobilité dans de très vastes espaces qui rendent l'accès et les études d'autant plus difficiles que l'encadrement technique est généralement faible.

Les connaissances sont issues des approches suivantes :

- observations ponctuelles, et souvent anciennes (effectifs militaires), généralement faites sur un nombre restreint d'animaux ;
- enquêtes transversales au niveau d'une zone délimitée ou d'abattoirs (plutôt que des études longitudinales impliquant un suivi coûteux des animaux) par, en général, des références aux maladies des ruminants *sensu stricto*, et en particulier des bovins, sans qu'il y ait recherche des spécificités des dromadaires ;
- infections expérimentales mais trop rares.

Les helminthoses gastro-intestinales, la trypanosomose, la gale et la variole cameline sont les pathologies et maladies *a priori* les plus répandues et pour lesquelles les pertes économiques sont les plus importantes. Globalement, les maladies infectieuses n'apparaissent pas comme prépondérantes. Cela peut être dû à une résistance importante du dromadaire aux agents pathogènes infectieux et/ou à un manque d'études spécifiques. En effet, l'étiologie et l'épidémiologie des syndromes observés restent pour la plupart à expliquer. On ne peut émettre en général que des hypothèses basées sur l'intervention d'agents microbiologiques ou parasitaires connus, associés à des facteurs de risque environnementaux et alimentaires. De très nombreuses études des agents pathogènes sont basées uniquement sur des enquêtes sérologiques ponctuelles faisant référence aux maladies du bétail (bovins, ovins et caprins). Elles ont l'avantage d'être pratiques et peu coûteuses mais les enseignements tirés sont souvent limités et difficilement exploitables.

*

**

Une part importante des effectifs animaux globaux se trouve en Afrique sub-saharienne mais celle-ci ne participe pas ou peu aux échanges mondiaux dans ce domaine (moins de 2%). Les caractéristiques économiques de l'élevage en Afrique sont la forte consommation intérieure, une faible productivité du cheptel et des conditions sanitaires entraînant des barrières aux exportations. En outre, ces productions restent insuffisantes pour fournir les apports en protéines d'origine animale nécessaires aux populations de l'Afrique sub-saharienne. L'importante augmentation de la démographie a pour conséquence un accroissement considérable de la demande, mal satisfaite, en produits d'origine animale (Tacher et Letenneur, 1999).

Dans ce cadre, la production cameline avait et a toujours sa place au sein du cadre traditionnel de la vie pastorale nomade, mais également dans un contexte d'intensification de ses productions, en particulier autour des zones urbaines. Cette intensification se développe depuis quelques années avec succès et peut, en particulier, contribuer à alimenter ces zones urbaines où le nombre d'habitants croît rapidement. Mais, il est à relever qu'elle pourrait conduire, de part les règles de sélection zootechnique et les conditions d'élevage nouvelles qu'elle exige, à une plus grande sensibilité du dromadaire aux agents pathogènes et à l'émergence d'entités pathologiques nouvelles.

Il paraît donc nécessaire de développer des études spécifiques des maladies infectieuses du dromadaire par des approches cliniques, microbiologiques et épidémiologiques.

2. Pathologie infectieuse du dromadaire

Le syndrome observé en Ethiopie était caractérisé, sur le plan épidémiologique, par une diffusion très importante - orientant les premières hypothèses avant tout vers une pathologie infectieuse - et sur le plan clinique, par, essentiellement, des symptômes respiratoires.

Pour ces raisons, les maladies infectieuses⁴ seront décrites en deux sous-chapitres :

- En premier lieu, seront abordées les maladies hautement contagieuses et à grand pouvoir de diffusion, en l'occurrence les "*pestes* et les *fièvres animales*", maladies virales à larges spectres d'hôtes et à expressions cliniques multiples, présentées par rapport à la liste A de l'Office International des Epizooties (OIE).

Les maladies de la liste A sont "des maladies transmissibles qui ont un grand pouvoir de diffusion et une gravité particulière, susceptible de s'étendre au-delà des frontières nationales, dont les conséquences socio-économiques ou sanitaires sont graves et dont l'incidence sur le commerce international des animaux et des produits d'origine animale est très importante".

- Puis, seront abordées les maladies et infections respiratoires. La pathologie parasitaire peut jouer un rôle prédisposant et favorisant⁵ lors du développement de pathologies infectieuses respiratoires et elle sera abordée dans ce sens.

Les maladies de la liste B de l'OIE ne seront pas détaillées excepté celles à expression clinique respiratoire. Les maladies de la liste B sont "des maladies transmissibles qui sont considérées comme importantes du point de vue socio-économique et/ou sanitaire au niveau national et dont les effets sur le commerce international des animaux et des produits d'origine animale ne sont pas négligeables". Il est à noter que les Camélidés ne font pas l'objet d'un chapitre spécifique au niveau de la liste B où les maladies sont classées par espèces.

Cette seconde partie fera tout d'abord le bilan des agents microbiens et parasitaires trouvés ou détectés au niveau du tractus respiratoire et ensuite proposera une synthèse relative aux maladies, syndrome et infections respiratoires.

⁴ Les termes suivants seront utilisés afin de qualifier la relation entre les agents pathogènes, virus et bactéries et parasites, et les hôtes : i) réceptivité : aptitude à héberger un agent pathogène, à en permettre le développement ou la multiplication, sans exprimer de symptômes. ii) sensibilité : aptitude à exprimer cliniquement l'action d'un agent pathogène. Un organisme sensible est nécessairement réceptif

⁵ Facteur prédisposant : facteur conditionnant les caractéristiques d'un individu, d'une façon telle que la probabilité de présenter les signes d'une maladie donnée est augmentée.

2.1. Maladies de la liste A de l'O.I.E.

Les maladies présentées ci-après sont toutes présentes en Afrique à différents niveaux épidémiologiques⁶.

2.1.1. Peste bovine.

La peste bovine est une maladie grave des bovins. Les caractéristiques cliniques et lésionnelles sont de type hémorragique, septicémique, diarrhéiques et érosif au niveau des muqueuses du tractus digestif. Plus précisément, la forme classique, aiguë, se divise en trois stades après la période d'incubation :

- la période fébrile (40-42°C) avec dépression, anorexie,
- la congestion des muqueuses (orale, nasale, oculaire et génitale), un larmolement mucopurulent intense et une salivation abondante, une nécrose et érosion de la muqueuse buccale,
- l'apparition de signes gastro-intestinaux lorsque la fièvre cède : diarrhée hémorragique profuse contenant des débris muqueux et nécrotiques. Ténésme sévère. Déshydratation, douleur abdominale, respiration abdominale, asthénie musculaire, décubitus et mort en 8 à 12 jours. Dans de rares cas, les signes cliniques régressent vers le 10^{ème} jour et la convalescence intervient entre les jours 20 et 25.

Des formes suraiguë, subaiguë et atypique sont décrites. Dans ce dernier cas, l'hyperthermie est possible avec parfois une légère diarrhée. La nature lymphotrope du virus de la peste bovine favorise la recrudescence des infections latentes et/ou accroît la sensibilité aux autres agents infectieux.

L'agent étiologique de cette maladie est un morbillivirus (rinderpest virus, RPV) de la famille des *Paramyxoviridae* (voir les caractéristiques virologiques des Morbillivirus dans le chapitre 3). Lors d'une épizootie de peste bovine, la morbidité est très élevée, la mortalité très importante pour les souches virulentes et variable pour les souches peu virulentes⁷.

La peste bovine est considérée comme une maladie d'origine asiatique. La première grande épizootie africaine date de 1889-1897 mais la peste bovine semble avoir déjà été introduite auparavant sur le continent africain (Rossiter, 1994). Le virus ne s'est jamais établi sur le continent américain, ni en Australie ou en Nouvelle-Zélande. Sa distribution actuelle est limitée à l'Afrique, au Moyen-Orient et au sous-continent indien. En Afrique, la maladie a été éradiquée de plusieurs pays et sous-régions mais l'infection reste sous surveillance. En principe, le virus est absent des parties septentrionales et australes du continent. Les derniers foyers africains sont rapportés au Sud Soudan. La faune sauvage africaine jouerait par ailleurs un rôle épidémiologique notable dans le maintien de certaines souches de RPV.

La peste bovine peut affecter les petits ruminants ainsi que des ruminants sauvages et les porcins. La faune sauvage montre des degrés divers de sensibilité et joue un rôle important

⁶ Données générales : OIE. 2000. URL: www.oie.int ; Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises. 1989. les maladies animales exotiques réputées contagieuses. Chaires des maladies contagieuses. Polycopié. 137 pp.

⁷ Une partie des informations générales sur la peste bovine est tirée de : Provost A. 1986. La peste bovine. Cours de Virologie Systématique. Institut Pasteur, Paris.

dans le cycle épidémiologique de cette maladie. Les hôtes identifiés appartiennent à l'Ordre des *Artiodactyla*, sous-ordres des *Ruminantia* et *Suina* : taurins, zébus, buffles domestiques et de nombreuses espèces sauvages : buffles d'Afrique, élands du Cap, koudous, gnous, diverses antilopes, girafes, potamochères, phacochères. Les ovins et les caprins sont sensibles ainsi que les porcs. Les porcs asiatiques semblent plus sensibles que les porcs africains et européens .

Il n'y a pas de portage, les animaux guéris n'excrètent pas le RPV et ne sont pas impliqués dans le maintien et la transmission de la maladie, malgré quelques cas chroniques rapportés au début du siècle (Rossiter, 1994).

Les petits ruminants jouent un rôle épidémiologique, en particulier en Inde où des souches de RPV ont infectés des ovins et caprins qui ont ensuite infectés des bovins (Rossiter, 1994).

La peste bovine est caractérisée, lors des formes aiguës, par une atteinte des muqueuses se traduisant par du jetage, du larmolement, des érosions visible au niveau de la cavité buccale, et par une diarrhée hémorragique importante. *L'atteinte pulmonaire n'est généralement pas observée.* Mais, des formes subaiguës et atypiques sont décrites, surtout dans les zones d'enzootie, où les complications bactériennes peuvent intervenir. Chez les petits ruminants, la peste bovine est décrite essentiellement en Inde et se traduit fréquemment, en plus des signes buccaux et diarrhéiques, par des broncho-pneumonies.

L'OIE indique que « La peste bovine est rare chez les camélidés ». Alors que la réceptivité du dromadaire au virus de la peste bovine a été montrée à plusieurs reprises par la mise en évidence d'anticorps anti-RPV (Provost *et al.*, 1968 ; Singh *et al.*, 1967 ; Richard, 1975), sa sensibilité ainsi que son rôle potentiel dans l'entretien et la transmission du virus n'est pas clairement établie et reste discutée.

La période 1900-1960, caractérisée par des descriptions cliniques en Afrique et en Asie, sur des dromadaires (*C. dromedarius*) et chameaux (*C. bactrianus*) et par des reproductions expérimentales en Asie, sera distinguée de la période 1960-2000 au cours de laquelle ont été utilisées des techniques de dépistage et de diagnostic appliquées à des enquêtes sérologiques et des reproductions expérimentales, principalement en Afrique.

2.1.1.1 De 1900 à 1960

En Afrique, Curasson (1947), a rapporté une grande épidémie de peste bovine au Niger en 1892, et a mentionné que les dromadaires développaient une diarrhée importante et une hématurie. Conti (1913) a observé des symptômes de peste bovine chez des dromadaires en Erythrée. Littlewood (1905) en Egypte, et Pecaud (1924) au Tchad considéraient que les dromadaires n'étaient pas sensibles aux infections naturelles.

En Asie, Lingard (1905) a inoculé cinq dromadaires indiens avec du sang de bovins malade de peste bovine. Ils ont développé les symptômes suivants : fièvre, vésicules et ulcères dans la bouche, lésions éruptives de la peau et, dans un cas, de la diarrhée. Un bovin a ensuite développé la peste bovine après avoir reçu du sang d'un de ces dromadaires. Cross (1919) a inoculé la peste bovine à trois dromadaires indiens, l'un d'entre eux est mort. Selon Haji (1923-33), les dromadaires étaient aussi touchés lors de foyers de peste bovine chez les bovins. Les animaux infectés développaient de la fièvre, une atonie du rumen, un écoulement oculaire, une dépression, une grave diarrhée quelquefois mêlée à du sang, ainsi que des lésions labiales (vésicules) et buccales (ulcères). La mortalité se situait entre 20 et 40%. Leese

(1927) n'a ni observé, ni entendu parlé de foyers de peste bovine chez les dromadaires. L'auteur n'exclut pas cependant le fait que des formes subaiguës puissent être possibles. Dhillon (1959) a observé en Inde, entre 1948 et 1958, dix-sept foyers de peste bovine parmi les dromadaires avec des taux de mortalité de l'ordre de 50%. Les symptômes des dromadaires étaient semblables à ceux des bovins et la transmission selon cet auteur se faisait dans les deux sens. Srinivasan (1940) a réussi à contrôler un foyer de peste bovine parmi des dromadaires après inoculation de virus du sang de chèvre provenant de chèvres infectées. Samartsev et Arbuzov (1940) considéraient que les dromadaires des régions asiatiques de Russie n'étaient pas sensibles aux infections naturelles.

Vedernikoff (1902) et Tschegis (1902), cité par Curasson (1947) ont observé des cas de peste bovine parmi les chameaux de Bactriane (*Camelus bactrianus*) de la région de Bakou en 1898. Curasson (1932) considère que le chameau "peut être infecté" par la peste bovine.

2.1.1.2 De 1960 à 2000

Jusqu'au milieu du 20^{ème} siècle, des épidémies avec des symptômes semblables à la peste bovine ont été diagnostiquées sur la base de symptômes cliniques. Les méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la peste bovine ont été développées à partir des années 1950.

i. *Observations cliniques et suivis sérologiques*

En Afrique, Scott et MacDonald (1962) ont confirmé un foyer de peste bovine parmi les animaux sauvages survenu dans le nord du Kenya en 1960. Les dromadaires de cette région n'ont pas développé de maladie et les recherches d'anticorps dans les sérums de 60 dromadaires se sont avérées négatives (30 sérums sur 60 provenait de la zone d'épizootie). En 1967, Maurice *et al.* ont trouvé des anticorps de peste bovine pour 7,7% des sérums de dromadaires examinés au Tchad (482 sérums provenant de diverses régions du Tchad). Singh et Ata (1967) ont aussi détecté des anticorps du virus de la peste bovine dans 10% des dromadaires examinés au Soudan et en Egypte. Bares (1968), Richard (1975) ont mis en évidence des anticorps dans les sérums de dromadaires au Tchad (positivité de 12,9%, 77 sérums de diverses régions du Tchad) et en Ethiopie (positivité de 15,25%, 538 sérums du Borana). En Egypte, Ismail *et al.* (1992) ont analysé 142 sérums de dromadaires par séroneutralisation et ont obtenu un taux de séropositivité de 11,9%.

En Asie, en Inde, Chauhan *et al.* (1986) ont examiné sérologiquement 283 sérums de dromadaires et n'ont détecté aucun anticorps.

ii. *Infections expérimentales*

En Afrique, et plus précisément en Egypte, Singh et Ata (1967) ont utilisé deux souches virulentes et une souche atténuée (vaccin) de peste bovine. Les dromadaires, inoculés par voie sous-cutanée, n'ont pas développé de signes cliniques, excepté une légère augmentation de la température après inoculation des souches virulentes. Les titres en anticorps étaient faibles pour les dromadaires inoculés par la souche atténuée, élevés suite à l'inoculation des souches virulentes. Cette expérimentation a par ailleurs montré que les dromadaires inoculés n'ont pu transmettre le virus à des bovins mis en contact. Provost *et al.*, (1968) ont infecté, au Tchad, dix dromadaires par aérosol. Un dromadaire a développé des signes d'une infection sub-clinique traduite par une leucopénie. Des anticorps RPV ont été détectés également dans le sérum de cet animal. Des zébus, mis en contact, n'ont pas développé la maladie et n'ont pas non plus développé d'anticorps peste bovine.

Taylor (1968) a mené au Kenya trois expérimentations différentes :

1. après l'inoculation intraveineuse d'un dromadaire avec la souche virulente Kabete O, seuls des anticorps ont été mis en évidence à partir du 14^{ème} jour ;
2. sur deux dromadaires inoculés par voie sous-cutanée avec une souche RGK/1, seul un animal a manifesté une hyperthermie (7^{ème} - 9^{ème} jour) et a développé des anticorps neutralisants (à partir du 10^{ème} jour). Le virus a été ré-isolé entre le 3^{ème} et le 9^{ème} jour après l'inoculation. Ces deux dromadaires ont été mis en contact avec des bovins et un autre dromadaire. Il n'y a pas eu de transmission ni du virus, ni de la maladie. En outre, ces animaux contacts n'ont pas développé d'anticorps ;
3. trois dromadaires ont été mis en contact avec des bovins inoculés avec le sang du dromadaire de l'expérience précédente qui avait extériorisé une hyperthermie. Une virémie a été mise en évidence chez deux animaux entre le 16^{ème} et le 18^{ème} jour. Des anticorps ont été détectés chez ces trois animaux trois semaines après la mise en contact.

Le tableau I résume certaines informations des expérimentations de Singh & Ata (1967), Provost *et al.* (1968) et Taylor (1968) décrites précédemment.

Auteurs	Pays	Souche RPV	Nombre d'animaux (voie d'inoculation)	Virémie (culture cellulaire)	Anticorps séro-neutralisants	Symptômes	Transmission à des animaux sensibles
Singh & Ata (1967)	Egypte	Souche égyptienne	1 (sous-cutanée)	-	Oui (titre élevé)	Hyperthermie	-
		Souche libyenne	1 (sous-cutanée)	-	Oui (titre élevé)	Hyperthermie	Non (bovins)
		Souche Kabete O atténuée	4 (sous-cutanée)	-	2+/4 (titre faible)	Non	-
Provost <i>et al.</i> (1968)	Tchad	DK	10 (aérosol)	-	1/9	1 infection sub-clinique: leucopénie	Non (bovins)
Taylor (1968)	Kenya	Kabete O virulente	1 (intra-veineuse)	Non	1+/1	Non	Inoculation du sang de ce dromadaire à 6 bovins : peste bovine clinique
		RGK/I	2 (sous-cutanée)	1 + /2	2+/2	1: hyperthermie (*le sang de ce dromadaire a été inoculé aux 2 bovins qui ont servi à la dernière expérimentation)	Non (bovins) Pas de transmission également à 1 dromadaire
		RGK/1	3 (mis en contact avec 2 bovins infectés*)	2 +/3	3+/3	Non	-

Tableau I : essais de reproduction expérimentale de la peste bovine chez des dromadaires africains. Singh & Ata (1967), Provost *et al.* (1968), Taylor (1968)

En Asie, Chauhan *et al.* (1985) ont inoculé 10 ml d'une suspension de rate - recueillie à partir d'un bufflon atteint de peste bovine - à deux dromadaires âgés de 8 à 12 mois. Le premier dromadaire a été inoculé par voie sous cutanée et le second par voie intraveineuse. Les symptômes relevés ont été une hyperthermie, une légère hyperhémie des muqueuses et une faible diarrhée. Un examen post-mortem d'un des dromadaires n'a révélé aucune lésion. Les auteurs ont montré que le sang collecté au moment du pic de température, à partir des dromadaires inoculés, a causé le développement de symptômes et de lésions typiques de peste bovine chez 2 bufflons.

*

**

Les infections expérimentales effectuées en Inde au début du siècle ont permis une reproduction de cas cliniques. Puis, celles de 1985 (Chauhan *et al.*, 1985) ont abouti à l'expression d'une forme subaiguë, alors qu'en Afrique, les reproductions expérimentales n'ont abouti qu'à des infections sub-cliniques (hormis des hyperthermies dans certains cas) et à l'absence de contagio vis-à-vis de bovins.

Il est nécessaire de préciser que les souches de RPV indiennes (lignée III) sont génétiquement différentes des souches africaines (lignées I et II) et que les différences observées entre la sensibilité des dromadaires indiens et africains pourraient être due aux différences entre les souches virales.

Les souches égyptienne et libyenne utilisées par Singh et Ata (1967) et la souche utilisée par Provost *et al.* (1968) appartiennent à la lignée I (virus africains). La souche RGK/1 appartient à la lignée II (virus africains). Les souches KABETE O (la souche virulente date de 1911) n'appartiennent à aucune des trois lignées reconnues.

*

**

A partir de ces différentes observations et expérimentations, il est concevable de supposer qu'en Afrique le dromadaire peut vraisemblablement développer des formes sub-cliniques et inapparentes lors de contacts avec des bovins infectés. Il constituerait peut-être un cul-de-sac épidémiologique⁸, mais l'éventualité d'un portage asymptomatique, et donc d'un rôle de relais infectieux, ne peut être écarté et aurait une grande importance épidémiologique compte-tenu notamment de la mobilité de ces animaux. La sensibilité du dromadaire, ou plus rigoureusement celles de ses différentes races ou populations serait à évaluer par rapport aux différentes souches du RPV.

⁸ Espèce hébergeant un agent pathogène et ne permettant pas sa transmission dans les conditions naturelles. (Synonymes: impasse épidémiologique ; dead-end host). Le statut de cul-de-sac épidémiologique peut être perdu si les conditions naturelles et habituelles sont modifiées.

2.1.2. Peste des petits ruminants

La peste des petits ruminants est une maladie des caprins et ovins, causée par un virus génétiquement et antigéniquement très proche de celui de la peste bovine.

Par rapport à la peste bovine, la PPR est davantage une maladie à expression clinique respiratoire que digestive. L'atteinte des muqueuses buccales est également observée. Les symptômes entéritiques (diarrhée) se déclarent en général en fin de maladie.

Une enquête sérologique menée en Egypte (Ismail *et al.*, 1992) sur des dromadaires conduits à l'abattoir a montré une séroprévalence de 4,2% pour des anticorps PPRV (technique de séroneutralisation). Aucune information relative à la susceptibilité du dromadaire à la PPR n'a été trouvée.

2.1.3. Peste équine

C'est une arbovirose (maladie transmise par des vecteurs arthropodes), due à un Orbivirus (*Reoviridae*) affectant les équidés domestiques (chevaux, ânes), sauvages (zèbres) et occasionnellement d'autres espèces (*Canidae*). Elle est transmise par des insectes du genre *Culicoides*. La symptomatologie associe un état fébrile et typhique marqué, un jetage, des œdèmes faciaux, pulmonaires et cutanés qui se répartissent en forme pulmonaire (suraiguë et aiguë), œdémateuse ou cardiaque et atypique (incluant des signes nerveux). La mortalité peut être très élevée chez les chevaux. Le réservoir sauvage (éventuel) reste inconnu.

La peste équine se traduit cliniquement par des signes respiratoires au cours de la forme pulmonaire. En Afrique, la peste équine est enzootique et se manifeste rarement sous forme épizootique.

Des enquêtes sérologiques ont montré des taux de séropositivité variables chez les dromadaires en Egypte, Soudan et Nigeria (Wernery and Kaaden, 1995) mais il n'y a jamais eu de mise en évidence de formes cliniques.

2.1.4. Influenza aviaire hautement pathogène

Le virus de l'Influenza aviaire hautement pathogène (peste aviaire "vraie") fait partie de la famille des *Orthomyxoviridae*, du genre *Influenzavirus A*, B. À ce jour, toutes les souches hautement pathogènes étaient des virus A appartenant aux sous-types H5 et H7. Ces virus par ailleurs affectent différentes espèces animales et l'homme (grippe).

Les données relatives à la réceptivité et sensibilité du dromadaire à ces virus seront abordées dans la partie correspondante à la pathologie infectieuse respiratoire (cf. *infra*).

2.1.5. Fièvre de la Vallée du Rift

Arbovirose (maladie transmise par des vecteurs arthropodes), zoonose majeure, la fièvre de la vallée du Rift se manifeste cliniquement par des avortements et une mortalité chez les bovins, ovins et caprins et par un syndrome grippal quelquefois compliqué de fièvre hémorragique chez l'homme.

La fièvre de la vallée du Rift est une maladie avant tout d'expression génitale (avortements) , sous une forme épizootique. L'observation de symptômes respiratoires n'a jamais été rapportée.

Le dromadaire semble pouvoir héberger le virus de la FVR sans développer de symptômes (Wernery and Kaaden, 1995).

2.1.6. Fièvre catarrhale du mouton

La fièvre catarrhale du mouton (FCM, Bluetongue) est une arbovirose (*Reoviridae*, Orbivirus) affectant avant tout les ovins. Elle est caractérisée par une atteinte catarrhale des muqueuses buccales et une atteinte podale, et est à l'origine de formes sub-cliniques et inapparentes chez les bovins et caprins.

L'expression clinique se traduit notamment par une atteinte des muqueuses de la cavité buccale, pouvant être confondue sur ce plan avec la PPR. C'est une maladie épizootique lorsqu'elle atteint des populations pleinement sensibles, puis enzootique.

Plusieurs enquêtes ont montré l'existence de dromadaires séropositifs (Abu Elzein, 1985) et Abu Elzein (1984) a montré la présence d'antigènes du virus de la FCM. Cela pourrait signifier que le dromadaire joue un rôle épidémiologique. Stanley (1990) rapporte au Yémen une prévalence de 13%. Aucune forme clinique n'a été mise en évidence chez le dromadaire mais elle a été suspectée au Tchad par Provost (communication personnelle) en 1970-1975.

2.1.7. Fièvre aphteuse

Cette maladie virale (*Picornaviridae*, Aphtovirus, FMD virus) très contagieuse affecte les ruminants et suidés, domestiques et sauvages. Elle est caractérisée par le développement de vésicules (aphtes) sur la muqueuse buccale, nasale, sur la mamelle et dans les espaces interdigités.

La fièvre aphteuse est une maladie essentiellement d'allure épizootique dont l'expression clinique peut évoquer la peste bovine (lésions muqueuses buccales).

L'OIE rapporte que les camélidés sont « peu réceptifs » à la fièvre aphteuse. Les résultats d'enquêtes et études sont divergents: les dromadaires joueraient un rôle dans le maintien des virus aphteux mais leur sensibilité, si elle a été confirmée par certains auteurs (Moussa *et al.*, 1987), reste cependant à être précisée (Wernery and Kaaden, 1995) .

2.1.8. Péripleurésie contagieuse bovine

La PPCB est une maladie pulmonaire dont l'agent étiologique est *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (*Mycoplasmataceae*). Elle affecte les bovins (taurins et zébus) et les buffles domestiques. Elle est en pleine expansion depuis plusieurs années en Afrique subsaharienne et se traduit par des symptômes et lésions pulmonaires intenses.

L'allure épidémiologique de cette maladie respiratoire est d'abord épizootique, lorsqu'elle atteint une population pleinement sensible, puis enzootique.

Une enquête sérologique a été menée en abattoir au Nigeria chez des dromadaires dont la plupart présentait des lésions pulmonaires (40/58). La totalité des sérums étaient négatifs en RFC, sept étaient positifs en Dot-ELISA et quatre en Western-Blot. Selon les auteurs, le dromadaire pourrait jouer un rôle dans l'épidémiologie de cette maladie (Egwu and Aliyu, 1997). Sa sensibilité n'a jamais été mise en évidence mais Wernery et Kaaden (1995) rapportent que des foyers de "PPCB" ont été décrits chez des chameaux (*Camelus bactrianus*) (Kowalevsky 1912 ; Samartsev, 1940).

2.1.9. Dermatose nodulaire contagieuse, clavelée et variole caprine

Ces maladies virales (*Poxviridae*, Capripoxvirus) affectent les bovins (lumpy skin disease virus, maladie transmise par des vecteurs arthropodes), les ovins et les caprins (sheeppox virus). Elles sont caractérisées cliniquement par une atteinte cutanée et muqueuse (nodules).

Ces maladies, essentiellement la clavelée, ont par ailleurs un tropisme pulmonaire et provoquent des broncho-pneumonies avec toux et jetage nasal abondant. Elles peuvent présenter une allure épizootique.

La réceptivité et la sensibilité du dromadaire n'ont pas été rapportées. Des maladies similaires, causées par des virus de la famille des *Poxviridae*, sont cependant abordées dans le chapitre suivant, en particulier, la variole du dromadaire causée par un virus du genre Orthopoxvirus et non Capripoxvirus. Cette maladie n'est pas classée dans les maladies à déclaration obligatoire de l'OIE (liste A et B).

*

**

Il n'y a pas d'informations relatives à la réceptivité et sensibilité du dromadaire aux autres maladies des mammifères de la liste A : stomatite vésiculeuse, maladie vésiculeuse du porc, peste porcine classique, peste porcine africaine. Il est à noter que ces maladies affectent les suidés, animaux qui pour des raisons socio-religieuses mais également écologiques, ne partagent pas en général les mêmes territoires que les dromadaires.

2.2. Maladies, syndromes et infections respiratoires du dromadaire

La pathologie observée dans la Corne de l'Afrique à partir de 1995 s'exprimait cliniquement par un syndrome respiratoire, parfois associé à d'autres symptômes extra-respiratoires. Les paragraphes suivants détailleront les données connues relatives à la pathologie respiratoire du dromadaire. Celles-ci apparaissent fragmentaires et généralement anciennes.

*

**

D'un manière générale, les dromadaires sont peu sensibles aux infections respiratoires (Higgins, 1983 ; McGrane et Higgins, 1985 ; Wernery et Kaaden, 1995).

Un certain nombre d'agents pathogènes infectieux ont été isolés et/ou détectés à partir de dromadaires exprimant un syndrome respiratoire. Il est cependant en général difficile de conclure sur l'implication réelle de ces agents dans la survenue et le développement des syndromes et maladies observées. Les syndromes et maladies respiratoires des dromadaires peuvent être initiés par des facteurs de risque et prédisposants comme les modifications climatiques, une mauvaise hygiène et une gestion déficiente du troupeau (Shah et Khan, 1935-36 ; Mustafa, 1987).

Abdel Rahim *et al.* (1990) ont examiné 204 dromadaires abattus en Libye et trouvé que la moitié d'entre eux présentaient au niveau des poumons des kystes hydatiques et des lésions de pneumonie. Farrag *et al.* (1953) ont diagnostiqué un grand nombre de cas de pneumonie chez des dromadaires abattus au Caire. Les auteurs pensent que des facteurs tels que le transport et la sous-alimentation prédisposent au développement de pneumopathies.

Arora et Kalra (1973) ont décrit des cas de broncho-pneumonie chez les dromadaires indiens. Les auteurs ont rapporté que la maladie se produisait seulement durant les mois les plus froids et n'affectait presque exclusivement que les animaux adultes. La morbidité pouvait atteindre 30% alors que la mortalité était très faible. Les animaux pouvaient exprimer une forme chronique de la maladie durant laquelle ils étaient inaptes au travail, causant ainsi des pertes économiques.

Semushkin (1968) a décrit un type de pneumonie infectieuse, avec abcédation, largement répandu en Mongolie (chez le chameau, *Camelus bactrianus*). Il se manifestait par un catarrhe aigu inflammatoire du système respiratoire supérieur accompagné d'une fièvre importante. Divers facteurs de stress, comme le transport, les longs voyages dans des conditions difficiles, la sous-alimentation et la tonte sont considérés comme facteurs prédisposants à cette infection qui cause d'importantes pertes chez le chameau de Bactriane. La maladie dure habituellement un mois, le symptôme principal étant une toux chronique.

D'après les rapports des abattoirs de divers pays, des modifications pathologiques des poumons des dromadaires sont fréquemment observées (rapportés par Wernery et Kaaden, 1995). Il est cependant surprenant que les rapports concernant les maladies et syndromes respiratoires chez le dromadaire soient plutôt rares.

*

**

Dans un premier temps, les agents pathogènes isolés et détectés (sérologie) chez des animaux sains et malades et à partir de tissus sains et lésés, seront répertoriés. Puis, les maladies et syndromes seront exposés en détaillant, d'une part, les maladies formellement définies (la tuberculose et la septicémie hémorragique) et, d'autre part, le syndrome respiratoire infectieux dont les causes et facteurs de risques précis restent à identifier. La présentation des bactéries de la famille des *Pasteurellacea* (« Pasteurelles ») sera exposée en faisant référence aux maladies des bovins, ovins et caprins en raison des similitudes et analogies pouvant être faites, *a priori*, avec le syndrome respiratoire décrit chez les dromadaires. Il est également à souligner que le syndrome présenté et étudié lors de ce travail a été désigné par les services vétérinaires officiels éthiopiens comme une "pasteurellose". Cela sera bien entendu discuté en fonction des résultats obtenus et par rapport à cette présentation bibliographique.

2.3. Les agents pathogènes

Divers agents pathogènes ont été isolés ou détectés (antigènes) à partir de prélèvements de l'appareil respiratoire, sain ou lésé. Diverses techniques sérologiques ont mis en évidence des anticorps.

2.3.1. Les bactéries⁹

Farrag *et al.* (1953) ont identifié en Egypte des cas de pneumonies aiguë et chronique d'où ont été isolées différentes espèces bactériennes. Shigidi (1973) a analysé bactériologiquement les prélèvements nasaux et les ganglions lymphatiques bronchiques de 64 dromadaires soudanais abattus et Chauhan *et al.* (1987) ont mené une enquête sur les écoulements nasaux de 219 dromadaires indiens en bonne santé. Mahmoud *et al.* (1988) ont analysé 52 poumons sains ou lésés. Les résultats de ces études sont résumés dans le tableau II.

⁹ Les données générales bactériologiques sont tirées des ouvrages et URL suivants : Pilet C, Bourdon JL, Toma B, Marchal N, Balbastre C, Person JM. 1987. Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne. Biologie Appliquée. Doin. ISBN 2-7040-0524-9 - Le Minor L. Bactériologie Médicale. 1989. 1108 p.. Euzeby JP. 2000. List of Bacterial names with S tanding in Nomenclature. URL: <http://www.bacterio.cict.fr>. Created: March 28, 1997 (anonymous ftp files). Available on the World Wide Web since January 28, 1998. Last updated: September 29, 2000. Minor changes: October 13, 2000

Espèce bactérienne ou "groupe" bactérien	Farrag <i>et al.</i> , 1953	Shigidi 1973	Chauhan <i>et al.</i> , 1987	Mahmoud <i>et al.</i> , 1988	Notes
	Egypte Lésions pulmonaires (N=50)	Soudan Ecouvillons nasaux et ganglions lymphatiques (N=64)	Inde Ecouvillons nasaux (N=219)	Egypte Poumons lésés (L) ou non (NL) (N=52)	
' <i>Actinomyces pyogenes</i> ' ; ' <i>Corynebacterium pyogenes</i> '	20%	5,4%	10,9%	2% (L)	1
'Bacilles aérobies'		30,5%			2
<i>Alcaligenes faecalis</i>	22%				3
[<i>Aspergillus</i> spp.]		8,7%			4
<i>Bacterium pyocyaneus</i> ; <i>Pseudomona aeruginosa</i>	2%			2% (L)	5
<i>C. hemolyticum</i>			0,9%		6
'Coliformes', entérobactéries	16%			21% (L) 8% (NL)	7
<i>Corynebacterium equi</i>			8,6%		8
"Diphthéroïdes"	16%				9
<i>E. coli</i>		1%	24,7%		7
<i>Enterobacter</i> spp.		0,5%			7
<i>Diplococcus</i> hémolytique			3,7%		10
<i>Klebsiella</i> spp.				5,8% (L)	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			11,9%		7
<i>Neisseria</i> spp.			0,5%		11
<i>Salmonella enteritidis</i>	2%				7
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase négative		26,2%	32,4%		12
<i>Staphylococcus aureus</i>		2,6%	10,5%	5,8% (L)	12
<i>Streptococcus viridans</i>	20%				13
Streptocoques hémolytiques	12%	5,1% (α - hémolyse)	2,7% (α - hémolyse) 3,7% (β - hémolyse)		13
<i>Streptococcus pyogenes</i>				2% (L)	13
<i>Streptomyces</i> spp.		4,1%			14

Tableau II : bactéries isolées d'organes respiratoires de dromadaires au cours de quatre études différentes.

Notes pour le tableau II :

1. il s'agit d'*Arcanobacterium pyogenes* (Autres dénominations : "*Bacillus pyogenes*", *Corynebacterium pyogenes*, *Actinomyces pyogenes*).
2. il pourrait s'agir d'entérobactéries.
3. *Alcaligenaceae*. Contamination possible des tissus lors de l'abattage.
4. Champignon (*Ascomyceta*).
5. *Bacterium pyocyaneus* = *Pseudomonas aeruginosa*, nom officiel actuel de l'espèce.
6. *Clostridium haemolyticum*. Bactérie anaérobie.
7. Entérobactéries (*Enterobacteriaceae*).
8. *Corynebacterium equi* : est responsable de broncho-pneumonies chez le poulain.
9. Diphtéroïdes: *Corynebacterium* spp.
10. *Diplococcus*: les bactéries de la famille des *Neisseriaceae* se présentent fréquemment sous une forme diplocoque. Par ailleurs, *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque) appartenait auparavant au genre *Diplococcus*. Pathogène pour l'homme, le pneumocoque l'est aussi pour certains mammifères notamment les animaux de laboratoire. Il interviendrait plus rarement chez les espèces animales domestiques.
11. Les *Neisseria* spp. comportent deux espèces majeures chez l'homme et des espèces commensales.
12. Les Staphylocoques provoquent des suppurations diverses et des septicémies. Les staphylocoques coagulase-positifs correspondent à *S. aureus*.
13. Les streptocoques sont groupables (i.e. sérologiquement dans les groupes de Lancefield: A, B, C, D, etc.) ou non groupables pour notamment *S. viridans*.
14. *Streptomyces* spp.: agent "d'actinomycoses à germes aérobies" (streptomycose) chez l'homme. Nombreuses espèces saprophytes.

Arora et Kalra (1973) ont isolé *Klebsiella pneumoniae* et des "diplocoques hémolytiques"¹⁰ des poumons de deux dromadaires morts de broncho-pneumonie. Vitovec et Vladik (1983) ont trouvé des abcès pulmonaires chez quinze dromadaires somaliens à partir desquels ils ont isolé des streptocoques hémolytiques. Abdhurman (1987) a isolé des *Pseudomonas* spp., *E. coli*, *Diplococci*, *Staphylococcus* spp. dans les poumons lésés de six (3 %) dromadaires somaliens sur 200 abattus. Al-Darraji et Wajid (1990) ont identifié des bactéries dans 56 % des cas parmi 220 dromadaires abattus en Iraq. Moallin et Zessin (1990) ont isolé *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* et *Citrobacter freundii* à partir d'abcès de poumons de dromadaires somaliens.

De plus, les auteurs précédents ne rapportent pas l'isolement de "pasteurelles" et en particulier de *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*.

Perreau et Maurice (1968) ont publié les résultats d'une étude sérologique, effectuée à partir des sérums de 427 chameaux vivant dans le nord du Tchad, et relative à la recherche d'anticorps *P. multocida* (A, B, D et E) et de *P. haemolytica*. Ils ont montré que le sérotype A de *P. multocida* prédominait.

Musa *et al.* (1989) rapportent, au cours de l'analyse d'échantillons provenant de 44 dromadaires soudanais, lors d'une étude sur *Cephalopina titillator* (cf. *infra*: parasitologie), l'isolement, à partir de lésions pulmonaires, de *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* et de *Klebsiella ozaenae* (actuellement *Klebsiella pneumonia* subsp. *ozaenae*), et de *Corynebacterium* spp..

Thabet (1994) rapporte l'isolement de *Pasteurella* spp., 2% à partir de 102 poumons de dromadaires, mais minoritaires par rapport aux espèces *Streptococcus* spp. et des entérobactéries.

*

**

Certaines espèces bactériennes seront détaillées, car elles paraissent importantes au vu de la littérature parcourue concernant la pathologie respiratoire du dromadaire et également en raison de leur importance intrinsèque dans les syndromes et maladies respiratoires des ruminants *sensu stricto*. Les données relatives aux "pasteurelles" des bovins, ovins et caprins seront précisées et ceci malgré le peu d'informations spécifiques sur celles des dromadaires.

2.3.1.1 *Arcanobacterium pyogenes* (Syn.: *Actinomyces pyogenes* ; *Corynebacterium pyogenes*)

Arcanobacterium pyogenes est un commensal des amygdales et des muqueuses (notamment des muqueuses des voies respiratoires supérieures). Les infections par cette bactérie sont souvent sporadiques et elles nécessitent des facteurs prédisposants comme des traumatismes. A partir des lésions, *Arcanobacterium pyogenes* est souvent isolé en association avec d'autres bactéries ("Pasteurelles" dans les pneumopathies). Elle est responsable d'infections suppurées graves chez les ruminants. L'isolement de *Arcanobacterium pyogenes* est très fréquent chez les ruminants domestiques et, dans une moindre mesure, chez les ruminants sauvages. Elle provoque des infections des plaies, des abcès superficiels et profonds (notamment des abcès du poumon), et, surtout, des adénites, des broncho-pneumonies, des pneumonies et des septicémies

¹⁰ voir note 10 du tableau précédent

2.3.1.2 *Streptococcus* spp.

Les streptocoques sont répartis en streptocoques groupables (groupes sérologiques de Lancefield), agents de pathologies notamment respiratoires chez les bovins, ovins, caprins et équins, et de streptocoques non groupables (*S. viridans*). Ces derniers, commensaux fréquents (rhinopharynx) sont rarement pathogènes mais déterminent des infections graves chez des individus immunodéprimés.

Les Streptocoques pathogènes des ruminants *sensu stricto* appartiennent essentiellement aux groupes B (*S. agalactiae* : infections uro-génitales), C ("groupe *dysgalactiae*" : *S. equi* etc.), D (*S. faecalis*, *S. bovis*, etc. : infections urinaires, génitales) et E (*S. lentus*, pneumonies notamment chez les bovins).

Les Streptocoques appartenant aux groupes A, B, C, E sont appelés "Streptocoques pyogènes".

Des Streptocoques, en général hémolytiques, ont été isolés à plusieurs reprises lors d'épisodes respiratoires chez les dromadaires. L'identification précise, hormis le type de l'hémolyse, n'a, le plus souvent, pas été rapportée. Thabet (1994) rapporte l'isolement, parmi d'autres bactéries (entérobactéries et pasteurelles), de *S. (Diplococcus) pneumoniae* (18%) et de *S. pyogenes* (22%) de poumon lésés ou non (102 échantillons). Pal et Chandel (1989) ont isolé un streptocoque β -hémolytique lors d'une pneumopathie chez un dromadaire en Inde. Oinakhbaev (1965) décrit une maladie respiratoire affectant les chameaux (*C. bactrianus*) du désert de Gobi (taux de létalité de 50%) et l'isolement d'un "pneumocoque" hémolytique virulent pour les cobayes, les souris et les veaux.

S. pneumoniae (pneumocoque), isolé par certains auteurs (Thabet, 1994), ou suspecté (cf. tableau II ; Kamel, 1939) est l'agent de la pneumonie franche lobaire aiguë humaine. Cette infection a gardé dans certains pays un caractère épidémique dans les populations humaines. Mahmoud (1988) et Thabet (1994) ont isolé *Streptococcus pyogenes*, streptocoque du groupe A affectant essentiellement l'homme et quelquefois les bovins (mammites). Cependant, une confusion avec les "Streptocoques pyogènes" des autres groupes est concevable.

2.3.1.3 *Burkholderia (Pseudomonas) mallei* et *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei*

Burkholderia mallei est responsable de la morve, maladie grave des équidés, et zoonose majeure. La morve est signalée comme une maladie rare des caprins et des camélidés (Samartsev, 1940 ; Blancou, 2000). Après une incubation de 2 à 4 semaines, la morve des équidés se manifeste, sous deux formes principales : la morve nasale et la morve cutanée ou farcin. La morve nasale se traduit par des ulcères de la muqueuse pituitaire dont la présence provoque un jetage d'abord muqueux puis mucopurulent s'accompagnant d'une adénite des nœuds lymphatiques de l'auge. Ultérieurement, des abcès se développent dans la trachée, les bronches et les poumons, et leur évolution s'accompagne de toux et de dyspnée.

Burkholderia pseudomallei est responsable de la melioïdose ou pseudo-morve. Bergin et Torenbeeck (1991) ont identifié cette maladie chez des dromadaires en Australie. De graves nécroses pulmonaires ont été observées chez tous les animaux morts. Chez l'homme et chez l'animal, l'expression clinique de la mélioïdose est très polymorphe et comprend notamment des infections septicémiques subaiguës dont l'évolution se poursuit durant des semaines voire

des mois. Les symptômes peuvent rappeler une tuberculose pulmonaire et l'infection se caractérise par de la fièvre, une pneumonie, de la toux, des difficultés respiratoires, un abattement, une inappétence, une cachexie intense et un jetage.

Il est par ailleurs nécessaire de souligner qu'il peut y avoir cliniquement confusion, chez les équidés, entre la morve et la gourme, maladie causée par *Streptococcus equi* subsp. *equi* (cf. *infra*).

2.3.1.4 *Enterobacteriaceae* (Entérobactéries).

Plusieurs espèces ont été isolées à partir du tractus respiratoire des dromadaires. *Klebsiella pneumoniae* semble fréquemment présente.

Le cas particulier de *Yersinia pestis*, entérobactérie isolée de bubons chez le dromadaire, est à souligner. *Yersinia pestis* est l'agent de la peste (peste sensu stricto i.e. la peste humaine) dont les réservoirs habituels sont les rongeurs et, les puces, les vecteurs. Le dromadaire et le chameau de Bactriane seraient sensibles à la peste d'après Fedorov (1960). Les formes buboniques, septicémiques et pulmonaires ont été décrites chez le dromadaire (Lobanov, 1959 ; Lobanov 1967). Des foyers ont été rapportés en Mongolie, en Chine, en Inde, en Iran, en Irak, en Russie (Sotnikov, 1973) ainsi qu'en Afrique et plus précisément en Mauritanie (Alonso, 1971) et en Libye (Christie *et al.*, 1980). D'après Fedorov (1960), les tiques des genres *Hyalomma* et *Ornithodoros* peuvent transmettre la bactérie mécaniquement chez le dromadaire. Cependant, l'importance de la maladie chez les camélidés reste controversée (Wernery and Kaaden, 1995). Elle est à étudier précisément, ainsi que les différentes formes cliniques. La forme bubonique (hypertrophie ganglionnaire, i.e. le bubon) peut évoluer vers la forme septicémique. La forme respiratoire est toujours mortelle chez l'homme en l'absence de traitement.

2.3.1.5 *Mycoplasma* spp.

Les mycoplasmes, bactéries sans paroi, ont un tropisme important pour le tractus respiratoire. Chez les ruminants *sensu stricto*, de nombreux mycoplasmes ont été mis en évidence lors de syndromes et maladies respiratoires et en particulier pour deux maladies contagieuses importantes en Afrique, la PPCC et la PPCB.

Une enquête sérologique conduite au Kenya (Paling *et al.*, 1978) a montré 49% de dromadaires séropositifs pour la pleuropneumonie contagieuse caprine (PPCC), maladie pulmonaire des caprins, due à un mycoplasme (*Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae*).

Il a été indiqué précédemment que la sensibilité du dromadaire à *M. mycoides* subsp. *mycoides* SC, agent de la PPCB, n'était pas clairement établie.

Refai (1992) a isolé de dromadaires égyptiens en bonne santé, *Mycoplasma arginini* (considérée comme peu ou non pathogène) à partir des cavités nasales, des poumons et des ganglions lymphatiques médiastinaux ainsi que *Acholeplasma laidlawii* du tractus respiratoire et *Acholeplasma oculi* des cavités nasales. Ces deux dernières espèces sont des acholeplasmes de l'Ordre des Mycoplasmatales comme les mycoplasmes mais de la famille des *Acholeplasmataceae*. Elles sont considérées comme des parasites ou des commensaux des vertébrés pouvant également être isolées du milieu extérieur. Le pouvoir pathogène des acholeplasmes est incertain dans les conditions naturelles mais aussi dans les conditions

expérimentales. *Acholeplasma laidlawii* est isolé du milieu extérieur, de l'homme et de très nombreuses espèces animales. Cette bactérie est fréquemment présente dans la cavité orale, dans l'appareil respiratoire et dans l'appareil génital mais elle a également été isolée de la surface oculaire et des nœuds lymphatiques. Son pouvoir pathogène n'est pas clairement établi. Son administration dans l'appareil respiratoire des bovins ne produit aucun signe clinique. *Acholeplasma oculi* a été isolée de cas de kératoconjonctivites chez la chèvre, des sécrétions nasales de porcs, de l'appareil génital des petits ruminants et des voies respiratoires du cheval. Expérimentalement, l'inoculation intraveineuse à la chèvre induit des signes de pneumonie et provoque la mort en six jours. L'inoculation par voie conjonctivale provoque une conjonctivite modérée.

2.3.1.6 *Mycobacterium* spp.

Elmossalami *et al.* (1971) rapportent l'isolement, à partir de lésions tuberculeuses, de *M. tuberculosis* et de *M. bovis*, mycobactéries du "complexe *tuberculosis*" mais, également, de *M. kansasii*, mycobactérie atypique, et *M. smegmatis* (non pathogène). Chartier *et al.* (1991) ont isolé *M. bovis* d'un dromadaire mauritanien présentant des lésions tuberculeuses. Rana *et al.* (1993) ont trouvé au Pakistan, à partir de poumons de dromadaires, deux échantillons positifs pour *Mycobacterium* spp sur soixante-trois analysés.

Etant donnée l'importance générale de la tuberculose humaine et animale - et l'absence de spécificité stricte d'hôte - un paragraphe particulier lui sera consacré (cf. *infra*).

2.3.1.7 *Chlamydiaceae*

Pendant longtemps, l'ordre des Chlamydiales a été constitué d'une seule famille (la famille des *Chlamydiaceae*), d'un seul genre (le genre *Chlamydia*) et deux espèces *C. trachomatis* et *C. psittaci*. Celle dernière espèce a été scindée en plusieurs espèces mais qui font désormais partie du genre *Chlamydophila*. Ainsi, les espèces *Chlamydia pecorum*, *Chlamydia pneumoniae* et *Chlamydia psittaci* ont été transférées dans le nouveau genre *Chlamydophila*.

Les *Chlamydophila* sont impliquées dans certaines pneumonies des bovins et interviennent dans le complexe des maladies respiratoires. Un synergisme entre "*Chlamydia* spp." et *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* a été démontré expérimentalement. *Chlamydophila pecorum* a été isolée chez les ruminants (bovins, caprins et ovins) lors de pneumonies et d'avortements. *Chlamydophila abortus* est une espèce présentant un tropisme pour le placenta des ruminants (bovins, caprins et ovins) et est responsable d'avortements et de mortalités néonatales.

Les anticorps "*Chlamydia*" ont été en fait recherchés chez le dromadaire dans le cadre des études sur les causes d'avortements, en non dans le cadre d'études de la pathologie respiratoire. Les sérologies ont été réalisées avec un antigène du groupe "*C. psittaci*". Différents auteurs ont ainsi identifié des anticorps "*Chlamydia*" chez des dromadaires. En Tunisie, Burgemeister *et al.* (1975) ont trouvé 8% de dromadaires séropositifs, Schmatz *et al.* (1978) 11% en Egypte et Djegham (1988) 4%, également en Tunisie. Wernery et Wernery (1990) ont trouvé, aux EAU, 15% de positifs parmi des dromadaires de course et 24% parmi des dromadaires d'élevage. Ces différents taux de séropositivité n'ont pas été mis en relation avec des épisodes d'avortements.

2.3.1.8 Rickettsiaceae

Maurice *et al.* (1967) rapportent, chez des dromadaires tchadiens, les séroprévalences suivantes, pour des membres de la famille des *Rickettsiaceae* :

- *Coxiella burnetti* (agent de la fièvre Q, infection abortive) : 13,6%,
- *Rickettsia prowazekii*¹¹ : 1,8%
- *Rickettsia mooseri*¹² : 11,6%
- *Rickettsia rickettsii*¹³ : 1,8%,
- *Rickettsia coronii*¹⁴ : 1% .

Ces auteurs suspectent l'intervention de ces rickettsies, en particulier *C. burnetti*, dans la survenue des pneumopathies des dromadaires. Les infections à *Rickettsia* spp. se traduisent chez l'homme par un syndrome de type grippal, un état typhique, une éruption généralisée et des signes associés (parmi lesquels des signes pulmonaires). Les infections animales sont en général inapparentes.

2.3.1.9 La famille des *Pasteurellaceae* et les genres *Pasteurella* et *Mannheimia*

Les données générales relatives aux *Pasteurellaceae* des bovins et petits ruminants sont issues de Bisgaard et Mutters (1986), de Mutters *et al.* (1989), de Shewen et Rice Conlon (1993) et de Sustronck (1997).

Le genre *Pasteurella* fait partie de la famille des *Pasteurellaceae* comprenant également les genres *Actinobacillus*, *Haemophilus*, et *Mannheimia* dans lequel a été reclassé en particulier *P. haemolytica*.

La définition du genre *Pasteurella* a été modifiée par Mutters *et al.* (1985). Les *Pasteurella* spp. des *Bovidae* (bovins, ovins et caprins) sont *Pasteurella multocida* (espèce type du genre et divisée en 3 sous-espèces), *Pasteurella trehalosi* (anciennement *Pasteurella haemolytica* biotype T) et *Pasteurella haemolytica* (biovar A) transférée, en 1999, dans le genre *Mannheimia* (Angen, 1999).

i. *Pasteurella multocida*

Pasteurella multocida est un bacille reconnaissant, en sérotypie (système Namioka), 4 types capsulaires, A, B, D et E et 12 types somatiques (numéroté de 1 à 12).

P. multocida sérotype B a été isolée chez le dromadaire au Soudan (Hassan et Mustafa, 1985) lors d'un épisode pathologique. Des études sérologiques faites par différents auteurs (rapportées par Wernery et Kaaden, 1995) ont identifié la présence d'anticorps à *P. multocida* des serotypes A, B, D, E. Les sérums avaient été collectés sur des animaux tout-venants ne présentant pas particulièrement de signes respiratoires.

¹¹ agent du typhus épidémique

¹² i.e. *R. typhi*, agent du typhus murin

¹³ agent de la fièvre pourprée américaine chez l'homme.

¹⁴ agent de la fièvre boutonneuse chez l'homme

Les types B:6 et E:6 sont responsables de la septicémie hémorragique. Cette maladie a été décrite cliniquement dans plusieurs pays chez les *Camelidae* (cf. *infra*) mais l'identification précise de la bactérie n'est, en général, pas rapportée.

Les types A et E (divers sérotypes somatiques) sont ubiquistes et se comportent, en général, en "germe de sortie" lors d'affections respiratoires.

L'enquête sérologique de Perreau et Maurice (1968) montre que *P. multocida* sérotype A prédomine par rapport aux sérotypes B, D et E.

Sajjad-ur-Rahman *et al.* (1994) ont mis en évidence des anticorps *P. multocida* Robert Type-1 chez des dromadaires du Pakistan. Les pourcentages observés étaient de 79,3% en AGID et de 65,5% en IHA. Le type 1 correspond à l'antigène somatique 1 et aux antigènes capsulaires A et D. Les auteurs font référence à la "septicémie hémorragique", mais causée par les sérotypes somatiques 6 (B et E pour les sérotypes capsulaires).

ii. *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*

Les isollements de *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* chez le dromadaire sont rarement rapportés et minoritaires par rapport aux autres espèces bactériennes (Streptocoques et Entérobactéries en particulier). Ceci paraît paradoxal étant donné l'importance de cette bactérie dans la survenue des pneumopathies des autres ruminants.

Le genre *Mannheimia* est l'un des six genres de la famille des *Pasteurellaceae*. Il a été proposé en 1999 pour accueillir les souches bactériennes tréhalose négative, préalablement placées au sein de *Pasteurella haemolytica* (i.e. biovar A). Sur la base des résultats d'hybridation ADN - ADN, Mutters *et al.* (1985) excluent *Pasteurella haemolytica* du genre *Pasteurella sensu stricto* et rapprochent cette espèce des *Actinobacillus* spp..

Toutes les souches isolées de bovins et d'ovins et certains sérovars sont certainement des hôtes normaux des voies respiratoires. Chez les bovins et les petits ruminants, *Mannheimia haemolytica* est responsable de pneumonies.

Chez les bovins, *Mannheimia haemolytica* (notamment les sérovars 1 et 2), est isolée du nasopharynx d'animaux sains. Le sérovar le plus fréquemment en cause lors de pneumonies est le sérovar 1 suivi du sérovar 6 (les vaccins actuels intègrent ces deux sérovars).

Toutefois, cette espèce ne constitue qu'une très faible partie de la flore des voies respiratoires. Elle n'est pas facile à mettre en évidence à partir des écouvillonnages nasaux et son isolement est sporadique.

Chez les petits ruminants, *Mannheimia haemolytica* est hébergée dans le naso-pharynx, dans la cavité orale et dans les amygdales des animaux sains. Le sérovar le plus fréquent est le sérovar 2.

iii. *Pasteurella trehalosi*

Pasteurella trehalosi a une autre dénomination : *Pasteurella haemolytica* (souches du biovar T). Isolée des ovins, cette bactérie n'a jamais été formellement identifiée chez les dromadaires.

La pasteurellose à *Pasteurella trehalosi* est plus rare que la mannheimiose à *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. *Pasteurella trehalosi* colonise les amygdales des moutons sains mais, elle est aussi responsable d'infections systémiques graves chez les jeunes ovins adultes (âgés de 5 à 12 mois) et, parfois, de pneumonies.

*

**

Les connaissances relatives aux "pasteurelles" des ruminants *sensu stricto* sont éloignées de celles du dromadaire pour lesquelles peu d'informations précises sur les espèces impliquées sont disponibles. Par ailleurs, les confusions entre la septicémie hémorragique *sensu stricto* et les autres "pasteurelloses" sont vraisemblablement fréquentes. Les isollements bactériens de poumons sains et lésés montrent une prédominance de *Arcanobacterium pyogenes*, de *Streptococcus* spp. et d'entérobactéries.

2.3.2. Les virus¹⁵

La mise en évidence de virus respiratoires a essentiellement été réalisée sur des bases sérologiques et par référence aux virus respiratoires des bovins. La signification épidémiologique de ces résultats n'est pas explicite et demande des études supplémentaires.

2.3.2.1 Virus Influenza A et B

Les virus influenza A et B appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae*. Le type A est responsable des gripes humaines et animales et de la peste aviaire vraie. Le cycle épidémiologique des virus influenza A fait intervenir des oiseaux, des suidés et l'homme. Les animaux sensibles sont les oiseaux, les chevaux, les porcs et certains mammifères marins. Les ruminants *sensu lato* ne sont pas considérés comme des animaux sensibles et leur infection reste sub-clinique (Alexander et Brown, 2000). Cependant, récemment, des sérologies ont été rapportées chez des bovins (Jones-lang *et al.*, 1998) en association avec une maladie respiratoire (Brown *et al.*, 1998). Des virus influenza A ont été isolés (Alexander et Brown, 2000) de bovins au cours de pathologies respiratoires.

En 1979, une importante épizootie, caractérisée par un syndrome respiratoire, a touché les chameaux (*Camelus bactrianus*) de Mongolie. Un virus influenza de sous-type H1N1 a été isolé et caractérisé (Yamnikova *et al.*, 1993). Scholtissek (1995) a émis l'hypothèse que ce virus était un réassortant entre deux souches humaines et considérait que le chameau n'était pas un hôte naturel des virus influenza A. Des travaux ultérieurs (Anchlan *et al.*, 1996) ont montré que ce virus était très proche génétiquement de souches de virus influenza isolées dans la population humaine à la même période et dans la même région. En outre, ces auteurs ont établi que ces souches virales dérivait d'un virus vaccinal utilisé en 1978 dans la population humaine.

En Afrique, des épizooties 'influenza-like' (syndrome respiratoire de type grippal) ont été décrites sur des dromadaires en Somalie (Auguadra, 1958, Somac-Sarec, 1982), mais sans aucun isolement d'un agent microbien .

Des enquêtes sérologiques menées au Nigeria (Olaleye *et al.*, 1989) et au Soudan (El Amin et Khier, 1985) ont montré des faibles taux de séropositifs en anticorps influenza A (respectivement 0,6% et 4,7%).

La présence d'anticorps du virus Influenza B est rapporté par Olaleye *et al.* (1989) au Nigeria avec une prévalence de 12,7%. Chez l'homme, le type B est responsable de formes grippales moins graves que celles causées par le type A. (Le type Influenza C provoque des infections bénignes de type rhume chez l'homme).

¹⁵ Les informations générales relatives au virus sont tirées de: 1. Crainic E et Nicolas JC. 1993. Virologie médicale. Technique et Documentation Lavoisier. ISBN : 2-85206-909-1. 2. MERCK. 1998. The Merck Veterinary Manual. 8th Edition. ISBN 0-911910-29-8

2.3.2.2 Virus parainfluenza 3 (PI-3)

Le virus parainfluenza bovin (*Paramyxoviridae*, Paramyxovirus, bovine parainfluenza virus 3) peut être associé chez les bovins et les petits ruminants à des infections subaiguës ou subcliniques. Le rôle le plus important de PI-3 est celui d'initiateur d'infections bactériennes.

Olaleye *et al.* (1989) ont identifié des anticorps à para influenza virus 1, 2 et 3 (22,3%, 2,5%, 18,5%). Il est intéressant de noter le taux d'incidence élevé d'anticorps au virus parainfluenza 3 dans les conditions désertiques (El Amin et Kheir, 1985), 81% en Tunisie (Burgemeister *et al.*, 1975) et 99% au Tchad (Maurice *et al.*, 1968).

En dépit de ces taux de séroprévalence élevés, l'isolement du virus para-influenza lui-même n'a pas été rapporté.

2.3.2.3 Virus respiratoire syncytial bovin (BRSV)

Le virus respiratoire syncytial (*Paramyxoviridae*, Pneumovirus, bovine respiratory syncytial virus) affecte les bovins, ovins et caprins. Les formes cliniques sont prédominantes chez les jeunes animaux et les vaches laitières. Ce virus est, par ailleurs, un virus important au sein du complexe respiratoire bovin. Il prédispose le tractus respiratoire aux infections respiratoires secondaires.

Olaleye *et al.* (1989) ont identifié des anticorps BRSV chez des dromadaires nigériens (0,6%).

2.3.2.4 Virus IBR (BHV-1) et virus de la rhinopneumonie équine (EHV-1)

Le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est un herpes virus (*Herpesviridae*, Varicellovirus, bovine herpesvirus type 1). L'infection par le BHV-1 est très répandue chez les bovins. L'infection virale seule n'est généralement pas fatale sans l'intervention de complications bactériennes.

Les dromadaires ne semblent pas sensibles au virus IBR. Hedger *et al.* (1980), Bornstein *et al.* (1988) et Wernery et Wernery (1990) n'ont pas mis en évidence d'anticorps BHV-1 au cours d'enquêtes sérologiques. Seul Burgemeister *et al.* (1975) ont trouvé de faibles titres d'anticorps chez 5,8% des dromadaires tunisiens.

Par ailleurs, des anticorps BHV-1 ont été trouvés par Rosadio *et al.* (1993) chez des lamas et alpagas péruviens. Les auteurs ont trouvé la prévalence la plus élevée (16,7% chez les lamas et 16,2% chez les alpagas) quand les troupeaux partageaient les pâturages des bovins, des moutons et des chèvres. Quand les alpagas étaient séparés des autres ruminants, la prévalence était de 5,1%.

En outre, il est intéressant de mentionner que les *Camelidae* sud-américains seraient sensibles à l'herpesvirus équin 1 (EHV-1), virus responsable de la rhinopneumonie équine. Ce virus a été isolé de lamas et d'alpagas morts qui avaient montré des signes neurologiques et notamment des paralysies (Rebhun *et al.*, 1988). Cette pathologie s'est déclenchée lorsque ces animaux ont été amenés du Chili en Amérique où ils ont été maintenus en contact étroit avec d'autres lamas, des dromadaires, des gnous et diverses espèces d'antilopes.

2.3.2.5 Virus de la maladie des muqueuses (BVDV)

Le virus de la maladie des muqueuses - diarrhée virale bovine (*Flaviviridae*, Pestivirus, bovine viral diarrhea virus)- est fréquemment isolé lors d'épisodes de "fièvre des transports". Le BVDV a un rôle immunodépresseur.

En Tunisie, Burgemeister *et al.* (1975), à Oman Hedger *et al.* (1980), au Soudan et en Somalie Bornstein *et al.* (1988) ont conduit des enquêtes sérologiques relatives au BVDV chez le dromadaire. Ces enquêtes ont montré des taux de séropositivité de 3,9% en Tunisie, de 6,7% à Oman, de 15,5% au Soudan, et de 3,4% en Somalie. Bohrmann *et al.* (1988) n'ont identifié aucun sérum positif BVDV à Djibouti.

Dans les Emirats Arabes Unis, des organes de dromadaires adultes et jeunes, morts de diverses causes, ont été analysés en routine par une technique d'immunofluorescence destinée à détecter la présence du BVDV, mais la mise en évidence du virus n'a jamais été rapportée (Wernery et Kaaden, 1995).

2.3.2.6 Virus camelpox (variole du dromadaire)

C'est une maladie majeure du dromadaire, causée par le Camelpox virus (Orthopoxvirus de la famille des *Poxviridae*) affectant surtout les jeunes animaux. Elle se traduit par des signes cutanés (nodules), principalement présents au niveau de la tête, et des taux de morbidité et mortalité élevés. Un tropisme respiratoire est également observé (Kinne *et al.*, 1998). Ces auteurs décrivent trois dromadaires morts de variole généralisée et présentant des lésions pulmonaires. Le virus camelpox a été caractérisé par des techniques moléculaires et les différents isolats se sont révélés être identiques (profils de restriction). L'examen immunohistochimique a révélé la présence d'antigènes camelpox dans l'épithélium bronchique.

Cette approche mériterait d'être poursuivie, notamment dans le cadre de l'étude des pneumopathies et du rôle éventuel du Camelpox dans la survenue de ces pathologies.

La variole peut être confondue cliniquement, d'une part, avec l'ecthyma contagieux, maladie virale, due à un virus de la famille des *Poxviridae* et du genre *Parapoxvirus* (orf virus) et, d'autre part, avec la papillomatose, maladie mineure due à un *Papillomavirus* (*Papovaviridae*), se traduisant par des nodules apparaissant essentiellement sur la tête et le cou.

2.3.2.7 Autres virus

Dans le nord-est du Nigeria, parmi des dromadaires destinés à l'abattage, Olaleye *et al.* (1989) ont trouvé 1,3 % de positifs en anticorps Adenovirus (*Adenoviridae*).

Les adénovirus intervenants dans la pathologie respiratoire des petits ruminants sont les adénovirus de type 6 puis moins fréquemment les types 1, 2 et 5 (Brogden *et al.*, 1998).

Il n'y a pas d'informations relatives à d'autres virus ayant un tropisme respiratoire tels que les réovirus et coronavirus.

2.3.3. Parasites (protozoaires, helminthes et arthropodes ; champignons)

Les maladies et infestations parasitaires sont importantes chez le dromadaire et ont fait l'objet de nombreuses études et publications. Le rôle potentiel des parasites et, en particulier, leur rôle comme facteurs de risque (facteurs prédisposant, favorisant, aggravant) est à prendre en compte très sérieusement dans l'étude de pathologies multifactorielles

Les maladies parasitaires du dromadaire sont causées par des protozoaires, des helminthes (endoparasites) et des ectoparasites. Les données générales relatives aux parasitoses sont issues des revues de Elamin (1996) et Faye (1997).

2.3.3.1 Protozooses (hémoparasitoses)

La trypanosomose est considérée comme la maladie majeure des dromadaires. L'agent étiologique est *Trypanosoma evansi* transmis mécaniquement par des insectes hématophages. Cette maladie se traduit par des formes aiguës (état typhique, anémie, larmolement, avortements, complications infectieuses dont respiratoires) et chroniques.

T. evansi est un variant de *T. brucei*. *T. brucei* induit une sévère immunodépression chez des souris et bovins infectés expérimentalement (Sileghem *et al.*, 1989 ; Sileghem and Flynn, 1992). Le rôle potentiellement immunodépresseur de *T. evansi* chez le dromadaire devrait être pris en compte lors des études épidémiologiques des maladies et de la conduite des campagnes de vaccination (Pastoret *et al.*, 1998). Ouma *et al.* (1997) suggèrent que la diminution du niveau de complément enregistrée lors d'une infestation du dromadaire par *T. evansi* dans cette espèce pourrait participer à l'immunosuppression.

D'autres protozooses (coccidioses, toxoplasmose, sarcosporidiose, theileriose) apparaissent comme mineures mais leurs rôles restent à évaluer précisément.

2.3.3.2 Helminthoses (endoparasitoses)

Les parasitoses digestives sont causées par différentes espèces d'helminthes. Ces helminthoses digestives sont dominées par les trichostrongyloses et surtout par l'haemonchose (*Haemonchus longistipes*), parasitose du dromadaire considérée actuellement comme majeure, provoquant cachexie, œdèmes, diarrhées et prédisposant le dromadaire à des infections opportunistes.

Des parasites pulmonaires sont occasionnellement mis en évidence (*Dictyocaulus* spp.). Les cestodoses larvaires à localisation pulmonaire sont par ailleurs fréquentes (échinococcose à *Echinococcus granulosus* et cysticercose à *Cysticercus cameli*).

2.3.3.3 Ectoparasitoses

Les ectoparasitoses sont fréquentes, en particulier la gale (*Scarcoptes scabiei* var. *cameli*), ectoparasitose majeure et redoutée des éleveurs, qui pourrait avoir un rôle prédisposant aux infections intercurrentes.

Une myiase des cavités nasales est très fréquemment observée. Les larves de l'insecte *Cephalopina titillator*, parasitent le rhinopharynx, le plus souvent de manière asymptomatique. Cependant, le rôle favorisant de ces parasites dans le développement d'infections bactériennes est à envisager. A l'instar de ce qui est observé au cours de l'oestrose ovine (*Oestrus ovis*), des phénomènes d'hypersensibilité pourraient prédisposer les animaux à des infections respiratoires bactériennes (rhinite, pneumonie), (Dorchies *et al.*, 1993 ; Nguyen *et al.*, 1996 ; Viatteau *et al.*, 1999).

2.3.3.4 Champignons

Aspergillus fumigatus (Fungi, Ascomyceta) a été isolé au cours d'un foyer caractérisé par un syndrome respiratoire et digestif (El-Khouly *et al.*, 1992) observé dans la péninsule arabique (EAU). Sur un effectif de 480 dromadaires, 70 ont été malades et 40 sont morts. Les signes cliniques incluaient fièvre, toux, larmolement, œdème de la gorge et de la région sous-mandibulaire et hypertrophie des ganglions lymphatiques sous-mandibulaires. En phase terminale, des symptômes nerveux, de la diarrhée hémorragique et des vomissements ont été observés. *A. fumigatus* a été isolé de différents organes mais les auteurs n'ont pas conclu sur son rôle, primaire ou secondaire, dans le déclenchement de cette maladie.

L'aspergillose est causée par *Aspergillus* spp. et, plus particulièrement, *A. fumigatus*. C'est en premier lieu une infection de type respiratoire mais pouvant se généraliser. Chez les ruminants *sensu stricto*, l'aspergillose se traduit avant tout par des avortements et des mammites, mais peut être également à l'origine de bronchopneumonies. Les formes digestives, et l'association des formes digestives et respiratoires, sont décrites chez le chat domestique.

2.4. Les maladies et infections respiratoires

2.4.1. La tuberculose

La tuberculose chez les animaux domestiques et chez l'homme est causée par *Mycobacterium bovis*, *M. avium* et *M. tuberculosis*, du "complexe *Mycobacterium tuberculosis*". Comme c'est le cas pour les autres représentants de ce complexe, la spécificité d'hôte n'est pas totale.

La tuberculose a été diagnostiquée au début de ce siècle chez les dromadaires en Egypte et en Inde (Lingard, 1905 ; Leese, 1908).

Les études de Mason (1912, 1917, 1918) sur des dromadaires égyptiens permettent de dégager certaines informations relatives à l'épidémiologie et la pathogénie de la maladie. Les organes les plus fréquemment affectés sont les poumons, les ganglions lymphatiques bronchiques et médiastinaux, la plèvre et le foie. La trachée, les reins et la rate peuvent être aussi touchés. Des lésions miliaires à la surface des poumons peuvent être observées. Le bacille tuberculeux isolé à partir de ces lésions provoque des lésions tuberculeuses typiques chez le cobaye et le lapin. Des lésions similaires ont été décrites chez des dromadaires en Inde (Leese, 1918) et en Somalie (Schillinger, 1987). Ces lésions sont avant tout pulmonaires, alors que la forme disséminée de la tuberculose est rarement observée. La forme digestive n'a pas été rapportée chez les dromadaires.

La tuberculose semble rare chez les dromadaires des populations nomades¹⁶ (Chartier *et al.*, 1991 ; Wernery et Kaaden, 1995). La maladie est plus fréquemment observée chez les dromadaires en stabulation, confinés, et en contact direct avec des bovins, comme en Russie et en Egypte (Mason, 1917 a,b et 1918 ; Elmoossalami *et al.*, 1971 ; Donchenko, 1975 a, c).

L'estimation de la prévalence de la tuberculose chez les dromadaires par l'utilisation du test tuberculinique intradermique s'est heurtée à des problèmes d'interprétation. En Australie, Schillinger (1987) rapporte des résultats positifs au test tuberculinique (*M. avium* et *M. bovis*) pour 10 à 22 % de dromadaires. A l'abattoir, aucune lésion tuberculeuse n'a été trouvée chez ces animaux réagissants. Il serait donc nécessaire d'estimer la validité du test IDR (sensibilité et spécificité) chez cette espèce et dans chaque milieu d'élevage.

¹⁶ Cependant, la tuberculose zoonotique jouerait un rôle important chez les populations nomades qui consomment crus le lait et ses produits dérivés (Seifert, 1992). C'est également le cas pour le lait de dromadaires. En Russie, Donchenko *et al.* (1975b) ont isolé des souches de *M. bovis* de 46 échantillons de lait de 712 chamelles en lactation. Des tests tuberculoniques ont été faits sur ces troupeaux et 9,1% étaient positifs.

2.4.2. La septicémie hémorragique

Différents auteurs ont rapporté des infections à *Pasteurella* spp. chez les dromadaires. Cependant, il y a des divergences concernant l'expression clinique et les espèces de *Pasteurella* impliquées.

Le fait que l'on ait pu confondre des foyers de *Pasteurella* avec d'autres maladies présentant les mêmes symptômes cliniques comme la fièvre charbonneuse et les salmonelloses (Mustafa, 1987) a abouti à une certaine incertitude quant à la définition de ces pathologies chez les dromadaires.

La septicémie hémorragique est une entité nosologique officiellement définie et dont l'étiologie est *Pasteurella multocida*, sérotypes B et E. Elle est à distinguer des pasteurelloses causées par les autres sérotypes de *P. multocida* (A et D) et des autres espèces auparavant classées dans le groupe *P. haemolytica* (biovars A et T) mais actuellement, distinguées en deux espèces : *Mannheimia haemolytica* (ex biovar A ; plusieurs biogroupes et sérovars) et provisoirement pour le biovar T, *Pasteurella trehalosi*.

La septicémie hémorragique est présente en Afrique, Asie, Moyen-Orient et Europe du Sud. Elle affecte les bovins et les buffles d'eau¹⁷ (*Bubalus bubalis*) et est caractérisée par de la fièvre, une inflammation congestive et hémorragique des muqueuses, une dyspnée, un œdème intermaxillaire, s'étendant éventuellement jusqu'à la poitrine, et une mortalité élevée (De Alwis, 1992). On observe des lésions pulmonaires (congestion) et une pleurésie lors d'une évolution clinique supérieure à 72 heures. Il y a un portage sain au niveau de rhinopharynx et des ganglions lymphatiques rétropharyngiens. En général, des facteurs déclenchants et précipitants¹⁸ sont nécessaires pour que s'exprime cliniquement la maladie, en particulier des facteurs de stress - alors que pour les autres "pasteurelloses", les facteurs sont avant tout de type prédisposant, cf. *infra*. Ces facteurs seraient en particulier le travail (labours), les déplacements (« trekking ») et les modifications climatiques (pluies).

Les auteurs du début du siècle pensaient que le dromadaire était résistant à la septicémie hémorragique et à la pasteurellose bovine. (Leese, 1918 ; Cross, 1919). Cross (1919) a d'ailleurs inoculé deux dromadaires avec une culture de « bovine HS » et n'a observé aucune maladie systémique mais des inflammations locales.

Selon Higgins (1986), l'infection par *P. multocida* s'exprime par trois formes cliniques : aiguë, suraiguë et abdominale. Cette dernière est différenciée par une diarrhée souvent mélangée à du sang.

Schwartz et Dioli (1992) considèrent que la forme aiguë est identique à celle décrite chez les bovins. Ils ont caractérisé la septicémie hémorragique chez le dromadaire comme étant une maladie associant une fièvre (de plus de 40°C), une tachycardie et une tachypnée, de l'anorexie et des enflures du cou extrêmement douloureuses. Les ganglions lymphatiques mandibulaires et cervicaux sont enflés et, dans presque tous les cas, une entérite apparaît avec

¹⁷ En 1871, elle fut décrite chez le buffle d'Asie sous le nom de « gourme ». (Metaxa, rapporté par Blancou, 2000).

¹⁸ Un facteur déclenchant est un facteur responsable, en dernière instance, de la manifestation d'une maladie. Un facteur précipitant est facteur accélérant l'apparition d'un phénomène morbide.

des fécès hémorragiques. Un symptôme supplémentaire de cette maladie est l'apparition d'une hématurie¹⁹. Des foyers de septicémie hémorragique apparaissent principalement durant la saison des pluies et dans des régions régulièrement inondées. La maladie survient surtout chez les adultes mais peut apparaître dans tous les groupes d'âges. La morbidité est basse, mais la mortalité peut atteindre 80% (Scharwtz et Dioli, 1992).

Momin *et al.* (1987) ont décrit un foyer de pasteurellose en Inde dans lequel onze sur quatorze dromadaires sont morts. Les animaux ont développé une forte température, un œdème cervical avec des problèmes respiratoires aigus et une mort rapide. Des organismes bipolaires ont été vus dans les frottis sanguins « ressemblants » à *P. multocida*.

Fayed (1973) a isolé six souches de *P. multocida* à partir de 100 prélèvements nasaux de dromadaires en bonne santé en Egypte. Tous les isolats étaient pathogènes pour les souris et les lapins. Cependant, deux dromadaires, parmi ceux infectés par voie intra-nasale par ces souches, ont guéri après un bref épisode clinique.

Awad *et al.* (1976 a et b) ont rapporté de l'inappétence, de la fièvre et une hypersalivation chez les dromadaires après infection expérimentale par voies intramusculaire et nasale de *P. multocida*, type I (le type I ferait-il référence au sérotype somatique 1 et donc serait du sérotype capsulaire A ou D ?). Cette *Pasteurella* sp. a été ré-isolée à partir de la salive mais non à partir du sang. Tous les dromadaires infectés de cette façon ont guéri après 5 jours.

Pasteurella multocida serotype B a été isolée par Hassan et Mustafa (1985) des organes et de la moelle osseuse de dromadaires soudanais lors d'un foyer de septicémie hémorragique. Les auteurs ont reproduit la maladie chez des lapins et des veaux.

Lors d'un essai sur le terrain rapporté par Wernery et Kaaden (1995), deux souches de *Pasteurella multocida* (sérotypes B et E) hautement virulentes sur le bétail et les buffles ont été pulvérisées dans les naseaux de dromadaires âgés de neuf mois. Ces dromadaires n'ont développé aucun signe de la maladie. De plus, 5 ml de la même souche contenant 10⁶ CFU/ml ont été donnés par voie intra-trachéale à quatre dromadaires âgés de huit mois et en bonne santé. Deux des quatre dromadaires ont montré une augmentation de la température jusqu'à 39,2°C et une faible augmentation du nombre de lymphocytes. Un des deux animaux a présenté également un faible jetage muco-purulent à partir duquel aucune *P. multocida* n'a été isolée. Après trois jours, la température corporelle et le nombre de lymphocytes sont revenus à la normale et plus aucun jetage n'a été détecté.

D'après Wernery et Kaaden (1995), la septicémie hémorragique est sans doute confondue régulièrement chez le dromadaire avec la fièvre charbonneuse, les salmonelloses et l'intoxication par *Bacillus cereus* (voir également note de bas de page n°19).

*

**

¹⁹ La leptospirose, maladie cosmopolite, pourrait être à l'origine d'hématuries chez le dromadaire (Higgins, 1986). La leptospirose est notamment responsable chez les bovins de fièvre, anorexie, dyspnée, ictère, hémoglobinurie, avortements.

En 1921, Donatien a décrit une pathologie du dromadaire en Tunisie, localement appelé "El Ghedda" (le mot Ghedda en arabe sous-entend la notion de tumeur), et il la classait dans le groupe des "septicémies hémorragiques". Cette maladie était caractérisée par une atteinte exclusive des dromadaires, un taux de morbidité de 50% au niveau d'un troupeau, de la fièvre, un abattement important des animaux, du larmolement, une dyspnée et surtout une inflammation douloureuse des ganglions préscapulaires qui pouvaient dans certains cas se fistuler. D'autres signes accompagnaient occasionnellement ce tableau clinique : diarrhée hémorragique, toux, avortements. La mortalité pouvait être importante surtout chez les chamelons. Les lésions étaient essentiellement constatées au niveau des ganglions lymphatiques. Des lésions de pneumonies étaient occasionnellement observées et "deux Streptocoques" ont été isolés à partir d'un poumon lésé. Donatien concluait sa publication par : "Tandis que chez les autres espèces, on a pu établir les effets pathogènes de certains microbes, des *Pasteurella* notamment, en tant qu'agents secondaires, aucun microbe de cette sorte n'a pu être mis en évidence chez le dromadaire. Les virus primitifs ou secondaires du Ghedda restent donc totalement inconnus".

La description d'hypertrophie ganglionnaire préscapulaire pourrait évoquer la lymphadénie caséuse causée par *Corynebacterium pseudotuberculosis*, et fréquente chez le dromadaire. Mais, les ganglions dans ce cadre clinique sont fermes et indolores et il n'y a pas de symptômes généraux marqués. De plus, des streptocoques ont été isolés d'une lésion pulmonaire.

2.4.3. Le complexe des maladies respiratoires

Mannheimia (Pasteurella) haemolytica est considérée comme une espèce importante chez les animaux domestiques. Les facteurs prédisposants sont d'une grande importance dans l'initiation du complexe respiratoire.

Dans un premier temps, seront détaillées, ci-dessous, les données connues chez les bovins, et les petits ruminants, en intégrant pour ces derniers également les infections à *Pasteurella trehalosi*.

2.4.3.1 Présentation du complexe respiratoire des bovins et des pasteurelloses des petits ruminants

Les informations générales relatives aux pasteurelloses des ruminants sensu stricto sont issues des ouvrages de Adlam et Rutter (1989) et Merck (1998).

i. Complexe respiratoire des bovins

L'expression clinique respiratoire, lors de ce complexe, est consécutive à des stress comme les transports (d'où le nom de fièvre des transports ou "shipping fever" ou "shipping fever pneumonia" donné à la mannheimiose à *Mannheimia haemolytica*), les regroupements d'animaux, les mauvaises conditions climatiques ou les changements brutaux d'alimentation. Les infections respiratoires virales ou mycoplasmaïques constituent aussi des facteurs prédisposants en favorisant la multiplication locale de *Mannheimia haemolytica* et en altérant les mécanismes de défense locale.

À la faveur de l'inspiration, les bactéries sont entraînées dans les voies respiratoires profondes et colonisent les alvéoles où elles se multiplient abondamment. Le rôle des facteurs

prédisposants est corroboré par les infections expérimentales qui sont plus faciles à obtenir chez des animaux soumis à un brusque changement climatique ou préalablement inoculés avec un virus respiratoire.

Cliniquement, on observe une atteinte de l'état général (fièvre, abattement), une dyspnée sévère et souvent, la mort des animaux en 24 à 48 heures. Les lésions consistent en une pleuropneumonie ou une pneumonie broncho-alvéolaire fibrineuse ou fibrino-hémorragique avec présence de foyers de nécrose.

Le schéma de la progression de la maladie chez les bovins peut être résumé (figure II) à partir des revues suivantes de Gonzalez et al. (1993), Ames et al. (1985) et Whiteley et al. (1992).

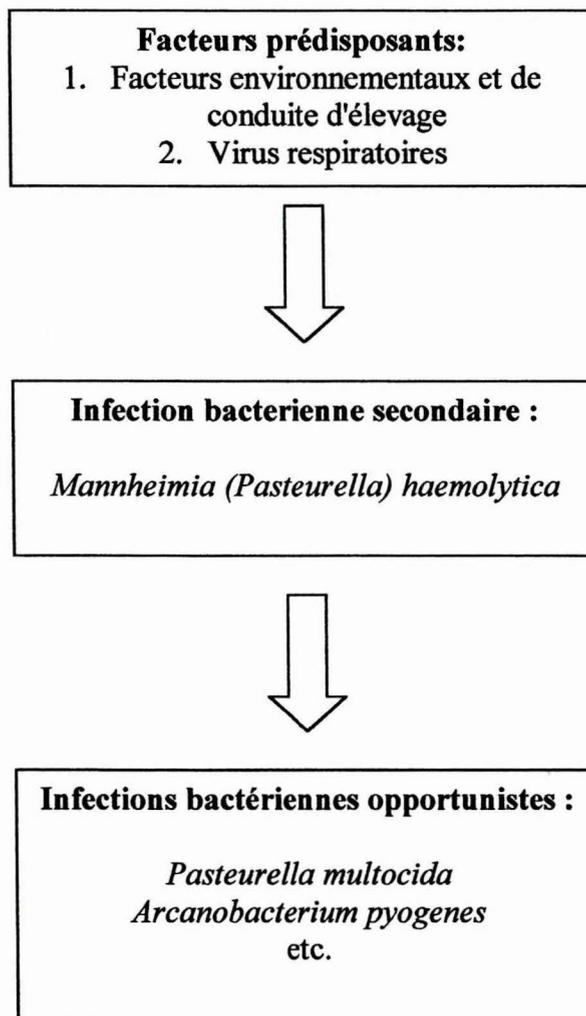


Figure II: schéma de la progression du complexe des maladies respiratoires chez les bovins

ii. *Pasteurelloses des petits ruminants*

ii.1 Mannheimiose

Les infections cliniques se traduisent soit par des troubles respiratoires et/ou des septicémies soit par des mammites. Pour les troubles respiratoires et septicémies, des facteurs associés sont nécessaires à une expression clinique : changements climatiques, absence d'hébergement en bergerie, concentration excessive d'animaux, transports, infections virales, mycoplasmoses (*Mycoplasma ovipneumoniae*), bordetellose (*Bordetella parapertussis*), pasteurellose (*Pasteurella multocida*), ehrlichioses (*Ehrlichia phagocytophila*), trypanosomoses (en Afrique du Sud) et carences alimentaires (notamment en cuivre). Chez les adultes, un épisode typique de mannheimiose débute par quelques cas de mortalité. Un examen du troupeau révèle que quelques moutons présentent des signes respiratoires modérés (jetage séreux, toux). Ensuite, les signes cliniques s'aggravent et consistent en une pneumonie accompagnée de fièvre (40,6 °C à 42,6 °C). Certains individus succombent en quelques heures et les autres présentent des dyspnées graves. En l'absence de traitement, le taux de mortalité peut atteindre 10%. Chez les agneaux et les chevreaux, les animaux âgés de moins de trois semaines sont rarement atteints mais si l'infection se développe, elle provoque des septicémies rapidement mortelles. Chez les animaux plus âgés, l'infection se traduit par un affaiblissement de l'état général suivi de mortalité. Les animaux qui survivent guérissent ou deviennent des malades chroniques. Au-delà de trois mois, la majorité des animaux présente des signes de pneumonie comparables à ceux observés chez les adultes.

ii.2 Infection à *Pasteurella trehalosi*

Sous l'influence d'un stress comme le transport, le changement de régime alimentaire (passage d'une alimentation pauvre à une alimentation plus riche), le froid ou l'humidité, le germe se multiplie et se localise notamment dans les poumons. Dans ces localisations secondaires, *Pasteurella trehalosi* se multiplie rapidement et provoque la mort par choc endotoxinique en 6 à 8 heures.

Compte tenu de l'évolution très rapide, les signes cliniques sont rarement observés. Ils débutent par un abattement, une anorexie, une répugnance au déplacement et de la fièvre. Ultérieurement, les animaux se couchent, présentent une prostration intense, une dyspnée et un liquide mousseux s'écoule de leur bouche. La maladie est parfois appelée la pasteurellose septicémique ("septicaemic pasteurellosis"), à ne pas confondre donc avec la septicémie hémorragique des bovins due à *Pasteurella multocida* B et E. Mais, il s'agit plus d'une maladie systémique que d'une véritable septicémie. En effet, les bactéries sont isolées en grand nombre des poumons, des amygdales, de la rate, des lésions œsophagiennes et hépatiques alors qu'elles sont présentes en nombre plus faible dans le sang. A l'autopsie, on note un écoulement nasal mousseux et teinté de sang, de petites hémorragies sous-cutanées ou musculaires, des hémorragies importantes de la plèvre, du péricarde, de l'endocarde et du péritoine, une congestion de la trachée et des bronches qui contiennent un liquide mousseux et hémorragique, une congestion pulmonaire, la présence de suffusions de 0,5 à 1 cm de diamètre sur le foie et les poumons, un exsudat sanguinolent dans la plèvre et le péritoine, la présence de taches hépatiques grisâtres évoquant une nécrose et une hypertrophie et un œdème des nœuds lymphatiques. Il est à remarquer que si l'évolution de la maladie est plus longue, il est possible d'observer des ulcères buccaux ainsi que des hémorragies et des ulcérations superficielles de la muqueuse pharyngée, de l'œsophage et de l'abomasum.

2.4.3.2 Le "complexe respiratoire" du dromadaire.

Les agents potentiels ont été indiqués dans le chapitre précédent. De nombreuses inconnues subsistent quant à l'intervention de ces agents infectieux mais il est logique de faire une analogie avec ce qui a été rappelé précédemment, en particulier en ce qui concerne le rôle, d'une part, de virus respiratoires prédisposants et, d'autre part, de bactéries des genres *Mannheimia* et *Pasteurella*.

Comme chez d'autres animaux, les *Pasteurella* spp. sont retrouvées chez les dromadaires sains. Elles ont été isolées des muqueuses respiratoires, principalement du tractus supérieur. Higgins (1986) suppose que l'expression clinique est déclenchée par un déséquilibre hôte-parasite provoqué par des parasitoses comme la gale et la trypanosomose ou par un stress climatique.

Lors d'une étude de l'infestation de dromadaires soudanais par *Cephalopina titillator*, Musa *et al.* (1989) ont mis en évidence la présence de *P. haemolytica* au niveau de lésions pulmonaires. Des *Klebsiella* sp. (lésions pneumoniques) et *Corynebacterium* sp. (abcès) ont été également isolées des poumons. Cette infestation parasitaire pourrait, comme dans le cas de l'oestrose ovine, être un facteur prédisposant au développement de l'infection de *M. (P.) haemolytica*.

Wernery et Kaaden (1995) soulignent que bien que les infections à *Pasteurella* (*P. multocida* et *P. haemolytica*) soient largement répandues chez les moutons, les chèvres et le bétail dans les Emirats-Arabs-Unis (EAU), et que les dromadaires vivent en étroite relation avec les petits ruminants, il n'y a pas de preuve ni de rapport d'un seul cas de "pasteurellose" parmi les 3000 dromadaires utilisés dans un cadre sportif (courses) pendant une période de 7 ans. Ceci peut être dû, d'après les auteurs, aux excellentes conditions d'élevages prévalant aux EAU et qui ne favorisent pas l'émergence de ces pathologies.

Chez les dromadaires, les différents facteurs du "complexe respiratoire" restent à identifier : facteurs prédisposants, déclenchants, précipitants, aggravants etc.. Des parasites pourraient également intervenir, en particulier :

- *Trypanosoma evansi* pour son rôle vraisemblablement immunodépresseur ;
- *Cephalopina titillator* pour son rôle potentiel prédisposant et favorisant ;
- de même que l'haemonchose et la gale, de part leur action générale sur l'état de l'animal ;
- et des strongles respiratoires comme *Dictyocaulus filaria*.

L'épidémiologie des parasitoses est étroitement liée aux conditions climatiques. Que ce soit pour les strongyloses et la trypanosomose, la saison des pluies permet respectivement le développement des œufs larves et vecteurs. Pour Richard (1975), les affections respiratoires ont des relations étroites avec le parasitisme gastro-intestinal.

En Ethiopie, la répartition des pathologies des dromadaires figure sur le tableau suivant (d'après Richard, 1975). Les pluies sont observées, dans les zones d'élevage des dromadaires, en juillet et août. Cependant, étant donné le climat de ces zones, ces pluies sont certaines années très faibles.

	Jan.	Fév.	Mar.	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept	Oct.	Nov.	Déc.
<i>Hivernage</i>							Pluies					
Haemonchose	Chronique						Aiguë		Chronique			
Autres strong.												
Trypanosomose												
Gale												
Pathologie respiratoire												
Patho. digestive												
<i>Sous-alimentation</i>												

Tableau I : distribution annuelle des principales pathologies du dromadaire en Ethiopie. (d'après Richard, 1975). L'intensité du grisé est relative à la prévalence des différentes pathologies.

La pathologie respiratoire habituellement observée ne se manifeste pas sous une forme épizootique et est saisonnière : elle débute au cours de la saison des pluies pour se terminer en janvier-février. Les facteurs prédisposants pourraient être, en première approche, les précipitations et températures et les parasitoses, elles-mêmes corrélées aux conditions climatiques.

Par analogie avec ce qui est décrit chez les bovins, le schéma hypothétique suivant peut être proposé (figure III), en positionnant les différents facteurs :

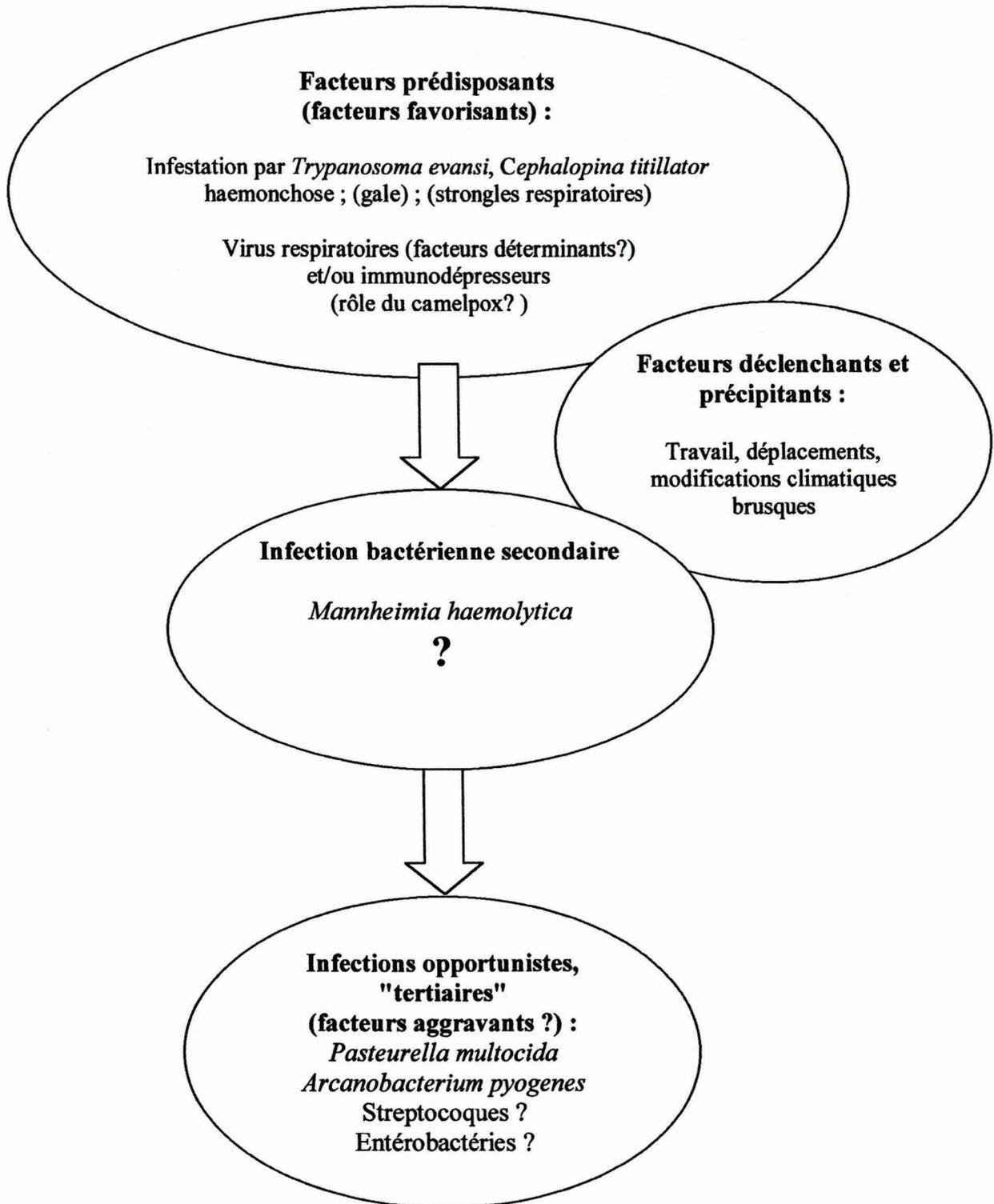


Figure III : hypothèses relatives à la progression du "complexe respiratoire" des dromadaires

Après cette revue, il apparaît que le dromadaire "emprunte" ses pathologies respiratoires :

- aux bovins, caprins, ovins : tuberculose, septicémie hémorragique, virus respiratoires, bactéries ;
- aux équidés : certaines bactéries et virus (il partage par ailleurs la même sensibilité à *T. evansi*) ;
- à l'homme : la peste (*Yersinia pestis*), certains streptocoques.

Des études sont nécessaires pour déterminer précisément, chez les dromadaires, l'identité des bactéries de la famille des *Pasteurellaceae*, en l'occurrence des genres *Pasteurella* et *Mannheimia* et leur implication d'une part, dans la septicémie hémorragique et, d'autre part, dans le complexe des maladies respiratoires.

Parmi les virus respiratoires, le virus PI-3 apparaît comme celui dont la séroprévalence est la plus importante. Concernant les autres virus, les faibles taux sérologiques observés pourraient être le reflet d'une faible réceptivité des dromadaires. Des isollements et caractérisations virales apparaissent indispensables pour identifier, en particulier, les éventuels virus spécifiques des dromadaires. Il est probable qu'il existe des souches, variants ou espèces propres à *Camelus dromedarius*. Dans ce cadre, il est à souligner que pour les virus PI-3, deux espèces sont reconnues (le PI-3 bovin et le PI-3 ovin), pour les virus RSV, deux espèces également (RSV bovin et humain) et que l'existence d'espèces spécifiques de ces genres pour le dromadaire ne peut être exclue. Cela concerne également probablement les *herpesvirus* et les *pestivirus*. D'autres virus comme les *coronavirus* (Storz *et al.*, 2000a,b) ont été mis en évidence récemment comme cause primaire dans la survenue de "shipping fever" chez les bovins. Les *adenovirus*, dont différentes espèces sont reconnues, pourraient également jouer un rôle au sein de ce complexe respiratoire. Enfin, les facteurs prédisposants, déclenchants etc. restent à déterminer avec rigueur.

Les maladies présentées ont des formes épidémiologiques de type sporadique, enzootique ou éventuellement épizootique (influenza) mais jamais décrites au niveau d'un pays ou d'un ensemble de pays. Les maladies respiratoires et la septicémie hémorragique sont enzootiques et surviennent de façon au niveau d'animaux et/ou d'élevages sous l'influence de facteurs de risques, essentiellement pour le complexe respiratoire.

*

**

La pathologie infectieuse du dromadaire inclut quelques maladies formellement identifiées et différents syndromes dont l'étiologie reste à préciser. De nombreux travaux basés sur des isollements bactériens et viraux et sur la détection d'antigènes et d'anticorps ont été menés mais, ils ne permettent pas toujours de mettre rationnellement en relation ces agents microbiens avec la pathologie observée. Des infections expérimentales et des approches épidémiologiques sont nécessaires afin de préciser le rôle de ces agents microbiens ainsi que les différents facteurs de risque.

CIRAD-Dist
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE
Baillarguet

1. Chronologie des événements : observations et résultats préliminaires

1.1. Introduction : présentation succincte de l'Ethiopie et du secteur élevage²⁰

L'Ethiopie, fait partie de la Corne de l'Afrique avec l'Erythrée, Djibouti et la Somalie²¹, et s'étend sur une superficie de 1.109.000 km², dont les deux tiers sont des terres d'altitude. Les autres pays limitrophes, le Soudan et le Kenya, font partie de la zone "Afrique de l'Est" (cf. carte en annexe I).

L'estimation de sa population en 1998 était de 61 millions d'habitants, le PNB par habitant de 100\$ et l'espérance de vie de 41,5 ans. Environ 85% de la population vit en milieu rural. Le rapport sur le développement humain 1997 du Programme des Nations Unies pour le développement (PNUD) plaçait l'Ethiopie au 170^{ème} rang sur un total de 174 pays, sur la base de son indice de développement humain associant facteurs économiques et résultats dans les domaines de l'éducation, de la santé, de la nutrition et de l'espérance de vie (FAO, 1997).

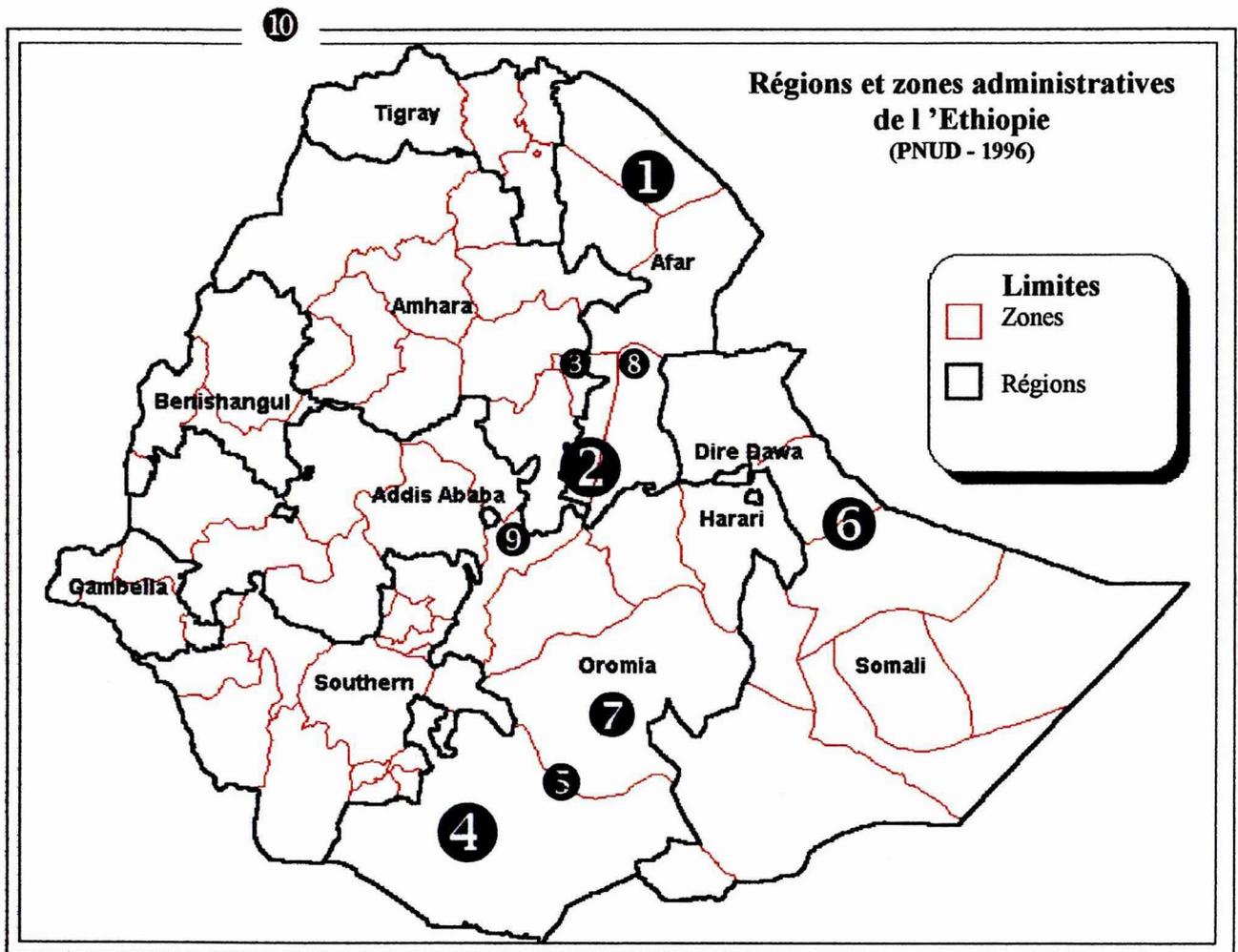
L'Ethiopie détient un potentiel de développement agricole considérable. Le secteur agricole assure plus de 50% du PIB. A l'heure actuelle, les problèmes dominants sont la dégradation des sols, la fragmentation des terres, l'absence de technologies satisfaisantes et accessibles, et l'insuffisance des infrastructures physiques et institutionnelles. Il y a quatre systèmes principaux d'exploitation : l'agriculture de subsistance, le nomadisme pastoral, l'agro-pastoralisme et, minoritaire, l'agriculture commerciale moderne (Faye, 1990).

Le cheptel éthiopien est le plus important d'Afrique et le neuvième au monde. Mais, il est caractérisé par une productivité basse due au système pastoral à faibles intrants et rendements. (Faye, 1990). Le cheptel de ruminants *sensu lato* était estimé en 1999 à 75 millions : 35 millions de bovins, 22 millions d'ovins, 17 millions de caprins et 1 million de dromadaires. Les équidés sont au nombre de 2,8 millions pour les chevaux, de 5 millions pour les ânes et de 600.000 pour les mulets (FAO, 2000).

Depuis 1995, l'Ethiopie est une fédération ("République Fédérale et Démocratique Ethiopienne") de neuf états régionaux autonomes, constitués principalement sur la base de caractéristiques ethniques et linguistiques (carte II).

²⁰ FAO. 1997. Rapport spécial. Mission FAO/PAM d'évaluation des récoltes et des disponibilités alimentaires en Ethiopie Système mondial d'information et d'alerte rapide sur l'alimentation et l'agriculture de la FAO. 19 décembre 1997. Le Monde. 2000. S. Marti (Direction). Le bilan du monde. Analyse de 174 pays et des 26 régions françaises.

²¹ La Somalie, ou République de Somalie, est actuellement scindée en deux régions économiquement autonomes, le Somaliland au Nord et le Puntland au Sud. Ces entités ne sont pas reconnues par la communauté internationale.



Carte II : découpage par régions et zones de l'Éthiopie et localisation des lieux visités et mentionnés dans le chapitre 'Observations et hypothèses'.

1.2. Epizootie de 1995 – 1996

1.2.1. Observations, données et échantillons recueillis sur le terrain.

Le positionnement des lieux cités sur la carte II est symbolisé par les chiffres ❶, ❷, etc..

Les premiers foyers, caractérisés par un taux de mortalité très élevé (80-90%) ont été signalés à partir de mars 1995 dans le Nord de la région Afar ❶. Les premières investigations des Services Vétérinaires Ethiopiens ont abouti à la suspicion d'une "pasteurellose" incluant la septicémie hémorragique. Les premiers traitements antibiotiques (association de pénicilline et de streptomycine, tétracyclines) se sont avérés efficaces. Les premiers prélèvements parvenus au National Veterinary Institute (NVI) ont été analysés par le service de bactériologie du NVI mais n'ont pas permis d'isoler de bactéries. Cependant, l'hypothèse de « pasteurellose » a perduré. La maladie progressait et les taux de morbidité et de mortalité étaient toujours très élevés.

Le 31 octobre 1995, l'agence de presse Reuter rapportait : « *Five Ethiopian camel herders have committed suicide because of a mysterious disease killing up to 300 animals every day* ». Néanmoins, le 5 novembre, un journal national (*The Ethiopian Herald*) contestait ce rapport, qu'il considérerait comme exagéré, et avançait le nombre de 30 animaux morts par jour.

En octobre 1995, dans la région d'Awash (Afar) ❷, le premier foyer était observé et les premiers animaux autopsiés.

Les symptômes observés étaient un larmolement bilatéral, du jetage (de muqueux à muco-purulent), une dyspnée et de la toux. Ces signes étaient constants. Les animaux avaient pour la plupart le cou étendu et les naseaux dilatés. L'œdème des fosses supra-orbitales était un signe fréquent. Après quelques jours d'évolution, les animaux se positionnaient en décubitus ventral ou latéral et mouraient. L'état général (embonpoint) des animaux était bon.

Les lésions nécropsiques observées pour trois dromadaires étaient les suivantes :

1. Dromadaire C0 : l'animal était malade depuis cinq jours. Il y avait présence de lésions pulmonaires importantes (congestion, pétéchies, pleurésie) et de liquide thoracique. Des échantillons de foie, poumon, et liquide thoracique ont été prélevés.
2. Dromadaire C1 : des hémorragies (pétéchies) ont été constatées sur les poumons et un épaississement des septums interlobulaires. Le cœur était hypertrophié et présentait également des pétéchies. Il y avait une congestion du tractus intestinal. Des échantillons d'os long et de poumon ont été prélevés.
3. Dromadaire C2 : il y avait des pétéchies sur les poumons et le cœur. Des échantillons de poumons, de rate, de cœur, de ganglions médiastinaux, de sang total, de sérums, d'os long ont été prélevés.

Il est à souligner que les éleveurs étaient d'une grande méfiance vis-à-vis des services vétérinaires éthiopiens pendant cette épizootie, rendant difficile la réalisation de prélèvements, et que les conditions de conservation des échantillons n'étaient pas correctes, en raison de l'absence d'une chaîne de froid adaptée dans les zones semi-arides et arides de l'Ethiopie.

En novembre 1995, le NVI a procédé à des essais de vaccination contre la "pasteurellose" (*P. multocida* A et B) sur neuf dromadaires de la zone de Melkasedi (trois chamelles pleines ; un mâle ; un chamelon ; quatre chamelles en lactation) et quatre dromadaires d'Awash Arba (chamelles en lactation), (zone Awash: ②). Les premières conclusions ont porté sur l'innocuité des vaccins utilisés. Il n'y a pas eu de suivi de ces animaux sur le long terme.

En décembre 1995, dans la zone de Shoa-Robit ③, zone entre la région du Shoa et la région Afar, des formes nerveuses (parésies, paralysies du train postérieur) ont été observées sur des dromadaires affectés 4 à 6 semaines plus tôt par un syndrome respiratoire.

En janvier 1996, le PNUD (Emergencies Unit for Ethiopia) rapportait que "*A 1995 epidemic among camels ravaged the entire region west of the main Addis-Asab roadway, impoverishing thousands of families.*"

En juin 1996, un rapport du SORDU (*Southern Rangelands Development Project*) pour la région Borana ④, où est élevé 30% de la population cameline éthiopienne faisait état de la survenue de cette pathologie respiratoire. Le nom local donné à cette maladie était *Furroo* (qui signifie jetage). C'était une pathologie fébrile hautement contagieuse caractérisée par du jetage nasal et oculaire et de la toux. Des avortements étaient fréquents avant la phase d'état (respiratoire) de la maladie. Plus précisément, les signes relevés pendant la phase d'état étaient les suivants : température de 40–41,6 °C, dépression, anorexie, larmoiement, jetage muco-purulent, toux, dyspnée, œdème important de la zone sous-maxillaire et animal agonisant en décubitus ventral au bout de quelques jours. Les lésions nécropsiques relevées étaient essentiellement pulmonaires: congestion et œdèmes pulmonaires, surface pulmonaire couverte par des plages de fibrine, liquide thoracique jaune. Il y avait également des "fluides" au niveau de la trachée, des bronches et des bronchioles.

En avril 1997, une mission était organisée dans la région de Negele ⑤ (Borana) afin de recueillir des informations relatives à l'épizootie de 1996. Après la visite de dix troupeaux et interrogation des éleveurs de la zone de Koradessa, il a été établi que le taux de morbidité avait été de 100% et les taux de mortalité de 8 à 36% selon les troupeaux (moyenne 24%). Les éleveurs rapportaient une baisse de la production laitière depuis la survenue de cette épizootie. L'état général des dromadaires au moment de notre visite était mauvais.

Mi-1996, une mission en région Somali (entre Jijiga et Degeh Bur) ⑥ permettait de collecter des échantillons (sérums), de relever des informations épidémiologiques, et de constater le mauvais état général des animaux ayant survécu à l'épizootie.

Dans la zone du Bale ⑦, les taux relevés par les services vétérinaires locaux lors du passage de la maladie étaient de 67% pour la morbidité, et de 19% pour la mortalité avant traitement antibiotique.

la Faculté de médecine vétérinaire de Debre-Zeit (Université d'Addis-Abeba) a effectué des recherches de *Trypanosoma evansi*. Elle a procédé à des analyses parasitologiques (frottis sanguins) dans la région Afar et a rapporté une prévalence importante de *T. evansi* où il existait depuis deux ans des difficultés d'approvisionnement en trypanocides.

Au cours du premier semestre 1996, des épizooties de PPR ont été suspectées chez les ovins et caprins, puis confirmées au laboratoire, dans les régions suivantes :

- Gewane ⑧ (Afar) : atteinte préférentielle des ovins (formes sévères);
- Awash ② (Afar) : atteinte préférentielle des ovins (formes sévères), caprins dans une moindre mesure
- Shoa-Robit ③ (zone intermédiaire entre les régions Shoa et Afar) sur des caprins, et sans atteinte des ovins élevés dans la même zone.

En 1994, à Debre-Zeit ⑨, un foyer de PPR (confirmation virologique ultérieure faite au CIRAD-EMVT, souche 'Ethiopia 94'), a été observé sur des caprins et ovins transportés depuis l'est de l'Ethiopie (région Ogaden). Il était caractérisé par une atteinte première et aiguë des ovins puis des caprins.

1.2.2. Premiers résultats de laboratoire

1.2.2.1 Ethiopie, NVI

En octobre et novembre 1995, les échantillons tissulaires ont été ensemencés sur différents milieux bactériologiques (bouillon et gélose tryptose avec et sans sérum de cheval ; pour bactéries aérobies et anaérobies et mycoplasmes). Une bactérie aérobie GRAM+ de forme coccoïde, se présentant sous la forme de chaînes a été isolée à partir d'un os long et de poumons²². Des souris ont été inoculées par cet isolat et ont succombé en 48 h. Une bactérie présentant les mêmes caractéristiques que la bactérie inoculée a été ré-isolée de ces souris. Des lapins inoculés n'ont montré aucun signe clinique (cette souche a été ensuite typée à l'Institut Pasteur de Paris et identifiée comme un *Streptococcus equi* subsp. *equi*, cf. *infra*).

Par une technique d'immuno-peroxydase (dot-blot)²³ en utilisant un anticorps polyclonal de *Mycoplasma* du groupe *mycoïdes*, l'échantillon de liquide thoracique (Dromadaire C0) s'est révélé positif. Cependant, la culture sur un milieu destiné à l'isolement de mycoplasmes a été négative.

Le 8 novembre 1995, en raison de:

- la progression très rapide de la maladie et de sa très large diffusion ;
- la présence d'un syndrome PPR sur les ovins et caprins dans la région Afar, confirmée par des tests ELISA d'immuno-capture d'antigènes ;

²² une souche bactérienne isolée de dromadaire au laboratoire régional de Dire-Dawa, identifiée comme étant une bactérie du genre *Pasteurella*, fut envoyé au NVI pour confirmation et typage mais les cultures transmises ne furent pas identifiées, par le service de bactériologie du NVI, comme des bactéries du genre *Pasteurella* mais également comme des coques GRAM+.

²³ Description de la technique in: Thiaucourt F. La pleuropneumonie contagieuse caprine: de l'observation clinique à la mise au point de techniques de diagnostic. Thèse. Université Paris XII-Val-de-Marne 1994; 347 p.

- la déclaration de trois foyers récents de peste bovine durant le dernier semestre 1994 dans le Tigray et le Nord de la région Afar ;
- l'existence de symptômes de type "rinderpest-like disease" sans descriptions de lésions érosives sur les muqueuses (sauf exception dans le Borana),

Un test ELISA d'immuno-capture (Libeau, 1998) pour la recherche d'antigènes des virus PPRV et RPV a été réalisé à partir des différents tissus.

Ces tests pour la détection des antigènes des virus PPR et RP ont été répétés à trois reprises et étaient positifs pour l'antigène PPRV pour les échantillons de l'animal C0 (foie et liquide thoracique).

Le 22 novembre 1995, le laboratoire de l'Institute for Animal Health (IAH, Pirbright, Grande-Bretagne), laboratoire de référence mondial pour la peste bovine, était contacté. En effet, à ce moment, le CIRAD-EMVT n'était pas opérationnel pour cause de transfert des laboratoires de Maisons-Alfort à Montpellier. L'accord de l'IAH reçu, les échantillons ont été expédiés en France au CIRAD-EMVT le 24 novembre 1995 et, ensuite, réexpédiés en Grande-Bretagne. Les résultats ne sont jamais parvenus officiellement au NVI mais, le 16 janvier 1996, il était officieusement signalé que « *a viral genome related to PPR virus genome* » avait été détecté par PCR.

Le 27 novembre 1995, lors d'une mission dans la zone d'Awash ② (Afar), des écouvillons nasaux et oculaire étaient collectés sur cinq dromadaires (cinq jetages et un oculaire) et un test d'immuno-capture était réalisé. Il s'est révélé positif pour l'écouvillon oculaire.

Le 6 décembre 1995, un écouvillon nasal et un écouvillon oculaire étaient prélevés à Melkawerer ② (Afar). L'écouvillon oculaire s'est révélé positif pour le test d'immuno-capture d'antigènes PPRV.

Un kit pour la détection d'adénovirus (IDEIA™ Adenovirus, DAKO n°K6021, kit d'immuno-capture) et des kits d'anticorps monoclonaux marqués à la fluorescéine pour la détection d'antigènes viraux - adénovirus bovin, BRSV et PI-3 - et de *Chlamydia* spp. ont été utilisés. Les résultats ont été négatifs pour l'ensemble des échantillons des animaux C0, C1 et C2.

Le 2 mars 1996, deux moutons et deux chèvres étaient inoculés avec le matériel biologique du dromadaire C0 (broyat foie + liquide thoracique, inoculation par voie sous-cutanée). Une hyperthermie (température matinale supérieure à 40°C) était constatée pour un ovin, quatre jours après l'inoculation. Il a été autopsié et des échantillons ont été collectés et analysés ultérieurement au CIRAD-EMVT (cf. *infra*, paragraphe reproduction expérimentale).

1.2.2.2 CIRAD-EMVT, France

Un séjour en France en avril et mai 1995 a été organisé dans le but d'amener les échantillons et de compléter nos investigations avec l'équipe du Dr Adama DIALLO (Programme Santé Animale du CIRAD-EMVT, service de virologie) :

- Les recherches d'anticorps et d'antigènes par les tests ELISA ont été reproduites et trouvées positives. Des réactions d'amplification génique (PCR) ont été mises en œuvre en utilisant différentes amorces pour le genre Morbillivirus puis spécifiquement pour le PPRV. Ces analyses ont révélé la présence d'ARN viral du genre Morbillivirus et plus

précisément de virus PPR. La mise en culture des tissus sur cellules (cellules de rein de mouton et cellules VERO) n'a pas permis d'isoler de virus.

- La souche bactérienne, coque GRAM+, isolée au NVI, a été transmise à l'Institut Pasteur de Paris pour identification et typage. Les analyses bactériologiques conduites dans le laboratoire du Dr Martine KIREDJIAN ont mené à l'identification de *Streptococcus equi* subsp. *equi*.
- Les tissus de l'animal (Ovin 001) inoculé au NVI par un broyat de tissu du dromadaire positif - et montrant une hyperthermie quatre jours après inoculation - ont été analysés par PCR et se sont révélés positifs pour l'échantillon de poumon (les tissus de cet animal serviront ultérieurement à l'inoculation d'autres animaux, cf. partie reproduction expérimentale).

Ces données ont été transmises au Ministère de l'Agriculture Ethiopien (MOA : Ministry of Agriculture) dès notre retour en Ethiopie.

1.2.3. Situation dans les pays limitrophes

Des données ont été collectées ultérieurement au Soudan, en Erythrée, à Djibouti, en Somalie et au Kenya.

Au Soudan (University of Khartoum, Faculty of Veterinary Science), l'information a été transmise le 15 décembre 1997. A partir de l'été 1994, une sévère maladie respiratoire a affecté les dromadaires de ce pays. Il n'y a pas eu d'autres espèces atteintes. Les premiers foyers ont été enregistrés dans la région du Butana et de Kassala ⑩, puis d'autres sont apparus en automne au sein de troupeaux venant d'Erythrée. Des foyers ont été également déclarés dans la région du Kordofan. L'hypothèse des services vétérinaires soudanais portait sur une infection mixte causée par un virus respiratoire (ils suspectaient plus précisément l'intervention du virus parainfluenza-3) et par des *Pasteurella* spp. Cependant, il n'y a pas eu d'isolements microbiologiques, ni d'investigations sérologiques. Le nom donné localement était celui de "trekking fever" en référence à la "shipping fever" des bovins. Il n'y a pas eu de réponse thérapeutique avec l'utilisation d'oxytétracyclines mais une très bonne réponse avec l'association pénicilline-streptomycine.

En 1998, le Directeur du Laboratoire National Vétérinaire a confirmé (comm. personnelle) la survenue de cette épizootie. En outre, il a précisé que des sérologies PPR avaient été réalisées, en dehors de tout contexte pathologique (avant cette épizootie) et ont montré des résultats positifs (résultats non publiés).

Les Services Vétérinaires de Djibouti ont adressé le 1 décembre 1995, au Ministère Français de la Coopération, une demande d'aide d'urgence pour une « épidémie d'affections respiratoires chez les dromadaires ». Cette maladie a fait son apparition en septembre 1995 dans les districts d'Ali Sabieh, de Dikhil et de Djibouti puis dans les districts de Tadjoura et d'Obock. Les symptômes décrits étaient de type pulmonaire et l'utilisation d'oxytétracyclines a permis de réduire la mortalité. Les éleveurs signalaient, par ailleurs, la même maladie en Ogaden, dans la région de Dire Dawa et dans la vallée de l'Awash. Il n'y a pas eu de prélèvements effectués.

En Erythrée, les services vétérinaires ont rapporté, début 1995, une maladie respiratoire très contagieuse avec des descriptions cliniques similaires à celles décrites en Ethiopie. Le

traitement antibiotique a été plus ou moins efficace. Le laboratoire d'Asmara a effectué des analyses bactériologiques (recherche de "pasteurelles") qui se sont révélées négatives.

En Somalie, Le Dr Giuseppe Di Giulio, de l'ONG "Terra Nouva", a constaté (communication personnelle), dans la région de Belet Uen (Bassin du Jubba), "des lésions pleuropneumoniques", rappelant les lésions de PPCB, sur quelques animaux autopsiés. Dans quelques cas, des arthrites fibrino-purulentes ont également été décrites. Les symptômes relevés étaient les suivants : fièvre, raideurs musculaires, jetage, larmolement, toux, détresse respiratoire et, en fin d'évolution de la maladie, de la diarrhée. Les éleveurs précisaient que certains animaux mouraient en deux à trois jours sans présenter de signes spécifiques. Des dromadaires traités avec de l'oxytétracycline ou de la tylosine, et suivis pendant quelques temps, ont guéri.

En mai 1996, le journal Somalien *El Wasat* (rapporté le 2 mai par *Le Courrier International*) signalait "*la survenue de la maladie des chameaux fous frappant de plein fouet le nord de la Somalie. Entre 60 et 100 chameaux y trouvent la mort tous les jours avec comme signes observés une paralysie totale et des saignements du nez*".

Les services vétérinaires du Kenya ont déclaré une pathologie similaire dans la partie nord du pays.

1.2.4. Premiers bilans

Le 7 décembre 1995, un premier bilan était rédigé à l'intention des autorités vétérinaires éthiopiennes. Ce rapport présentait les résultats préliminaires. L'hypothèse de l'intervention d'un virus apparenté au PPRV, pouvant avoir un rôle immunodépresseur prédisposant à des infections secondaires, était émise. Les autres hypothèses étiologiques concevables étaient décrites et brièvement discutées.

En mai 1996, un bilan, réalisé par le Ministère de l'Agriculture, établissait que l'épizootie sévissait depuis 14 mois dans la Corne de l'Afrique. Le Soudan, l'Erythrée, Djibouti, et, en Ethiopie le Tigray, étaient mentionnés comme pays et région touchés avant mars 1995. Puis, entre mars 1995 et mai 1996, les régions d'Ethiopie affectées étaient la région Afar, l'Oromia et la Somali²⁴. En mai et juin 1996, il s'agissait du Borana, zone de la Région Oromia.

Les taux de morbidité s'échelonnaient de 90 à 100%, les taux de mortalité de 5 à 65%. L'usage d'antibiotiques, en particulier les tétracyclines, a permis de réduire les taux de mortalité.

En septembre 1996, le Directeur du CIRAD-EMVT informait officiellement la FAO des résultats virologiques (détection d'antigènes et d'ARN du PPRV), bactériologiques (isolement et typage de *Streptococcus equi* subsp. *equi*) et des analyses en cours.

En avril 1997, au NVI, la mise en place d'une infection expérimentale avec des souches de PPRV a été envisagée. A cet effet, une mission d'exploration a été organisé à Negele (Borana) afin de sélectionner des animaux (sérologie) et d'évaluer rétrospectivement la situation lors de l'épizootie²⁵.

²⁴ la région Somali en Ethiopie (correspondant à l'Ogaden) est différente du pays Somalie.

²⁵ En octobre 1997, un accord a été signé entre le NVI et le CIRAD-EMVT pour procéder à des infections expérimentales, en particulier avec des souches PPRV.

1.3. Pathologies camelines rapportées en 1997 – 1998

Suite à l'épizootie de 1995 à 1996, les bureaux d'Etats régionaux aux Services Vétérinaires du Ministère de l'Agriculture (MOA, DSV) ont déclaré des pathologies et des « résurgences » de la maladie (désignées comme telles par les Services Vétérinaires Ethiopiens). Les animaux atteints étaient en général les jeunes. Des lésions de variole cameline et/ou d'écthyma contagieux - le diagnostic différentiel est difficile entre ces deux maladies qui peuvent également coexister - ont été déclarées à plusieurs endroits.

En septembre 1997, les services vétérinaire de l'Etat régional Afar (Ayssaita) rapportaient une maladie des dromadaires, caractérisée par de la toux et un « gonflement » de la tête. Il n'y a pas eu de précision sur le nombre d'animaux malades et morts.

En octobre 1997, les services vétérinaires de l'Etat régional Somali (Ogaden) rapportaient l'apparition d'une "maladie respiratoire" affectant les dromadaires dans la zone de Shinile, avec une survenue des premiers foyers à la limite de l'Etat régional Afar.

En novembre 1997, l'Etat Régional Afar transmettait au MOA un rapport relatif à une maladie cameline ayant débutée en septembre dans la zone 3. Ce rapport mentionnait également la mort de 300 dromadaires en zone 4 pendant le mois de juillet 1997. Des lésions de type variole cameline étaient constatées.

Un courrier de la FAO faisait état, en novembre 97, de l'information suivante : « *the camel disease has come up again in Ethiopia* ». Des échantillons étaient transmis au NHI à Pirbright par le MOA Ethiopien. Il n'y a pas eu, à notre connaissance, de résultats publiés.

En septembre 1998, une ONG de l'Ogaden signalait une «résurgence de la maladie cameline» dans la région d'El Kere (Ogaden), proche de la frontière du Somaliland.

En janvier 98, M. Younan, lors du 9^{ème} congrès AITVM (Harare, Zimbabwe, 14-18 septembre 1998) rapportait avoir étudié au Kenya une maladie cameline dans la province du nord de la vallée du Rift. Il signalait la mort de huit animaux du même troupeau en une semaine. Une souche bactérienne a été isolée du tractus digestif d'un dromadaire ayant succombé après avoir présenté une diarrhée hémorragique. L'auteur avance qu'il pourrait s'agir d'une souche de *M. (P.) haemolytica* mais il n'y a pas eu d'identification bactériologique (biochimique et sérologique). Les recherches de *T. evansi* ont été négatives.

En février 98, un message de la FAO diffusé sur le système ProMED²⁶, faisait un bilan des épizooties constatées dans le contexte climatique très difficile (pluies très importantes, inondations, etc.). Pour les dromadaires, des avortements, des mortalités chez les jeunes animaux, des foyers de poxvirose(s) et des pathologies respiratoires étaient rapportés. La fièvre de la vallée du Rift a été mise en évidence en Somalie et au Kenya.

²⁶ ProMED : système électronique de surveillance mondiale (déclarations des maladies humaines et animales ; discussions). URL: www.promedmail.org:8070/promed/promed.home

2. Bilan clinique et lésionnel

La maladie s'étendait sur trois à quinze jours, avec une moyenne de dix jours sans traitement antibiotique. Les dromadaires malades retrouvaient un état sanitaire satisfaisant en deux à trois semaines après un traitement antibiotique parentéral (oxytétracyclines ou pénicilline et streptomycine).

2.1. Bilan clinique

Après un début brutal, identifié comme une phase prodromique, caractérisé par une température élevée, de la dépression, de l'anorexie, et des avortements dans certaines régions, la phase d'état était caractérisée par un syndrome respiratoire sévère : prostration, larmolement bilatéral, jetage très important (de séreux à muco-purulent, avec pour certains animaux, des croûtes obstruant les cavités nasales), dyspnée, respiration abdominale et toux.

Des « gonflements » (œdèmes) de différentes parties de la tête étaient fréquemment observés et rapportés.

Plus rarement, une hypertrophie de la région sous-maxillaire (auge) et de la poitrine, une diarrhée non hémorragique, ainsi que des signes nerveux (parésies, paralysies), étaient observés.

L'animal se positionnait au bout de quelques jours en décubitus ventral avant de mourir.

Le tableau clinique était donc dominé par des symptômes respiratoires concernant l'ensemble du tractus.

2.2. Bilan lésionnel

Les lésions, quasi constantes, observées étaient des lésions de broncho-pneumonie ainsi qu'une hypertrophie de ganglions lymphatiques rétromaxillaires, préscapulaires et médiastinaux. Des congestions de divers organes, dont dans certains cas les intestins et des pétéchies sur divers organes (poumons, reins, cœur, intestins) étaient également décrites et observées. La présence de liquide thoracique et de plages de fibrine (pleurésie) était constatée relativement fréquemment.

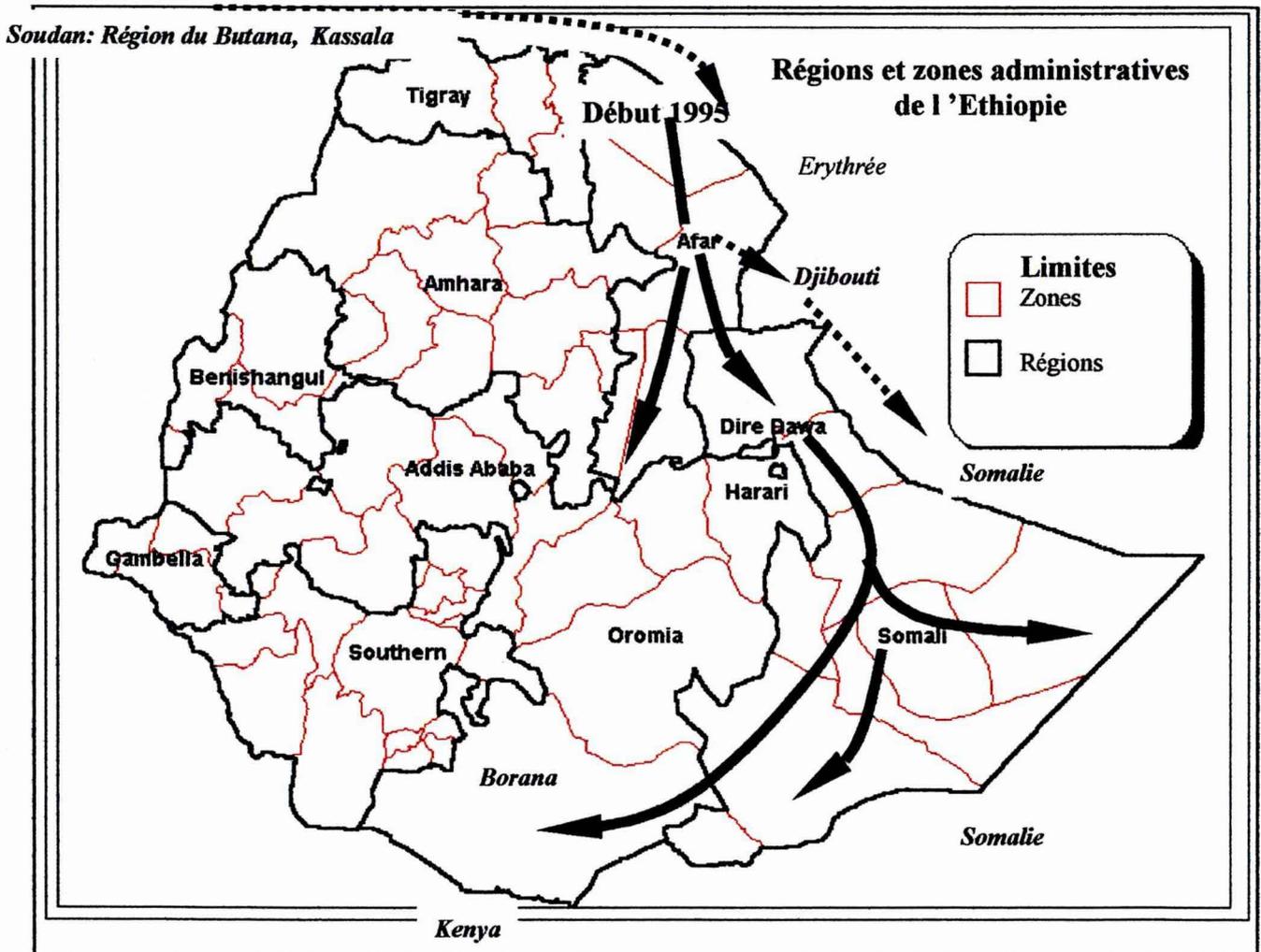
Des lésions buccales (érosions des muqueuses) étaient rapportées (mais personnellement non observées).

Le tableau nécropsique était donc dominé par des lésions de broncho-pneumonie et de pleuropneumonie ainsi que par une hypertrophie ganglionnaire.

3. Synthèse épidémiologique

3.1. Evolution dans l'espace et le temps

La maladie a débuté en Ethiopie en mars 1995 (prise en compte en mai 1995 par les services officiels), pendant la saison sèche. Toute la population cameline éthiopienne a été touchée de mars 1995 à juin 1996. Les informations relatives aux pays limitrophes permettaient également de confirmer la progression de cette pathologie depuis le Soudan (mi-1994) jusqu'au Nord du Kenya (mi- à fin 1996). La vitesse de progression de la maladie a pu être estimée à 100 à 150 km par mois. La carte III schématise la progression de la maladie dans les zones d'élevage du dromadaire en Ethiopie.



- ➔ Progression de l'épizootie en Ethiopie
- ⋯➔ Progression supposée de l'épizootie dans les pays limitrophes

Carte III : progression de la maladie en 1995-1996

3.2. Hôtes

Pour les dromadaires, l'ensemble des troupeaux était touché sans distinction d'âge ou de sexe. Il n'y a pas eu de rapports relatifs à l'existence d'une maladie similaire chez les ruminants domestiques et sauvages de ces régions, à l'exception des épizooties de PPR qui sévissaient parmi les petits ruminants en 1995 et 1996.

Roeder *et al.* (1994) avaient décrit et confirmé pour la première fois un foyer de PPR en Ethiopie. Ce foyer a été étudié à Addis-Abeba sur des caprins provenant du sud-ouest du pays. La PPR avait été cependant suspectée dès 1977 dans l'est du Pays par Pegram et Tereke (1981). La FAO considère que la PPR est entrée en Ethiopie en 1989²⁷ depuis le sud du pays, au niveau de la vallée de l'Omo, puis qu'elle a diffusé vers la zone Borana et le long de la vallée du Rift en 1991. En 1994 et 1996, elle a affecté, sous formes épizootiques, les régions de l'Afar au Nord et de l'Ogaden (Somali) à l'Est.

Par ailleurs, les derniers foyers de peste bovine ont été rapportés fin 1994 en région Afar, considérée en 1995 par le PARC²⁸ comme zone d'enzootie.

Il est à souligner que si l'épizootie constatée dans la région de Shoa-Robit concernait uniquement les caprins, celle décrite en zone Afar (Gewane puis Awash) affectait cliniquement en premier lieu les ovins.

3.3. Taux épidémiologiques

Les taux de morbidité enregistrés s'échelonnaient de 90 à 100%, sauf exception (67% dans la région du Bale). La mortalité était de 5 à 65% et était conditionnée par l'utilisation d'antibiotiques.

3.4. Aspects zoonotiques

La transmission à l'Homme n'a pas été relevée mais des mortalités humaines ont été signalées au début de la maladie (mars à mai 1995) dans le nord de la région Afar. Le diagnostic officiel des services de santé éthiopiens portait sur la tuberculose.

Par ailleurs, des contaminations humaines à partir de dromadaires malades étaient rapportées en zone Borana au moment de l'épizootie dans cette région (mai à juin 1996) mais sans que l'on puisse obtenir de précisions cliniques et épidémiologiques.

²⁷ FAO. 1998. The Empres Transboundary Animal Disease Bulletin. N°6

²⁸ PARC. 1995. Annual report OUA/IBAR/PARC. Coordination Office. Nairobi, Kenya.

4. Hypothèses étiologiques

La maladie observée ne montrait pas la forme épidémiologique d'une infection connue du dromadaire. En effet, elle était caractérisée par une très grande contagiosité, des taux de morbidité et mortalité élevés et une atteinte, en l'espace de quelques mois, de toute la population cameline de la Corne de l'Afrique. L'atteinte de tous les animaux, sans distinction d'âges et de sexe, suggérait l'intervention d'agent(s) pathogène(s) nouveaux pour cette population.

Dominée par un syndrome respiratoire, cette pathologie curable par les antibiotiques, évoquait en première approche le "complexe respiratoire" présenté dans la partie bibliographique (chapitre 1). Ce "complexe respiratoire" est *a priori* le résultat d'une initiation virale suivi de surinfections bactériennes dans un contexte prédisposant. Cependant, ce syndrome, en considérant les agents viraux et bactériens habituellement décrits, s'exprime en général sous des formes enzootiques ou sporadiques, et non épizootiques au niveau de plusieurs régions et pays. Les agents susceptibles de la provoquer circulent en Afrique de l'Est comme l'attestent les différentes études sérologiques rapportées dans la premier chapitre (PI-3, IBR, Adénovirus, *Pasteurella* spp., en particulier en Ethiopie, etc.). Cependant, l'intervention de variants de ces virus et bactéries, pouvant être à l'origine de cette épizootie, ne peut être exclue.

Les « résurgences » constatées en 1997 et 1998, affectaient préférentiellement les jeunes animaux dans un contexte pathologique de FVR et de variole cameline (ou d'ecthyma contagieux, le diagnostic différentiel n'ayant pas été fait). Cette atteinte des jeunes pouvait suggérer que les animaux plus âgés avaient acquis une certaine immunité suite à l'épizootie de 1995 et 1996 mais que le(s) agent(s) circulaient toujours et affectaient des animaux non immuns.

Les symptômes observés évoquaient une "rinderpest-like disease", "ppr-like disease" ou une "influenza-like disease", et, dans certains cas, la septicémie hémorragique.

La sensibilité du dromadaire à la peste bovine n'a jamais été clairement établie, en particulier en Afrique. L'épizootie d'influenza décrite en Mongolie était particulière puisqu'elle résultait d'une contamination des chameaux par un virus vaccinal utilisé dans la population humaine.

Les données épidémiologiques étaient en faveur d'une circulation de virus de la PPR et éventuellement du virus de la peste bovine. En effet, des foyers de peste bovine avaient été diagnostiqués en zone Afar en 1994. En outre, entre 1995 et 1996, il n'y a pas eu de maladie similaire constatée chez les bovins élevés sur les mêmes zones que les dromadaires. Ces bovins, bien que vaccinés contre la peste bovine, ne disposaient vraisemblablement pas d'une couverture vaccinale totale en région Afar (zone d'enzootie pour le PARC en 1995) et en région Somali.

Les premières analyses ont montré, d'une part, la présence d'antigènes de PPRV, d'ARN de virus PPR et, d'autre part, d'un Streptocoque réputé pathogène pour les équidés et responsable d'une maladie très contagieuse, la gourme. L'isolement de cette bactérie et la suspicion de la gourme n'avaient jamais été rapportées chez les camélidés.

L'observation de foyers avec des formes cliniques suraiguës et aiguës sur les ovins, alors que la PPR est classiquement décrite sous ces formes chez les caprins, est en faveur d'une possible modification de la pathogénicité des souches de ce virus et/ou d'un élargissement du spectre d'hôte. L'hypothèse d'un transfert inter-espèce d'un morbillivirus est à considérer à la lumière de la capacité de ces virus à ARN à évoluer rapidement (Holland, 1993) et à accroître leur spectre d'hôte. En effet, de nouveaux morbillivirus ont été mis en évidence pendant ces dernières décennies (Barrett, 1999). Pour Arya (2000), les contacts étroits entre animaux et entre animaux et humains pourraient engendrer des modifications génétiques rapides, en particulier pour les virus de la rougeole, de la peste bovine et de la maladie de carré et conduire à l'émergence de nouveaux morbillivirus.

Les résultats et hypothèses préliminaires ont été présentés lors de réunions scientifiques (Annexe III) et acceptés pour publication (Annexe IV).

*
**

Etant donnée l'importance des pestes des bovins, ovins et caprins (peste bovine et PPR) en Afrique et dans un contexte d'éradication de la peste bovine et de contrôle de la PPR, il paraît nécessaire d'explorer cette étiologie possible. Le chapitre suivant sera consacré à la présentation bibliographique de la PPR et aux résultats obtenus sur le terrain et lors de reproductions expérimentales préliminaires.

Par ailleurs, en raison de l'importance de la gourme chez les équidés, il paraît nécessaire de préciser les caractéristiques de la bactérie *Streptococcus equi* subsp. *equi* et de la maladie. La seconde partie du chapitre suivant sera donc consacrée à la bibliographie de cette maladie bactérienne et présentera les résultats bactériologiques et de biologie moléculaire obtenus.

Résultats

1. **Analyse du rôle potentiel du virus de la peste des petits ruminants**

1.1. La peste des petits ruminants: revue bibliographique

Les informations générales sont extraites des synthèses, thèses et ouvrages de Scott (1981), Lefèvre (1987), Lefèvre et Diallo (1990), Libeau (1998), Shaila *et al.* (1996), Tounkara *et al.* (1996), OIE (1996) et Diallo (1997).

La peste des petits ruminants (PPR), maladie majeure (classée dans la liste A de l'OIE.) des ovins et caprins est due à un virus (PPRV) de la famille des *Paramyxoviridae*, antigéniquement très proche du virus de la peste bovine (RPV). Elle se caractérise cliniquement, dans ses formes suraiguës et aiguës, par un état typhique marqué, des érosions des muqueuses, du jetage et du larmolement, une entérite et une atteinte pulmonaire quasi constante.

La PPR s'étend en Afrique, du Sahara à l'équateur, dans toute la péninsule Arabe et en Asie (Carte IV). Sous sa forme épizootique, elle entraîne de fortes mortalités, et sous sa forme enzootique, elle favorise l'apparition de pneumopathies bactériennes.

La prophylaxie fait désormais appel à un vaccin homologue mais était auparavant basée sur l'utilisation du vaccin hétérologue (i.e. le vaccin peste bovine).

La peste des petits ruminants (PPR), décrite pour la première fois en 1942 par Gargadennec et Lalanne, en Côte d'Ivoire, fait l'objet, depuis deux décennies, de nombreux travaux en raison de son importance économique et de sa "proximité" avec la peste bovine :

- Les taux de morbidité et mortalité peuvent être respectivement de 90 % et de 50-80 % pour une population pleinement sensible. La PPR entraîne donc de lourdes pertes directes et indirectes chez les petits ruminants et constitue un obstacle réel au développement de cet élevage. Au Nigeria, les pertes occasionnées annuellement, en l'absence de toute intervention, ont été estimées par Hamdy *et al.* (1976) à plus de 1 million de dollars.
- Cliniquement, il est impossible de distinguer la PPR de la peste bovine lorsque celle-ci touche les moutons et les chèvres, ce qui pourrait expliquer d'ailleurs, jusqu'à une période récente, une sous-estimation de la répartition et de l'importance de la PPR. En raison des relations antigéniques que le PPRV partage avec le RPV, la PPR interfère dans le dépistage et diagnostic de la peste bovine et doit, de ce fait, être prise en compte lors des programmes de lutte contre de la peste bovine. Désormais, l'utilisation d'un vaccin homologue n'entrave pas le dépistage de la circulation du RPV chez les petits ruminants.

1.1.1. Le virus de la PPR

1.1.1.1 Taxonomie

Le virus de la PPR (PPRV), est un virus à ARN, à symétrie hélicoïdale, enveloppé (Bourdin et Laurent-Vautier, 1967), de la famille des *Paramyxoviridae*, du genre *Morbillivirus* (Gibbs *et al.*, 1979).

Le genre *Morbillivirus* comprend plusieurs virus importants en médecine humaine ou vétérinaire : il s'agit des virus de la rougeole (MV), de la maladie de carré (CDV), de la peste bovine (RPV) et de la PPR (PPRV). Des morbillivirus récemment identifiés chez des mammifères marins, des virus "émergents", isolés lors d'épizooties, sont à rattacher à ce genre. Ces virus existaient probablement depuis longtemps et les épizooties constatées sont à mettre en relation avec leur introduction dans des populations sensibles et/ou ont été le résultat d'une transmission inter-espèces (Haas et Barrett, 1996).

Le tableau IV détaille la classification des *Paramyxoviridae* pour la sous-famille des *Paramyxovirinae* et les genres *Morbillivirus*²⁹.

Paramyxoviridae (famille)

Paramyxovirinae (sous-famille)

Morbillivirus (genre)

- Canine Distemper Virus (CDV : virus de la maladie de carré)
- Cetacean Morbillivirus*¹
- Dolphin Morbillivirus¹ (DMV)
- (Equine Morbillivirus^{2,4})
- (Hendra Virus^{2,4})
- Measles Virus (MV: virus de la rougeole)
- Peste-Des-Petits-Ruminants Virus (PPRV)
- Phocine Distemper Virus¹ (PDV)
- Phocine Distemper Virus-2¹ (est une souche de CDV)
- Pilot Whale Morbillivirus¹ (PWMV)
- Porpoise Morbillivirus¹ (PMV)
- Rinderpest Virus (RPV)
- Subacute Sclerosing Panencephalitis Virus (variant du MV)

Le Nipah Virus^{3,4} est classé (NCBI, 2000) dans le genre *Paramyxovirus*. Un autre nouveau virus, nommé Menangle, a été isolé chez le porc en Australie. Il est également classé dans le genre *Paramyxovirus*.

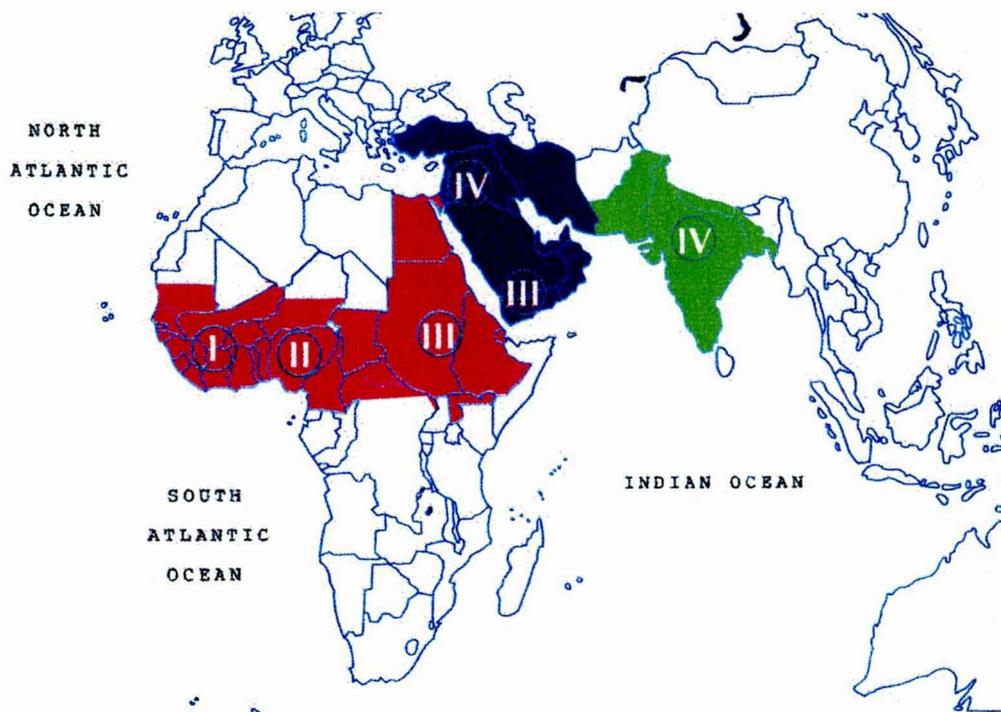
Tableau IV : Virus du genre *Morbillivirus*, Famille des *Paramyxoviridae* (NCBI, URL consultée le 15/10/00)

²⁹ il y a par ailleurs dans la sous-famille des *Paramyxovirinae*, deux autres genres, *Paramyxovirus* et *Rubulavirus*, et une autre sous-famille, *Pneumovirinae* qui comporte le genre *Pneumovirus*.

Notes pour le tableau IV :

1. Virus "émergents" des mammifères marins
2. Equine morbillivirus et Hendra virus sont identiques et à classer dans un nouveau genre de la famille des *Paramyxoviridae* (Wang *et al.*, 2000)
3. Virus Nipah: virus isolé lors de l'épizootie (porcs) zoonotique déclarée en 1999 en Malaisie.
4. Les virus Hendra et Nipah seraient à classer selon Bellini *et al.* (2000) dans un nouveau genre à créer dans la sous-famille des *Paramyxovirinae*

La classification des souches du PPRV en quatre groupes génétiques (cf. annexe V) est proposée par Diallo (1997) et rapportée sur la carte IV.



Carte IV : répartition géographique de la PPR et positionnement des groupes génétiques du virus PPR (d'après Diallo, 1997)

Toutefois, contrairement à ce qui est observé pour le RPV, aucune variation du pouvoir pathogène du PPRV en fonction des souches n'a été mise en évidence. Pour des raisons non encore élucidées, un même isolat de PPRV peut donner des résultats différents au cours d'infections expérimentales avec des animaux de même race.

1.1.1.2 Caractéristiques générales

Comme tous les morbillivirus, le PPRV est un virus enveloppé, pléomorphe, grossièrement sphérique. Sa taille varie, selon les auteurs, de 150 à 700 nm. Son enveloppe, de nature lipidique, est surmontée d'un liseré correspondant à la couche formée par des spicules (H et F).

Le virion est composé de six protéines structurales : la nucléoprotéine (N), la phosphoprotéine (P), la protéine de matrice (M), la protéine de fusion (F), l'hémagglutinine (H) et la polymérase (L pour Large Protéine).

Le génome est un ARN non segmenté monocaténaire de polarité négative ce qui impose la présence d'une transcriptase virale. Lors de la multiplication virale, il doit d'abord être transcrit en ARN messagers (ARNm). Ces derniers, monocistroniques sont traduits en protéines virales. La séquence entière du génome de PPRV n'est pas encore déterminée. Il serait long d'environ 16.000 nucléotides comme pour les autres Morbillivirus.

1.1.2. La maladie : pathogénie, symptomatologie, contrôle.

1.1.2.1 Pathogénie

Le virus de la PPR est excrété précocement, dès l'apparition de l'hyperthermie, dans les sécrétions conjonctivales, le jetage ou la salive et, plus tardivement, dans les fèces. La transmission se fait par voie aérienne, et la porte d'entrée du virus est la muqueuse naso-pharyngée. Le virus a un tropisme lymphocytaire et épithélial.

La pathogénie de la PPR n'a pas été étudiée comme pour la peste bovine, la rougeole ou la maladie de carré. Pour ces virus, la réplication se fait dans la région pharyngée puis ils diffusent dans l'organisme pendant la phase virémique et infectent les tissus lymphatiques et épithéliaux.

En raison de leur interaction avec les cellules mononucléaires du sang périphérique et les monocytes, probablement tous les morbillivirus sont associés à une immunosuppression au minimum transitoire et à des fonctions immunitaires perturbées. Cette immunosuppression est considérée comme responsable des surinfections influençant grandement la morbidité et la mortalité (Hass et Barrett, 1996). En particulier, l'immunosuppression a été étudiée pour les virus de la rougeole (MV), de la maladie de carré (CDV) et de la peste bovine (RPV), (Yamanouchi, 1980).

Le virus de la rougeole induit une immunosuppression (Schneider-Schaulies et ter Meulen, 1999) transitoire chez les enfants (Wild, 1997). Elle serait due à une lymphopénie considérable, en particulier pour les lymphocytes T CD4 et CD8, les lymphocytes B, les neutrophiles et les monocytes (Okada et al., 2000). Dans certaines conditions, comme la malnutrition, l'immunosuppression peut persister pendant plusieurs mois et contribuer à augmenter la sensibilité à des infections secondaires. Ces infections peuvent être bactérienne et/ou virale (*adenovirus* et *herpesvirus* en particulier). Chez des enfants présentant déjà un terrain d'immunosuppression, la rougeole peut se comporter comme une infection opportuniste, comme on l'observe dans l'encéphalite aiguë retardée (Wild, 1997).

Pour le RPV, les études ont porté en premier lieu sur un modèle lapinisé. Le RPV supprime les immunités humorale et cellulaire dans ce système (Yamanouchi, 1980). L'hypothèse première est la destruction des lymphocytes. Chez les bovins, Murray *et al.* (1989) ont démontré par une expérience préliminaire le rôle immunosuppresseur d'une souche virulente de RPV (Egypt 1/84, lignée Afrique I). Ces auteurs ont également montré que, dans un système lapinisé, l'immunosuppression était profonde. L'inoculation, dans ce système, d'un RPV augmentait, d'une part, la sévérité d'une infection primaire réalisée avec *Trypanosoma*

brucei (*T. brucei* puis RPV) et compliquait, d'autre part, une infection secondaire réalisée avec *Trypanosoma congolense* (RPV puis *T. congolense*)

Il est légitime de supposer que le virus de la PPR, ayant également un tropisme lymphocytaire, ait ce rôle immunosuppresseur. Les surinfections bactériennes sont fréquemment décrites (voir *infra*) lors d'une infection par ce virus.

Globalement, les virus initient l'infection respiratoire (Mims *et al.*, 1995) :

- via le tractus respiratoire (Influenza virus, Adenovirus, Herpesvirus, Coronavirus, etc.) en intervenant notamment au niveau des cellules épithéliales ciliées et des cellules sécrétoires de mucus qui favorisent le rejet des particules inhalées ;
- via une action systémique, généralement sans symptômes respiratoires initiaux, comme le virus de la rougeole mais provoquant, pour ce virus, une immunosuppression.

Le pronostic des formes aiguë et suraiguë observées lors d'une infection par le PPRV est certainement conditionné par les complications microbiennes particulièrement fréquentes. Parmi celles-ci, la "pasteurellose", responsable d'une broncho-pneumonie, est la plus citée. On observe aussi la sortie d'infestations latentes par des coccidies et des helminthes gastro-intestinaux, et l'aggravation d'entérites à *Escherichia coli*. Des bactéries pyogènes (*Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. et *Staphylococcus* spp.) sont isolées dans une grande majorité de cas à partir de prélèvements nasaux. Des mycoplasmes ont également été isolées. Les pasteurelles (*Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica* ou *Pasteurella multocida* type A ou D) sont fréquentes (Lefèvre, 1987).

Ugochukwu et Agwu (1991) ont étudié 40 écouvillons nasaux de caprins atteints de PPR. Ils ont isolé les espèces bactériennes suivantes :

- *Staphylococcus* spp. (44,0%) : *S. aureus* (30,67%) et *S. epidermidis* (13,33%)
- *Streptococcus* spp. (22,67% : *S. viridans* (18,37%) et *S. pyogenes* (4,0%)
- *Neisseria* spp. (12,0%) : *Neisseria catarrhalis*
- *Pasteurellaceae* (10,67%) : *P. multocida* (4,0%) et *M. (P.) haemolytica* (6,67%)
- *Pseudomonas* spp. (4,0%) : *P. aeruginosa*
- *Proteus* spp. (4,0%) : *P. mirabilis* (2,67%) et *P. rettgeri* (1,33%)
- *Corynebacterium pyogenes* (1,33%)

Il n'existe pas de porteur chronique du PPRV. L'évolution se fait soit vers la mort, soit vers la guérison avec une immunité de longue durée, voire durant toute la vie économique de l'animal. L'existence de porteurs sains chez les petits ruminants, et chez d'autres espèces, n'a jamais été établie.

1.1.2.2 Symptomatologie

Après une incubation de courte durée, la PPR se traduit, dans les formes aiguës et suraiguës, par une forte hyperthermie, un état typhique marqué, des érosions des muqueuses buccales, une atteinte pulmonaire quasi constante - à l'inverse de ce que l'on observe dans les cas de peste bovine - et une diarrhée en général en fin de processus morbide. L'évolution est de cinq à dix jours selon les cas mais, fréquemment, le tableau est compliqué par des infections bactériennes secondaires. Des formes subaiguës et asymptomatiques sont observées.

Des atteintes nerveuses n'ont jamais été rapportées pour la PPR (ainsi que pour la peste bovine) mais, pour les virus de la rougeole et de la maladie de Carré, des formes neurologiques sont décrites.

Pour la rougeole, trois types sont reconnus (Liebert, 1997 ; Wild, 1997) :

- l'encéphalite aiguë retardée correspondant à un comportement de type opportuniste du virus de la rougeole. Il a notamment été retrouvé au niveau de l'encéphale (antigènes et ARN) chez des patients infectés par le VIH, virus immunosuppresseur (Mc Quaid *et al.*, 1998) ;
- l'encéphalite post-infectieuse de nature auto-immune (avec une fréquence de 1 cas sur 1000 de malades infectés par le MV), se déclarant 2 semaines après l'éruption rougeoleuse ;
- la panencéphalite sclérosante subaiguë (PESS, avec une fréquence de un cas sur un million) dont la durée d'incubation varie de plusieurs semaines à plusieurs années et pour laquelle le virus est retrouvé au niveau de l'encéphale.

Pour la maladie de Carré, la forme auto-immune est rapportée avec une fréquence importante (10 à 30%) ainsi que l'équivalent de la PESS, qui est dans ce cas nommé ODE (pour "old dog encephalitis").

1.1.2.3 Contrôle : diagnostic, traitement et prophylaxie

La période d'incubation varie entre trois et dix jours. Le diagnostic clinique des formes aiguës ou suraiguës de la peste des petits ruminants n'est pas particulièrement complexe, mais il ne faut pas la confondre avec la peste bovine, et seul le laboratoire peut faire la distinction.

Le diagnostic clinique des formes aiguës se base sur l'observation des signes suivants :

- Augmentation brutale de la température corporelle (40-41°C), avec retentissements sur l'état général : agitation, poil terne, museau sec, diminution de l'appétit ;
- Ecoulement nasal séreux devenant muco-purulent et prenant parfois la forme d'un exsudat catarrhal profus qui se dessèche et obstrue les narines , détresse respiratoire ;
- Petites zones de nécrose sur la muqueuse nasale visibles ;
- Congestion de la conjonctive, formation de croûtes sur l'angle médian de l'œil et parfois conjonctivite catarrhale profuse ;
- Stomatite nécrosante fréquente, s'accompagnant d'haleine fétide ;
- Diarrhée profuse non hémorragique ;
- Broncho-pneumonie fréquente, s'accompagnant de toux ;
- Avortement ;
- Déshydratation, amaigrissement, dyspnée, hypothermie et mort en 5 à 10 jours.

Les formes suraiguës sont fréquentes chez les caprins. Des formes subaiguës et chroniques sont fréquentes dans certaines zones en fonction de la sensibilité des races locales. Le développement sur 10 à 15 jours, avec symptômes variables, associant une pneumopathie, est observé.

Les signes nécropsiques sont les suivants :

- Maigreur, conjonctivite, stomatite érosive s'étendant à la face interne de la lèvre inférieure, à la partie adjacente des gencives, près des commissures, et à la partie libre de la langue ;
- Lésions du palais, du pharynx et du tiers supérieur de l'œsophage dans les cas sévères;
- La panse, le bonnet et le feuillet rarement lésés ;
- Petites traces hémorragiques, érosions dans certains cas, dans la portion proximale du duodénum et sur l'iléon terminal ;
- Nécrose étendue et parfois ulcération sévère des plaques de Peyer ;
- Congestion autour de la valvule iléo-caecale, à la jonction caeco-colique et dans le rectum , congestion de la partie postérieure du côlon, en forme de "zébrures" ;
- Petites érosions et pétéchies sur la muqueuse nasale, les cornets, le larynx et la trachée;
- Broncho-pneumonie constante ;
- Possibilité de pleurésie et d'hydrothorax ;
- Congestion et splénomégalie de la rate ;
- Congestion, tuméfaction et œdème de la plupart des ganglions lymphatiques ;
- Vulvo-vaginite érosive possible.

Le diagnostic différentiel doit porter sur les maladies suivantes :

- Peste bovine;
- Pleuropneumonie contagieuse caprine;
- Fièvre catarrhale du mouton;
- "Pasteurellose" étant en fait souvent une complication de la PPR;
- Fièvre aphteuse;
- Ecthyma contagieux;
- (Cowdriose ; coccidiose).

Le diagnostic biologique fait appel aux prélèvements suivants:

- Écouvillonnage de l'écoulement conjonctival et des muqueuses nasale, buccale et rectale ;
- Sang total recueilli sur anticoagulant ;
- Ganglions lymphatiques, notamment mésentériques et bronchiques, rate ;
- Tractus intestinal et poumons.

Les prélèvements doivent être réfrigérés au cours du transport. Les test disponibles actuellement sont nombreux et permettent de faire la distinction avec l'infection par le virus de la peste bovine (Diallo *et al.*, 1995 ; Libeau, 1998).

L'identification de l'agent viral peut se faire par :

- isolement et identification du virus (sur cellules primaires de rein d'agneau ou sur lignée cellulaire VERO, neutralisation viral, microscopie électronique) ;
- détection de l'antigène par différentes techniques (immunodiffusion en gélose, immunofluorescence indirecte, immuno-histopathologie) mais, essentiellement désormais, par un test d'immuno-capture (Libeau, 1998) ;

- détection de l'ARN viral : sondes à ADNc spécifiques de la PPR et amplification génique (PCR).

Les tests sérologiques font appel à différentes techniques (neutralisation virale, contre-immuno-électrophorèse, immuno-diffusion en gélose, test d'inhibition de l'immuno-diffusion) mais, essentiellement, actuellement, par ELISA de compétition.

Il n'existe aucun traitement spécifique de la PPR, mais une antibiothérapie a été proposée pour éviter les complications bactériennes. La prophylaxie sanitaire est recommandée lorsque la maladie apparaît dans un pays précédemment indemne de peste des petits ruminants. La prophylaxie, notamment dans les pays d'élevage extensif à nomadisme saisonnier où la PPR existe, ne peut être que médicale. Le vaccin contre la peste bovine a été largement employé (Bourdin *et al.*, 1970 ; Taylor, 1979), mais un vaccin homologue à virus vivant atténué a été mis au point par l'Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux (IEMVT, Maisons-Alfort, France), en association avec l'Animal Virus Research Institute (Pirbright, Royaume-Uni), (Diallo *et al.*, 1989). L'emploi de ce vaccin permet de distinguer les petits ruminants vaccinés de ceux atteints de peste bovine, ce qui facilite les enquêtes épidémiologiques sur la peste bovine et le suivi de son éradication. Des vaccins recombinants produits par génie génétique font actuellement l'objet d'études (Behre *et al.*, 2000).

1.1.3. Epidémiologie (en Afrique)

Comme tous les morbillivirus, le virus de la PPR est relativement peu résistant dans le milieu extérieur et la transmission s'effectue essentiellement par contact direct et étroit avec des animaux infectés et/ou avec leurs sécrétions et excréments.

Dans un premier paragraphe, seront détaillés les facteurs intrinsèques de réceptivité et de sensibilité (espèces, races, âge et sexe) puis, dans un second, les facteurs extrinsèques (environnement, conditions d'élevage) et, enfin, dans un troisième paragraphe, les formes épidémiologiques décrites en Afrique de L'Ouest (formes épizootiques et enzootiques).

1.1.3.1 Facteurs intrinsèques

i. *Espèces*

Les animaux domestiques réceptifs au virus de la PPR et sensibles, à différents degrés, sont les ovins et les caprins. Cependant, la plupart des épizooties rapportées en Afrique concernent essentiellement les caprins car les données disponibles montrent que les ovins sont plus résistants. Diverses enquêtes sérologiques ont révélé que le pourcentage d'ovins hébergeant des anticorps anti-PPRV est plus important que celui des caprins, ces derniers succombant le plus souvent à la maladie.

Les bovins bien que réceptifs au virus PPR - des anticorps anti-PPRV ont été détectés - ne développent pas de symptômes. Cependant, le rôle joué par les bovins infectés dans la circulation du virus dans le milieu est encore imprécis.

L'inoculation expérimentale du virus de la PPR à des porcs n'a pas été suivie de signe clinique, mais la production d'anticorps anti-PPRV a été détectée (Nawathe et Taylor, 1979).

Parmi les animaux sauvages, la maladie n'a été diagnostiquée à ce jour que chez des animaux en captivité de l'ordre des *Artiodactyla* :

1. de la famille des *Bovidae* :

- la sous-famille des *Antilopinae* : *Gazella dorcas* (gazelle dorcas) ;
- la sous famille des *Caprinae* : *Capra ibex nubiana* (chèvres nubiennes) et *Ovis* sp., le mouton du Laristan (*O. orientalis laristanica*, Nasonov, 1909, non répertorié par NCBI, 2000).
- et la sous-famille des *Hippotraginae* : *Oryx gazella* (gemsboks).

2. de la famille des *Cervidae*: le cerf à queue blanche (*Odocoileus virginianus*) est très sensible aux infections expérimentales.

ii. *Race*

Pour les caprins, les races dites guinéennes (races naines de Afrique de l'Ouest côtière) sont plus sensibles que les races sahéliennes.

iii. *Age et sexe*

Chez les petits ruminants, les jeunes de 4 à 12 mois sont plus sensibles. Il n'y a pas de différence de réceptivité et sensibilité constatée entre les sexes.

1.1.3.2 Facteurs extrinsèques

i. *Conduite d'élevage*

Les mouvements d'animaux d'une manière générale constituent des facteurs de risque pour la propagation de l'infection.

Le mode d'élevage extensif dans les zones sahéliennes, caractérisé par des mélanges et brassages d'animaux en particulier autour des points d'eau, permet aux jeunes animaux d'être en contact prématurément avec le PPRV et, ainsi, de s'immuniser. En zone humide, les élevages sont dispersés au sein des villages et non en contact direct.

Le commerce, impliquant regroupements et transports, est également un facteur important. Cela est particulièrement décrit pour la fête de la *Tabaski*, fête musulmane, célébrée cinquante jours après la fin du Ramadan. Cette cérémonie religieuse entraîne des regroupements très importants d'animaux sur les marchés induisant des stress (Diallo, 1997). En zone de forêt tropicale, la vente de chevreaux sur les marchés pendant la saison humide, est un facteur de propagation de la maladie (Whitney *et al.*, 1967).

ii. *Facteurs climatiques*

Au niveau du Sahel, espace sud-saharien compris entre la zone saharienne proprement dite et la zone soudano-sahélienne, elle-même adossée plus au sud à la zone guinéenne, la saison sèche s'étend d'octobre à juin au nord, de décembre à avril au sud, et varie entre 6 à 7 et 9 à 10 mois. En général, le début de la saison sèche coïncide avec des températures élevées. En

janvier-février, les températures diminuent nettement, puis elles remontent en mars jusqu'en mai où chaleur et sécheresse peuvent atteindre des valeurs très contraignantes.

En zones sahéliennes, le froid constitue un stress pouvant provoquer une diminution de la résistance. Les précipitations du début de la saison des pluies constituent également un stress important pour les animaux affaiblis par une longue période de sécheresse et donc en général souffrants de malnutrition.

1.1.3.3 Formes épidémiologiques.

Il y a des variations géographiques et temporelles - saisonnières et pluriannuelles - importantes. Les allures épidémiologiques sont de type épizootique, enzootique, voire épi-enzootique et dans ce cadre, il est nécessaire de distinguer, en Afrique de l'Ouest, les pays sahéliens des pays côtiers.

Dans les pays d'Afrique côtière, de la Mauritanie au Bénin, la PPR se caractérise par des épizooties avec une mortalité de l'ordre de 70 à 80% et selon un cycle d'apparition de trois ans à quatre ans, délai qui correspond à la reconstitution d'une population réceptive et sensible.

En Afrique sahélienne, la PPR est enzootique ou plus précisément épi-enzootique avec donc des pics épizootiques lors d'apparitions de facteurs prédisposants (facteurs climatiques et de conduite d'élevage décrits *supra*). Le caractère enzootique est lié à une circulation importante du virus, conditionné par des facteurs extrinsèques (type d'élevage) et des facteurs propres au virus. En effet, les *Paramyxoviridae* sont plus stables en atmosphère sèche qu'en atmosphère humide. La sécheresse importante dans les pays sahéliens serait un facteur stabilisant du PPRV dans le milieu extérieur. En outre, pendant la saison froide de ces zones sahéliennes, le temps de survie du virus est probablement augmenté.

Dans ce contexte sanitaire, et sur le long terme, une co-évolution virus-hôtes a pu conduire à l'acquisition d'une résistance génétique sinon à l'infection, du moins à la maladie. Il y a lieu donc de s'interroger sur la résistance constatée pour les caprins du Sahel par rapport aux caprins des zones humides : s'agit-il d'une résistance génétique ou d'une résistance apparente liée à la circulation importante du virus et donc à une immunisation précoce ?

Un parallèle intéressant peut être fait avec l'épidémiologie de la rougeole³⁰. Dans des populations non-immunisées, les épidémies apparaissent à intervalle régulier en fonction du nombre d'individus à risque. La maladie est endémique lorsque le nombre de personnes sensibles est suffisamment grand pour maintenir une transmission constante du virus.

³⁰ La rougeole, maladie de civilisation, a vraisemblablement évolué à partir de la peste bovine lorsque certaines conditions ont été remplies. En particulier des études ont montré que 400.000 à 500.000 personnes sont nécessaires pour maintenir la transmission du virus MV (Wild, 1997).

1.2. Travaux expérimentaux

1.2.1. Mise en évidence d'anticorps spécifiques de la PPR et de la RP : ARTICLE 1: Roger F, Guebre Yesus M, Libeau G, Diallo A, Yigezu LM, Yilma T. Detection of antibodies of rinderpest and peste des petits ruminants viruses (*Paramyxoviridae*, morbillivirus) during a new epizootic disease in Ethiopian camels (*Camelus dromedarius*). **Revue de Médecine Vétérinaire (In press).**

**Detection of antibodies of rinderpest and peste des petits ruminants viruses
(*Paramyxoviridae*, Morbillivirus) during a new epizootic disease
in Ethiopian camels (*Camelus dromedarius*).**

François ROGER (1), Mebratu GUEBRE YESUS (2), Genevieve LIBEAU (1),
Adama DIALLO (1), Laike Mariam YIGEZU (2), Tilahun YILMA (3)

(1) CIRAD-EMVT, Campus International de Baillarguet, TA 30/G, 34398 Montpellier Cedex
5, France. E-mail: francois.roger@cirad.fr

(2) National Veterinary Institute, PO Box 19, Debre-Zeit, Ethiopia

(3) International Laboratory of Molecular Biology for Tropical Disease Agents, Department
of Pathology, Microbiology & Immunology, School of Veterinary Medicine, University of
California, Davis, CA 95616, USA

Abstract:

A serological survey was designed to determine the antibody prevalence of rinderpest virus (RPV) and peste des petits ruminants virus (PPRV) in Ethiopian camels. That study was undertaken after the occurrence in 1995 of an apparently new highly contagious disease characterized by a rinderpest-like disease syndrome in the camel population. 90 dromedaries were distributed in groups based on three epidemiologically-defined regions. The first group was from a non-affected area, the second from sick and contact animals and the third from convalescent animals. The sera were analyzed for antibody to RPV and PPRV by competitive ELISA tests. Results showed a global seroprevalence of 7.8% for PPRV antibodies and 21.3% for RPV antibodies. None of the sera from the non-affected area was positive and the second and third groups had various positive rates. In accordance with several authors, the receptivity of the camel to these viruses appears to be a reality. However, its susceptibility to RPV and PPRV had never been confirmed, as well as its role as a potential reservoir of these viruses which cause two major diseases of ruminants. The hypotheses about the occurrence of an emerging infection in camels, caused by pathogens usually found in cattle, sheep and goats, are discussed.

Keywords: dromedary ; serology ; peste des petits ruminants ; rinderpest ; Ethiopia.

Titre Français: Détection d'anticorps de la peste bovine et de la peste des petits ruminants (*Paramyxoviridae*, Morbillivirus) lors d'une nouvelle maladie épizootique des dromadaires (*Camelus dromedarius*) observée en Ethiopie.

Résumé :

Un sondage sérologique a été réalisé afin de déterminer la présence d'anticorps dirigés contre les virus de la peste bovine (RPV) et de la peste des petits ruminants (PPRV) chez des dromadaires éthiopiens. Cette étude a été entreprise suite à la survenue en 1995 d'une maladie, apparemment nouvelle pour la population de dromadaires, hautement contagieuse et caractérisée par un syndrome de type peste bovine. 90 dromadaires ont été répartis en différents groupes de statuts épidémiologiques différents. Le premier groupe était constitué d'animaux d'une région non encore infectée, le second d'animaux malades et contacts et le troisième d'animaux convalescents. Les sérums ont été analysés par des tests ELISA de compétition. Les résultats ont montré globalement des taux de seroprévalence de 7.8% pour les anticorps anti-PPRV et de 21.3% pour les anticorps anti-RPV. Aucun des sérums du groupe non affecté n'était positif, alors que les second et troisième groupes montraient divers taux de séropositivité. Selon plusieurs auteurs, la réceptivité du dromadaire à ces virus est une réalité. Cependant, sa sensibilité n'a jamais été confirmée en Afrique, ainsi que son rôle comme un réservoir potentiel de ces virus responsables de maladies majeures des ruminants. Les hypothèses relatives à l'émergence d'une nouvelle infection chez le dromadaire, causées par des virus habituellement isolés chez les bovins, ovins et caprins, sont discutées

Mots-clés : dromadaire ; sérologie ; peste des petits ruminants ; peste bovine ; Ethiopie.

Introduction

In the aim to provide elements of investigations after the occurrence of a rinderpest-like disease affecting from 1995 the camel population in Ethiopia, we designed a preliminary serological survey for the detection of antibodies of rinderpest virus (RPV) and peste des petits ruminants virus (PPRV). These diseases normally affect cattle and small ruminants and are caused by closely related viruses (9, 11).

The epizootic, previously described (21, 25), was characterized by a highly contagious respiratory syndrome with a high rate of morbidity (over 90%) and a variable rate of mortality, which depended on the antibiotic treatment. All the camel population of Ethiopia, almost 2 millions of heads, had been affected in less than one year. Nomadic breeders of camels and the veterinary services had never encountered that type of disease.

The last outbreak of rinderpest was declared in 1994 in the North-East of Ethiopia and peste des petits ruminants is prevalent in Ethiopia for many years in sheep and goats (19, 23).

Material and methods

Sera collected from 90 dromedaries in three epidemiologically-defined regions were tested. The first group (G1) comprised 17 serum samples collected in August 1995 from Southern Ethiopia, an area considered non-affected by the disease, since the disease was confined to the northern part of the country. A second set (G2) was collected from 47 clinically sick or contact camels in Eastern Ethiopia in November 1995. A third group (G3) included 26 samples collected from convalescent camels in Northern Ethiopia one month after the outbreak ended in that region.

A competitive ELISA consisting of a monoclonal antibody to the PPR virus (PPRV) nucleoprotein (N) and recombinant PPRV N-protein as an antigen (14) was used for the quantification of PPRV antibodies in all 90 serum samples. A similar test was used for detecting RP virus (RPV) antibody that incorporated recombinant RPV hemagglutinin (H) protein and a specific anti-H monoclonal antibody (2) in 80 serum samples. The threshold value applied was 50% of competition. Moreover, the quantitative values of competition were registered.

Results

PPRV serology (n=90) - Serum samples from the non-affected area (G1) were all negative for PPRV antibodies, but 7 samples in groups G2 and G3 were tested positive for PPRV antibodies.

The qualitative values (percentage of positive) for the distinct groups were G1=0.0%, G2=6.4% and G3=15.4% (graph 1).

The quantitative mean values calculated for each group on the basis of all samples are significantly different (table 1).

RPV serology (n=80) – Serum samples from the non-affected area (G1) were all negative for RPV antibodies, but 17 samples in group G2 and group G3 were tested positive for RP antibodies.

The qualitative (percentage of positive) values for the distinct groups were: G1=0%, G2=36.4% and G3=4.5% (graph 1).

The quantitative mean values calculated for each group on the basis of all samples were significantly different (table 2).

Discussion

Recent serological surveys have indicated the receptivity of the camels to RPV (3, 12, 18), although clinical signs have not been observed (6, 7, 8, 22, 24). A study in Egypt showed 4.2% of 142 healthy camels at a slaughterhouse were positive for PPRV antibodies by serum neutralization test (12). However, a clinical disease in camels due to PPRV had not yet been established.

Considering the extremely rapid spread of the disease in Ethiopia, and in spite of the fact that the antibiotics had a positive effect, we can presuppose that the disease observed was initiated by a virus.

We hypothesize that the presence of PPRV and RPV antibodies in camels can be due:

- **either** to an immune humoral response to these viruses that expressed only the passage and an immune receptivity of the camel, without any clinical or sub-clinical expressions. In that case, we have to emphasize that the detection of these antibodies allow revealing the circulation of the RPV and PPRV among the cattle and small ruminants. Thus, in that hypothesis, the disease observed has been caused by other(s) pathogen(s).
- **or** to susceptibility to a morbillivirus closely related to RPV or PPRV, which was virulent for the camels. This virulence could be foreseen taking into account that morbilliviruses have an immunosuppressive effect (11) that led to secondary bacterial infections effectively treated by the antibiotics. Indeed, during this epizootic, *Streptococcus equi* subspecies *equi* have been isolated from sick camels in Afar region (25) and *Pasteurella haemolytica* from camels in Somali region (4). Within the morbillivirus genus and related viruses, several emerging diseases have been recently described. The existence of mild strains of rinderpest in domestic cattle has had devastating effects in African buffaloes, eland and lesser kudu in Africa (1, 13, 17). PPRV has been isolated during an outbreak in Indian buffaloes (10). New morbillivirus with devastating effects have been described in marine mammals (15). Canine distemper virus caused mortalities in lions of East Africa (20). Viruses belonging to the *Paramyxoviridae* family, initially classified as morbillivirus, were recently described in diseases declared in horses and human (16) and pigs and human (5). In that context, we presuppose that this new disease could result from an interspecies transfer of PPRV or RPV strains from cattle or goats and sheep to camel or through the emerging of a new morbillivirus, serologically related to PRV and/or RPV.

The first consequence of these results is that the camels could play a role in the epidemiology of these major diseases in Africa. Considering the necessary programs of eradication of rinderpest and control of peste des petits ruminants, camel populations should be integrated in the epidemiological surveys. They could especially be used for the epidemiosurveillance, during the process of the status evaluation of rinderpest and as sentinels of the disease.

Microbiological, pathological and epidemiological investigations are in progress to precise the etiology of this apparently new disease of camels.

Acknowledgement: the authors are very grateful to Dr Pascal Bonnet, CIRAD-EMVT, who provided valuable references on camel diseases and to Dr Fekadu Kebede, from the Kombolcha Regional Laboratory, Ethiopia, for his field collaboration.

References

1. Anderson EC. Morbillivirus infections in wildlife (in relation to their population biology and disease control in domestic animals). *Vet Microbiol* 1995;44(2-4):319-32
2. Anderson J, Mac Kay JA, Butcher RN. The use of monoclonal antibodies in competitive ELISA for detection of antibodies to rinderpest and peste des petits ruminants viruses in seromonitoring of rinderpest throughout Africa. Phase one (Jeggo MH Ed.). The proceedings of a final Co-ordination meeting of FAO/IAEA/SIDA/OAU/IBAR/PARC coordinated research program. Bingerville, Côte d'Ivoire, 19-23 November 1991, 43-53.
3. Bares JF. Contribution à l'étude de la pathologie infectieuse du dromadaire au Tchad. DVM Thesis, ENV Toulouse, 1968;7,65.
4. Bekele T. Studies on the respiratory disease 'sonbobe' in camels in the eastern lowlands of Ethiopia. *Trop Anim Health Prod* 1999;31(6):333-45
5. Chua KB, Bellini WJ, Rota PA, Harcourt BH, Tamin A, Lam SK, Ksiazek TG, Rollin PE, Zaki SR, Shieh W, Goldsmith CS, Gubler DJ, Roehrig JT, Eaton B, Gould AR, Olson J, Field H, Daniels P, Ling AE, Peters CJ, Anderson LJ, Mahy BW. Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science* 2000;288(5470):1432-5
6. Conti G. Una questione molto seria di profilassi : la peste bovina dei cammeli. *Moderna Zoolatro*. 1913;24:1-12.
7. Cuarasson G. Le chameau et ses maladies. Paris. Vigot France 1947; 462.
8. Dhillon SS. Incidence of rinderpest in camels in Hissar district. *Indian Veterinary Journal*, 1959;36:693-607
9. Diallo A, Barrett T, Subbarao SM, Taylor WP. Differentiation of rinderpest and peste des petits ruminants viruses using specific cDNA clones. *J Virol Meth* 1989;23:127-137
10. Govindarajan R, Koteeswaran A, Venugopalan AT, Shyam G, Shaouna S, Shaila MS, Ramachandran S. Isolation of pestes des petits ruminants virus from an outbreak in Indian buffalo (*Bubalus bubalis*). *Vet Rec* 1997;141(22):573-4
11. Haas L, Barrett T. Rinderpest and other animal morbillivirus infections: comparative aspects and recent developments. *Zentralbl Veterinarmed [B]* 1996;43(7):411-20
12. Ismail TM, Hassas HB, Nawal MA, Rakha GM, Abd El-Halim MM, Fatebia MM. Studies on prevalence of rinderpest and peste des petits ruminants antibodies in camel sera in Egypt. *Vet Med J Giza*, 1992;10(2):49-53.
13. Kock RA, Wambua JP, Mwanzia J, Wamwayi H, Ndungu EK, Barret T, Kock ND, Rossiter PB. Rinderpest epidemic in wild ruminants in Kenya 1993-97. *Vet Rec* 1999;145(10):275-83.
14. Libeau G, Prehaud C, Lancelot R, Colas F, Guerre L, Bishop DH, Diallo A. Development of competitive ELISA for detecting antibodies to the peste des petits ruminants virus using recombinant nucleoprotein. *Res Vet Sci*, 1995;58(1):50-55.
15. Mahy BWJ, Barrett T, Evans S, Anderson ECA, and Bostock CJS. Characterization of a seal morbillivirus. *Nature* 1988;336:115.
16. O'Sullivan JD, Allworth AM, Paterson DL, Snow TM, Boots R, Gleeson LJ, Gould AR, Hyatt AD, Bradfield J. Fatal encephalitis due to novel paramyxovirus transmitted from horses. *Lancet* 1997;349:93-5.
17. Parker C. Virus hunter. *Natural History* 1997;106:36-41.

18. Richard D. Etude de la pathologie du dromadaire dans la sous-province du Borana (Ethiopie). DVM Thesis. ENV Alfort, Créteil, France, 1975;75:181.
19. Roeder PL, Abraham G, Kenfe G, Barrett T. Peste des petits ruminants in Ethiopian goats. *Trop Anim Health Prod* 1994;26(2):69-73
20. Roelke-Parker ME, Munson L, Packer C, Kock E, Cleaveland S., Carpenter M, O'Brien SJ, Pospischil A, Hofmann-Lehmann R, Lutz H, *et al.* A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature* 1996;381:172.
21. Roger F, Diallo A, Yigezu LM, Hurard C, Libeau G, Guebre Yesus M, Faye B. Preliminary investigations on a new pathology of camels (*Camelus dromedarius*) observed in Ethiopia (1995-1996). Third Annual Meeting For Animal Production Under Arid Condition. Camel Production and future perspectives. May 2-3, 1998. Al-Aïn, UAE. *Journal of Camel Practice and Research, In Press.*
22. Scott GR, Mac Donald J. Kenya camels and rinderpest. *Bull Epizoot Dis Afr* 1962;10(4): 495-497.
23. Shaila MS, Shamaki D, Forsyth MA, Diallo A, Goatley L, Kitching RP, Barrett T. Geographic distribution and epidemiology of peste des petits ruminants virus. *Virus Res* 1996;43(2):149-53
24. Taylor WP. The susceptibility of the one humped camel (*Camelus dromedarius*) to infection with rinderpest virus. *Bull Epizoot Dis Afr* 1968;16(4): 405-410
25. Yigezu LM, Roger F, Kiredjian M, Tariku S. Isolation of *Streptococcus equi* subspecies *equi* (strangles agent) from an Ethiopian camel. *Vet Rec* 1997;140,608.

Graph 1. Qualitative values of PPRV and RPV antibodies

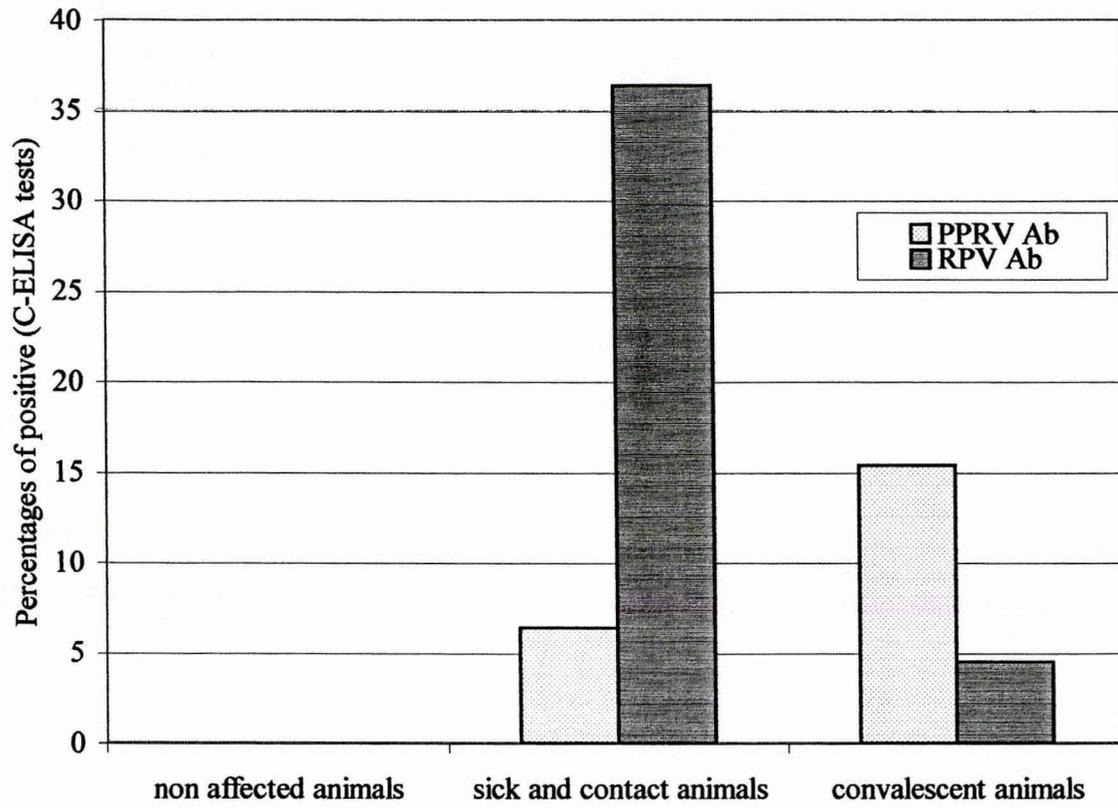


Table 1. Values of competition among the three groups for PPR antibodies (N-protein)

Group	G1	G2	G3
Sample size	17	47	26
Mean for all sample *	0.247	0.323	0.391
Variance for all samples **	0.013	0.011	0.017
Minimum	0.000	0.095	0.195
Maximum	0.435	0.525	0.690
Mean for positive samples	-	0.513	0.619
Variance for positive samples	-	0.002	0.007

* ANOVA: $F=8.14$; $p<0.001$

** Variances are homogeneous with 95% confidence (Bartlett's test for homogeneity).

Table 2. Values of competition among the three groups for RP antibodies (H-protein)

Group	G1	G2	G3
Sample size	14	44	22
Mean for all sample *	0.229	0.399	0.243
Variance for all samples **	0.013	0.052	0.038
Minimum	0.113	0.032	0.000
Maximum	0.477	0.835	0.836
Mean for positive samples	-	0.658	0.836
Variance for positive samples	-	0.006	0.000

* Non parametric Kruskal-Wallis $H=11.5$; $p<0.01$

** Bartlett's test shows the variances in the samples differ (non parametric test is preferred rather than ANOVA).

1.1.1. Détection d'ARN et séquençage

1.1.1.1 Méthodologie PCR pour la détection du virus PPR : ARTICLE 2. Couacy-Hymann E, Roger F, Hurard C, Guillou JP, Libeau G, Diallo A. Rapid and sensitive detection of peste des petits ruminants virus by a polymerase chain reaction assay. **Journal of Virological Methods. (In Press).**

**Rapid and sensitive detection of peste des petits ruminants virus
by a polymerase chain reaction assay.**

**E. COUACY-HYMANN¹, F. ROGER¹, C. HURARD¹, J.P. GUILLOU²,
G. LIBEAU¹, A. DIALLO¹**

¹CIRAD, Programme Santé Animale, TA 30/G, Campus International de Baillarguet, 34398
Montpellier, Cedex 5, France

²AFSSA, 22 Rue Pierre Curie, 94703 Maisons-Alfort Cedex France

SUMMARY

A quick and specific test was developed for the diagnosis of peste des petits ruminants disease. This assay is based on the rapid purification of RNA on glass beads followed by the reverse transcription - polymerase chain reaction (RT-PCR). To that effect, a set of primers (NP3/NP4) was used to specifically amplify a fragment of about 350 bp in the 3' end of the RNA messenger which encodes the nucleocapsid protein of the peste des petits ruminants virus. The PCR-product was detected by UV illumination after electrophoresis on agarose gel or by hybridisation with a digoxigenin-11-dUTP labelled oligonucleotide probe after a blot transfer. In comparison with the conventional titration technique on Vero cells, this RT/PCR assay was 1,000 fold more sensitive. Compared to the popular Chomczynski and Sacchi's method (1987), the purification of the RNA on the glass beads offers the advantage of being more rapid and also avoiding the use of solvents.

Keywords: PPR, RP, Morbillivirus, PCR, Hybridisation, Probe.

INTRODUCTION

Peste des petits ruminants (PPR) is a severe disease of goats and sheep with high morbidity and sometimes high mortality. It continues to cause serious economic losses in these species in Africa, the Middle East, and Asia (Taylor, W.P., 1984; Shaila *et al.*, 1989; Lefèvre and Diallo, 1990; Abu-Elzein *et al.*, 1990; Nanda *et al.*, 1996; Govindarajan *et al.*, 1997). The causative agent is a morbillivirus, peste des petits ruminants virus (PPRV). It is closely related to rinderpest virus (RPV), another member of the morbillivirus genus which can also cause a disease in small ruminants (Anderson *et al.*, 1990; Couacy-Hymann *et al.*, 1995). Nowadays, rinderpest eradication projects are carried out in Africa, the Middle East and Asia. However, for the diagnosis of rinderpest in small ruminants, it is essential to differentiate it clearly from PPR. This is clinically impossible because the symptoms of both diseases are very similar. In the laboratory, this is possible by virus isolation followed by either the differential neutralisation test in cell culture, or by the animal inoculation because PPRV causes inapparent infection in cattle whereas small ruminants can show clinical symptoms after RPV infection. These techniques are all time-consuming. Moreover, RPV infection of small ruminants is sometimes asymptomatic (Couacy-Hymann *et al.*, 1995). In the last decade, molecular biology techniques have permitted the development of specific and sensitive tests for rapid disease diagnosis. The structure and biology of peste des petits ruminants is now well known. As other Morbilliviruses, it has an unsegmented negative stranded RNA genome encoding six structural and two non-structural proteins (Athman *et al.*, 1999). Among them, the nucleocapsid protein (NP) is the major viral protein. It has been the target for developing diagnostic tests that can be used to distinguish rinderpest infection from PPR. Monoclonal antibodies, anti-NP, were used to develop ELISA tests for both a specific serological diagnosis in the competitive format and for antigen detection by immunocapture (Libeau *et al.*, 1994, 1995). For this latter test, the limit of detection has been estimated at $10^{0.6}$ TCID₅₀ of virus in 50µl of sample. In 1989, nucleic acid technology was applied for the first time to the detection of RPV and PPRV by using, as probes, the cDNA corresponding to the nucleocapsid gene of each virus and labelled with ³²P nucleotide (Diallo *et al.*, 1989). Although sensitive, such a test is not suitable for routine use in most of the developing countries due the health hazard linked to the radioactive labels and the lack of adequate equipment. Herein, we report an alternative and very sensitive technique, the amplification of the viral nucleic acid by the reverse transcription - polymerase chain reaction (RT/PCR) for

the specific detection of PPRV. In this test we use a simplified RNA extraction technique instead of the classical phenol-chloroform extraction method.

MATERIAL AND METHODS

VIRUS

Nineteen PPRV isolates available in CIRAD (Montpellier, France) were grown in Vero cells: Guinea Bissau, Senegal (94), Burkina-Faso (86), Côte-d'Ivoire (89), Guinea, Dorcas (Sultanate of Oman), Ibri (Sultanate of Oman), Sinnar (Sudan), Ethiopia 94, Nigeria 75/1, Nigeria 75/2, Nigeria 75/3, Nigeria 76/1, Accra, Egypt, Ghana 78/1, Israel, Central Africa Republic, India 94/1, India Calcutta, India Pradesh. Rinderpest attenuated vaccine strain has also been used. Cell growth medium was Eagle's MEM supplemented with 10% foetal calf serum and 1% of a mixed of an antibiotic solution (Gibco BRL). At 50% of the cytopathic effect (CPE), infected cells and the supernatant were harvested and frozen at -70°C until RNA extraction. Tissue samples from suspected PPR infected animals were obtained from Ethiopia, India, Israel and Mali. They were included in the present reported test. They were ground to give a 10% suspension in Eagle's Minimum Essential Medium (MEM). One hundred microliters of this suspension were used for the RNA extraction.

RNA EXTRACTION

The glassmilk RNA extraction technique, previously described by Yamada *et al.* (1990) was followed by some modifications. 10 µl of glassmilk suspension (RNaid kit, BIO 101), 200 µl of lysis solution (6M of guanidine isothiocyanate or 6M of sodium iodide), and 100 µl of cell suspension were mixed in a 0.5 ml tube. The tube was then stirred slowly at room temperature for different times (5, 10, 30, 60, 90 and 120 min) and spun at 2,000 rpm for 2 min in a microfuge. The supernatant was discarded and the pellet was washed three times with 400 µl of washing solution (Ethanol 50%, Tris-HCl 10 mM pH 7.4-7.6, EDTA 1 mM, NaCl 50 mM). The pellet was vacuum-dried and the RNA, bound to the glassmilk, was eluted in 50 µl of DEPC-treated water for 5 min at 55°C, followed by centrifugation at 13,000 rpm for 5 min. The supernatant contained the total RNA. One µl of RNase inhibitor (10 U/µl) (Amersham pharmacia biotech) was added to the RNA solution and frozen at -70°C until needed. In order to compare the efficacy of the RNA extraction in the case of each lysis buffer, 10 µl of each extracted sample were dot-blotted and hybridised with the radioactive PPRV nucleoprotein gene probe as described by Diallo *et al.* (1989).

OLIGONUCLEOTIDES

The oligonucleotides used in the present study were ordered from Genset (France). Their sequences were derived from the nucleoprotein and the phosphoprotein genes of the PPRV vaccine strain (Diallo *et al.*, 1994; Diallo, A., unpublished data). Their names, sequences and locations are summarised in table 1. One of the primers, SP3, was labelled with digoxigenin-dUTP using the oligonucleotide labelling kit according to the directions of the manufacturer (Roche Molecular Biochemicals). It was used as a non-radioactive probe for the detection of the DNA amplified with Np3 and Np4 primers.

SINGLE STRANDED cDNA SYNTHESIS AND PCR

The reverse transcription reaction (RT) was performed in a 250 µl tube as follows: 7 µl of the extracted RNA were mixed with 1 µl of RNase inhibitor (10 U/µl), 1 µl of DTT, 1 µl of random primer pdN6 and 5 µl of cDNA synthesis bulk (First strand cDNA synthesis kit, Amersham pharmacia biotech). The mixture was incubated at 37°C for 1h. Our experiment has proved that the denaturation of the RNA at 65°C before starting the reverse transcription can be omitted without affecting the result of the PPRV and RPV NP gene amplification.

Two microliters of the RT product were used as template for the PCR. In a 250 µl thin wall tube, this cDNA (2 µl) was mixed with the following reagents: 5 µl of dNTP mixture (200 mM for each dNTP), 5 µl of 10X Taq buffer, 5 µl of forward and reverse primers mixture (5 pmoles/µl for each primer), 32 µl of water and 1 µl of Taq polymerase (1.25 U/µl). The Taq polymerase with its buffer was purchased from Stratagene. Once all the reagents were mixed, the tube was placed into the Gene Amp PCR system 2400 (Perkin Elmer). The heating lead of the machine being on, the amplification is carried out according to the following programme: an initial heating step at 95 °C for 5 min followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s, annealing at 55°C for 30 s and the extension at 72 °C for 1 min for primers Nad1-Pad1 (30 s for primers NP3-NP4).

ANALYSIS OF PCR-AMPLIFIED PRODUCTS

Ten microliters of each PCR product were analysed by electrophoresis on a gel which was made of 1% Nusieve agarose and 1% SeaKem GTG agarose (FMC) in Tris-borate-EDTA buffer (0.089 M Tris base, 0.089 M boric acid and 0.002 M EDTA, pH 8.3). The gel was stained with ethidium bromide and the DNA was visualised by UV fluorescence and photographed. The amplified products which were obtained by the primers Nad1-Pad1 were cleaned on columns (Qiaquick PCR Purification kit, Qiagen) and sequenced on an ABI 377

automatic sequencer. Nad1, Pad1, Nad2, NP67 and SP4 primers were used for the sequencing in order to get information on both strands of the DNA.

The products that were amplified with primers NP3-NP4, after analysis on gel, were transferred onto a positively charged nylon (Roche Molecular Biochemicals) overnight in 0.4N NaOH. The membrane was dried, UV-irradiated for 5 min and pre-hybridised at 45°C for 30 min in 5 ml of hybridisation buffer. This buffer was composed of SSC 5x, 2% blocking buffer (Roche Molecular Biochemicals), 0.1% sarcosine and 0.02% SDS. The hybridisation was then carried out at 45 °C for 1 hour after addition of the digoxigenin labelled SP3 probe (10pg/ml) into the buffer. Then the membrane was washed twice at room temperature with a medium composed of SSC 2X and 0.1% SDS for 15 min then at 45°C with SSC 0.1% and 0.1% SDS for 15 min (twice). The detection was performed with a phosphatase conjugated anti-digoxigenin antibody kit according to the direction of the manufacturer (Roche Molecular Biochemicals).

DETERMINATION OF THE LIMIT OF DETECTION BY THE RT-PCR

This was carried out by comparison of the RT-PCR technique with the virus titration in cell culture. For that, a PPR vaccine suspension, with a titre of 10^4 TCID₅₀/ml, was used to establish a ten-fold dilution from 10^3 TCID₅₀/ml to 10^{-6} TCID₅₀/ml. One hundred microliters of each dilution were used for RNA extraction as described above. Seven microliters of each RNA sample were used to perform the RT-PCR. Simultaneously, 100 µl of each dilution were used to infect in suspension $2 \cdot 10^4$ Vero cells/well in a microtitre plate. Ten replicates were used per dilution. The plate was incubated at 37°C in 5% CO₂ and the cytopathic effect (cpe) of the virus was read 12 days after infection. The presence of the cpe in one well out of ten is enough to consider the dilution positive.

RESULTS

RAPID EXTRACTION OF RNA

We tried to simplify the RNA extraction method, a step critical for RT/PCR technique. We used the glassmilk as RNA binding matrix in different conditions: guanidine thiocyanate or sodium iodide solutions as lysis buffers and RNase inhibitors, different times of incubation as indicated in materials and methods. Figure 1 shows the autoradiograph of the RNA that were extracted in different conditions from PPRV infected cells then dot-blotted and revealed by PPRV NP radioactive probe. It clearly demonstrates that the extraction of the RNA by the

RNaid gave a good yield at any incubation time. However, a better result was obtained when the sample was allowed to adsorb onto the glassmilk for no longer than 5 min. Both lysis buffers seem to be equivalent although the guanidine thiocyanate solution looks slightly better at the point of 5 min incubation time (fig.1, lane B). Following these results, the guanidine thiocyanate 6 M solution was adopted as the lysis solution with an incubation time of 5 min for the RNA extraction.

SEQUENCE INFORMATION OF THE LAST HALF OF THE PPRV NP GENE

The NP genes of Morbilliviruses are about 1700 nucleotides long and they can be divided into three main areas according to the rate of homology: the 5' end of the messenger RNA (1-500 nucleotide position) with moderate homology, the middle, which is very well conserved, and finally the 3' end with low homology (Diallo *et al.*, 1994). So, to develop a PCR test for a differential diagnosis between PPR and rinderpest, the target on the NP gene should be at the 3' end of the mRNA. We have decided to design a couple of primers based on the sequence information of that area from different PPRV strains. The objective was to minimise the risk of PCR false negative results due to possible nucleotide changes between the primers and the NP gene according to the virus strain. To build up this sequence information, the last half part of the NP gene of 9 PPRV wild type strains has been amplified and sequenced. They were chosen in order to cover all known PPR endemic zones: West Africa (PPR Côte d'Ivoire, PPR Burkina, PPR Nigeria 76/1), Central Africa (PPR Cameroon), East Africa (PPR Meiliq, PPR Ethiopia 94), the Middle East (PPR Dorcas), Asia (PPR India 94 and PPR Calcutta). For the amplification of this fragment, two primers were synthesised from the middle of the NP gene (Nad1) and from the sequence near the 5' end of the phosphoprotein gene (Pad1). They are located in areas, which are well conserved within the Morbillivirus group (Diallo *et al.*, 1994; Diallo, unpublished data for PPRV phosphoprotein gene sequence). These two primers allow amplifying a DNA fragment of about 930 nucleotides long. The different amplified products were purified and sequenced as indicated in "Materials and Methods". Figure 2 shows the consensus sequence obtained by the alignment of the partial NP gene sequences of these above nine viruses along with that of the vaccine strain (Diallo *et al.*, 1994). The letter n indicates that the nucleotide in that position is changed at least once. After comparison of this partial PPRV NP consensus sequence with the same area in RP NP gene (Kamata *et al.*, 1991, Baron and Barrett, 1995) two oligonucleotides were designed for use in RT-PCR for a PPR routine diagnosis: NP3 and NP4 (see table 1 for their sequences). They were designed so that their 3' ends are in conserved areas. A third primer was designed for use as an internal probe

to detect the amplified DNA. The sequences of these primers are according to that of the PPRV vaccine strain. In table 1 the nucleotides that are indicated in bold, italic print are variable from virus strain to another.

SPECIFIC DETECTION OF PPRV RNA

Primers NP3 and NP4 were designed to amplify specifically the PPRV NP gene. They were tested in RT/PCR on the RNA extracted from cells that were infected with different PPRV isolates, and also from some pathological tissues according to the procedure indicated in "Materials and Methods". Figure 3 represents a photograph of the electrophoresis gel of PCR products that were obtained from all tested samples. The size of amplified fragments is about 350 bp, a length that concurs with the expected size of 351 bp. The primer SP3, internal to the amplification target sequence, was used as a non-radioactive probe. It hybridised to all the amplified cDNA previously transferred onto a membrane by southern blotting (fig. 3), confirming that the correct fragment was obtained. In contrast to this result, the RNA from RPV infected cells and from non infected cells are not amplified with NP3/NP4 (lanes 26 and 27 respectively).

SENSITIVITY OF THE RT-PCR.

The RT/PCR was compared with the classical virus titration method based on the detection of the virus cytopathic effect (cpe) in cell culture. The starting material was a PPR vaccine suspension with a known titre. A serial dilution was made and samples from 10^3 TCID₅₀/ml to 10^{-6} TCID₅₀/ml were either used to infect Vero cells in microwell plate (100 µl/well) or submitted to RT/PCR. The results are summarised in table 2. While the limit of cpe detection was observed in wells in which cells were infected with 1 TCID₅₀/ml, PPRV RNA was successfully amplified in different samples until the dilution of 10^{-3} TCID₅₀/ml, RNA being extracted from 100µl of each sample (photograph not shown). Thus the RT-PCR was 1000 fold more sensitive than the classical titration test. With the non-radioactive probe, this sensitivity is increased 10 fold (data not shown).

DISCUSSION

PPRV and RPV infections of small ruminants are clinically similar so the differential diagnosis has to be made between these two diseases when they coexist in an area. Such a diagnosis could be made now by competitive ELISA (antibodies detection), or by

immunocapture (antigen detection). Shaila *et al.* (1996) have reported the application of the RT-PCR to detect PPR RNA in pathological samples. To purify the RNA, they have used the phenol/chloroform method described by Chomczynski and Sacchi (1987). This method takes at least 3 hours to complete. Here, we report another RT-PCR method for the diagnosis of PPR where the RNA is purified on glass powder. This material and the silicon dioxide have been used by different authors to purify DNA (Vogelstein and Gillespie, 1979; Boom *et al.*, 1990) and RNA (Boom *et al.*, 1990; Yamada *et al.*, 1990; McCaustland *et al.*, 1991). We adapted this technique, with minor changes, to purify the PPRV infected cell RNA in about 30 min, the sample being incubated with the glass powder for 5 min. The extracted RNA was of good quality and was used in RT/PCR for PPR diagnosis. According to some authors, the use of glass powder for the extraction of nucleic acids from biological samples allows the elimination of polymerase inhibitors (Yamaguchi *et al.*, 1992; Witt and Kemper, 1999). It is a rapid technique and avoids the use of phenol and chloroform. Thus the procedure we have adopted for the purification of RNA should be useful for the application of PCR technique to the routine diagnosis of PPR from pathological samples.

While in the Shaila *et al.* test the target gene is that of the fusion protein, one of the external viral proteins, we adopted to amplify a fragment of the nucleoprotein gene. This protein is the major viral protein and is internal. The design of the primers to be used in the RT/PCR test was made after the alignment of the second half of the NP gene of 10 PPRV (9 wild type plus the vaccine strain). Indeed, RNA viruses are known to be subject to high nucleotide substitution error frequencies (Steinhauer *et al.*, 1989). Therefore, in routine diagnosis of the virus infection from different origins, there is a risk of false negative result if a PCR test is carried out with two primers that were designed according to the gene sequence of only one virus strain. This risk might be minimised if two sets of primers could be used to amplify two different fragments or if a set of primers is synthesised after taking into consideration the sequences from a few strains of different origins. This latter strategy has guided the design of primers NP3 and NP4 for PPR diagnosis by RT/PCR. Sommer and Tautz (1989) have demonstrated that the first two nucleotides in the 3' end of the primers are critical for the success of PCR: any difference in those positions between the primers and the target will make the PCR unsuccessful. However, few changes after the first three nucleotides in the 3' end of the primers do not affect the PCR result provided the primers are long enough to bind to the target. In early 1990, for the diagnosis of PPR by RT/PCR, two primers were synthesised after comparison of the NP sequence between PPRV Nigeria 75/1 and RPV lapinized strain d of one RPV strain (unpublished data). With these primers, we have

experienced some false negative results in RT/PCR: the samples being negative in this test but positive in the immunocapture or in the hybridisation of the DNA probe on the extracted RNA. Cloning and sequencing data of these strains, all from Asia, have indicated a single nucleotide change at the 3' end of one primer (unpublished data). To design NP3 and NP4, we have followed the minimal requirements for PCR primers that have been defined by Sommer and Tautz (1989). Both primers are 24 nucleotides long and the first 3 nucleotides in their 3' ends are conserved in the partial NP gene sequence of 10 viruses of different origins. Three nucleotides in NP3, and four in NP4, are in variable positions but all are localised outside the sites that are critical for the primers. Moreover, there is no NP sequence that has all the seven variations in comparison with the primers. So they should not affect the RT/PCR result under the conditions of the test.

Usually, the confirmation of PPR diagnosis is made in the laboratory by the virus isolation or by the seroneutralisation test. PPRV is not easy to isolate in cell culture from pathological samples. This isolation process takes 2 to 3 weeks to complete if successful. For that the sample to be tested should be of good quality, kept in cold conditions until processing. These conditions are sometimes difficult to meet in many developing countries. With the immunocapture (Libeau *et al.*, 1994) or the RT/PCR tests the PPR infection could still be confirmed on samples where there is no more viable virus. In 1997, NP3 and NP4 primers were synthesised. They were tested in RT/PCR for the identification of PPRV of different origins as shown in fig. 3. They allow the specific amplification of a target of 351 nucleotides long from all PPR tested samples. The amplified product is recognised by an internal probe. The entire test, without the probing, is carried out and result obtained within a day. For 3 years now, nearly 60 pathological samples from Asia, Africa and the Middle East which were tested positive by immunocapture were also positive by RT/PCR with NP3/NP4. The latter test offers the possibility of analysing the relationship between the different PPRV strains after sequencing the amplified DNA (manuscript in preparation).

REFERENCES

ABU-ELZEIN, E.M.E., HASSANIEN, M.M., AL-AFALEQ, A.I., ABDEHADI, M.A., and HONSAWAI, F.M.J. Isolation of peste des petits ruminants from goats in Saudi Arabia. *Veterinary Record*, 1990, **127**, 309.

ANDERSON, E.C., HASSAN, A., BARRETT, T. and ANDERSON, J. (1990). Observation on the pathogenicity for sheep and goats and the transmissibility of the strain of virus isolated during the rinderpest outbreak in Sri Lanka in 1987. *Veterinary Microbiology*, **21**, 309-318.

BARON, M.D., BARRETT, T. (1995). Sequencing and analysing of the nucleocapsid (N) and polymerase (L) genes and the terminal extra-genic domains of the vaccine strain of rinderpest virus. *Journal of General Virology*, **76**, 593-602

BOOM, R., SOL, C.J.A., SALIMANS, M.M.M., JANSEN, C.L., WERTHEIM-VAN DILLEN, P.M.E. and VAN DER NOORDAA, J. (1990). Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of clinical Microbiology*, **28**, 495-503.

CHOMCZYNSKI, P. and SACCHI, N. (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*, **162**, 156-159.

COUACY-HYMANN, E., BIDJEH, K., ANGBA, A., DOMENECH, J., DIALLO, A. (1995). Goats vaccinated with the attenuated peste des petits ruminants virus are protected against rinderpest disease. *Research in Veterinary Science*, **59**, 106-109

DIALLO, A., BARRETT, T., BARBRON, M., SHAILA, M.S., TAYLOR, W.P. (1989) Differentiation of rinderpest and peste des petits ruminants viruses using specific cDNA clones. *Journal of Virological Methods*, **23**, 127-136.

DIALLO, A., BARRETT, T., BARBRON, M., MEYER, G., LEFEVRE, P.C. (1994) Cloning of the nucleocapsid protein gene of peste des petits ruminants virus: Relationship to other Morbilliviruses. *Journal of General Virology*, **75** , 233-237.

GOVINDARAJAN, R., KOTEESWARAN, A., VENUGOPALAN, A.T., SHYAM, G., SHAQUNA, S., SHAILA, M.S. and RAMACHANDRAN S. (1997) - Isolation of peste des petits ruminants from an outbreak in Indian Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Veterinary Record*, **141**, 573-574.

HAFFAR, A., MINET, C., BARBRON, B., GRILLET, C., LIBEAU, G., DIALLO, A. (1999). Aspects biologiques et moléculaires du virus de la peste des petits ruminants. *Annales de Médecine Vétérinaire*, **143**, 393-402.

KAMATA, H., TSUKIYAMA, K., SUGIYAMA, M., KAMATA, Y., YOSHIKAWA, Y. and YAMANOUCHI, K. (1991). Nucleotide sequence of cDNA to the rinderpest virus mRNA encoding the nucleocapsid protein. *Virus Genes*, **5**, 5-15.

LEFEVRE, P.C. and DIALLO A. (1990). La peste des petits ruminants. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, **9**, 935-950.

LIBEAU, G., DIALLO, A., COLAS, F., GUERRE, L. (1994). Rapid differential diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants using an immunocapture ELISA. *Veterinary Record*, **134**, 300-304.

LIBEAU G., DIALLO, A., LANCELOT, R., COLAS F. and GUERRE L. (1995). Development of a competitive ELISA for detecting antibodies to the peste des petits ruminants virus using a recombinant N protein. *Research in Veterinary Science*, **58** : 50-55

McCAUSTLAND, K.A., BI, S., PURDY, M.A., BRADLEY, D.W. (1991). Application of two RNA extraction methods prior to amplification of hepatitis E virus nucleic acid by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, **35**, 331-342.

NANDA (Y.P.), CHATTERJEE (A.), PUROHIT (A.K.), DIALLO (A.), INUI (K.), SHARMA (R.N.), LIBEAU (G.), THEVASAGAYAM (J.A.), BRÜNNING (A.), KITCHING (R.P.), ANDERSON (J.), BARRETT (T.) and TAYLOR (W.P.). (1996). The isolation of peste des petits ruminants virus from northern India. *Veterinary Microbiology*, 1996, 51, 207-216

SHAILA, M.S., PURUSHOTHAMAN, V., BHAVASAR, D., VENUGOPAL, K., VENKATESAN, R.A. (1989). Peste des petits ruminants of sheep in India. *Veterinary Record*, 125, 602.

SOMMER, R. and D. TAUTZ (1989). Minimal homology requirements for PCR primers. *Nucleic Acids Research*, 17, 6749.

STEINHAUER, D.A., de la TORRE, J.C. and HOLLAND, J.J. (1989). High nucleotide substitution error frequencies in clonal pools of vesicular stomatitis virus. *Journal of Virology*, 63, 2063-2071

TAYLOR, W.P. (1984) The distribution and epidemiology of peste-des-petits-ruminants. *Preventive in Veterinary Medicine*, 2, 157-166.

VOGELSTEIN, B. and GILLESPIE, D. (1979). Preparative and analytical purification of DNA from agarose. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76, 615-619.

WITT, D.J., M. KEMPER (1999). Techniques for the evaluation of nucleic acid amplification technology performance with specimens containing interfering substances: efficacy of Boom methodology for the extraction of HIV-1 RNA. *Journal of Virological Methods*, 79, 97-111

YAMADA, O., MATSUMOTO, T., NKASHIMA, M., HAGARI, S., KAMAHORA, T., UEYAMA, H., KISHI, Y., UEMURA, H., KUMRIMURA, T. (1990). A new method for extracting DNA or RNA for polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 27, 203-210.

YAMAGUCHI, Y., HIRONAKA, T., KAJIWARA, M., TATENO, E., KITA, H., HIRAI, K. (1992). Increased sensitivity for detection of human cytomegalovirus in urine by removal of inhibitors for the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, **37**, 209-218

FIGURE LEGENDS

Table 1:

List of the oligonucleotides that were synthesised and used in the test

Name	Purposes	Target	location*	sequence (5'-3')
Nad1	Forward	NP gene	790-812	CAAGCCAAGGATTGCAGAAATGA
Pad1	Reverse	P gene ^a	31-11	GTCGATGTGTGGTTGCTTGA
Nad2	Sequencing	NP gene	1012-988	AATTGAGTTCTCTAGAATCACCAT
NP67	Sequencing	NP gene	1106-1124	TTTGGCAGGTCATATTTG
SP4	Sequencing	NP gene	1530-1506	TCAGCCGATCTTTGAGCCTCACGAG
NP3	Forward	NP gene	1232-1255	TCTCGGAAATCGCCTCACAGACTG
NP4	Reverse	NP gene	1583-1560	CCTCCTCCTGGTCCTCCAGAATCT
SP3	Probe	NP gene	1292-1316	CAGGCGCAGGTCTCCTTCTCCAGC

* The numbers indicating the locations of the different primers on the NP target are according to the full gene sequence which has 21 more nucleotides than the published sequence (Diallo *et al.*, 1994; EMBL accession n° X74443).

^a P gene sequence not yet published

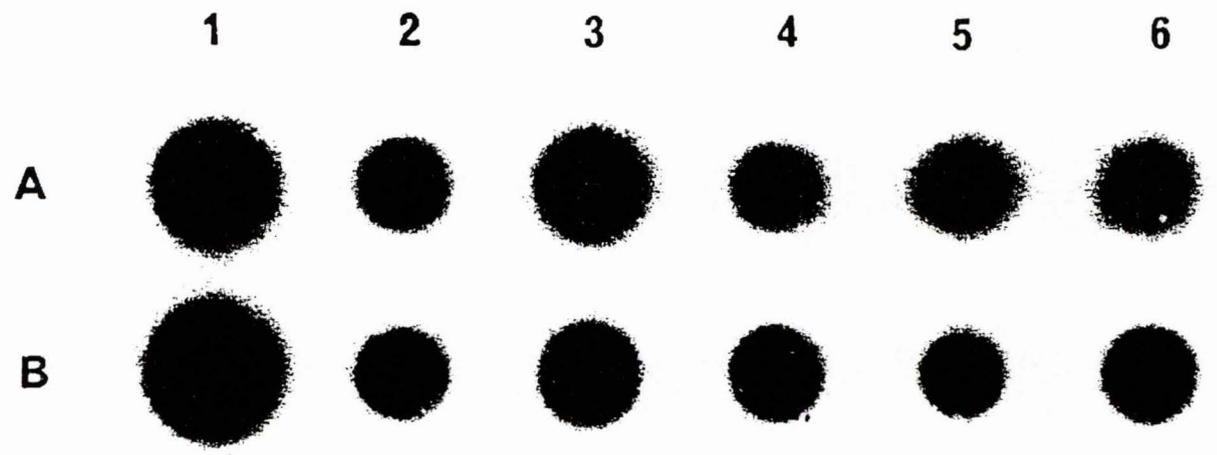
Table 2:

Comparison of the RT/PCR to the classical cell cytopathic (cpe) method to detect PPRV. Serial dilutions of the PPRV vaccine suspension were made from 10^2 to 10^{-6} TCID₅₀/ml. The different diluted suspensions were submitted to either titration on Vero cells or to RT/PCR as indicated in "Materials and Methods".

Quantity of detected virus	PCR	Cpe
100 TCID ₅₀	+	+
10 TCID ₅₀	+	+
1 TCID ₅₀	+	+
0.1 TCID ₅₀	+	-
0.01 TCID ₅₀	+	-
0.001 TCID ₅₀	+	-
0.0001 TCID ₅₀	-	-
0.00001 TCID ₅₀	-	-

Fig. 1 : Determination of the conditions for extracting RNA from cells by the glassmilk method. PPRV infected Vero cells were lysed in guanidine thiocyanate or sodium iodate 6M solutions. Then the RNA were extracted with the glassmilk method after different periods of time of incubation, dot-blotted onto a nylon membrane and hybridised with PPRV NP gene cDNA radioactive probe. The membrane was exposed to autoradiography at -70 °C overnight. Panel A: samples with sodium iodate as lysis solution; panel B: samples with guanidine thiocyanate as lysis solution. The nucleic acids were allowed to adsorb onto the glassmilk for 5, 10, 30, 60, 90 and 120 min (column n°1, 2, 3, 4, 5, and 6 respectively).

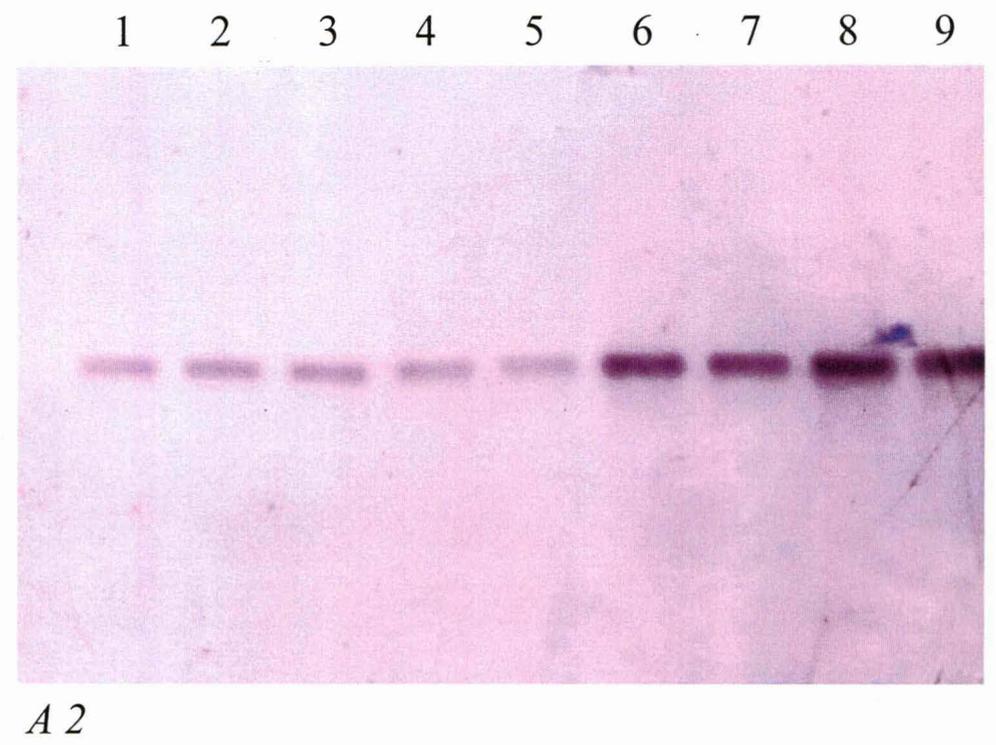
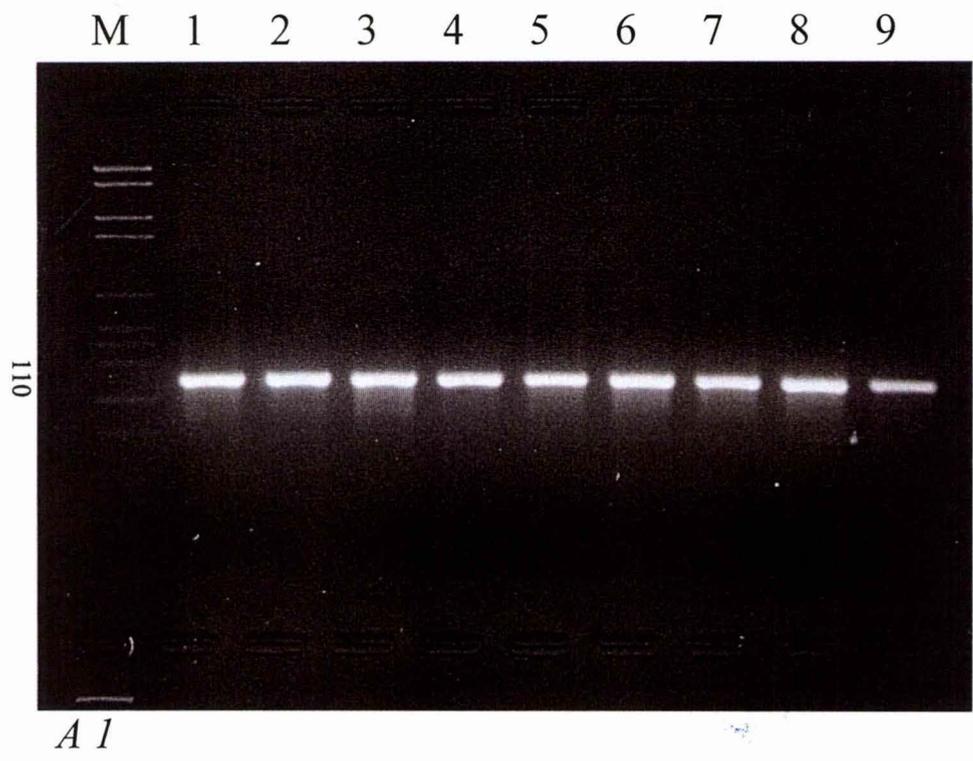
Fig. 2 : Consensus sequence obtained after the alignment of partial NP sequence data from 10 PPRV strains (see "Materials and Methods"). Any nucleotide, which is changed in at least one strain, is indicated by the letter n. Primers, which are used in PPR diagnosis, are indicated in bold print with their names and senses. Numbering is according to the full NP gene sequence of PPR Nigeria 75/1 (EMBL accession n° X74443; Diallo A., unpublished data).

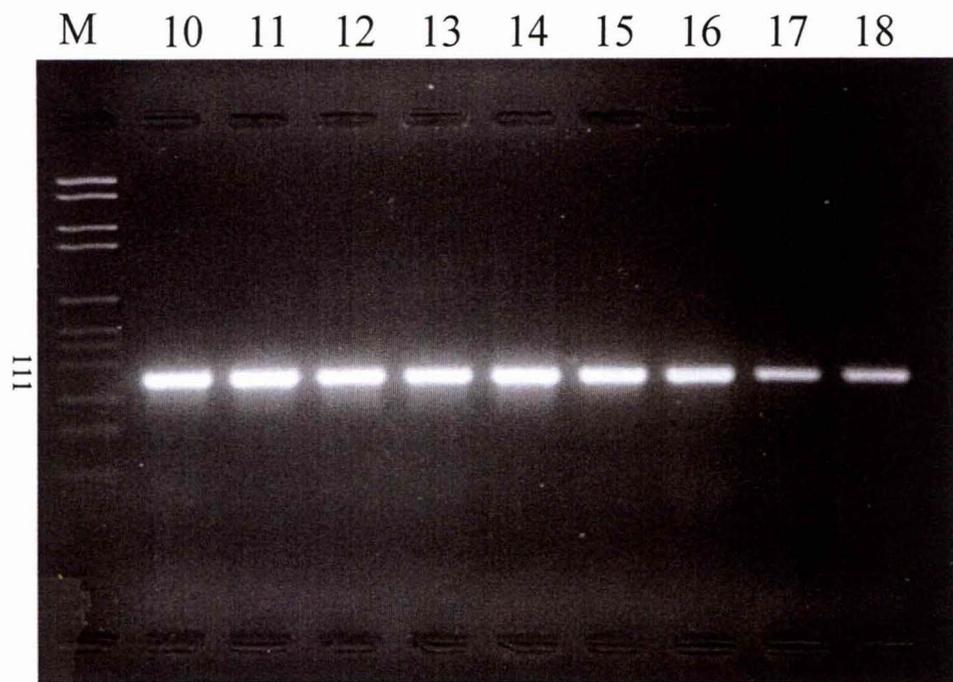


822	832	842	852	862	872
TCTGnGACAT	nGAnAACTAT	ATTnTnGAAG	CCGGnCTnGC	nAGTTTCATn	CTnACnATCA
882	892	902	912	922	932
AnTTTGGnAT	nGAnACCATG	TAnCCTGCAn	TnGGnCTnCA	CGAGTTnGCC	GGGGAnnTnT
942	952	962	972	982	992
CCACnATnGA	nnCCnTGATG	AAnnTnTATC	AnCAnCTAGG	nGAnnTTGCA	CCnTACATGG
1002	1012	1022	1032	1042	1052
TnATnCTAGA	GAACTCAnTT	CAGAAAnAAnt	TnAGTGCAGG	nGCnTATCCn	CTnCTnTGGA
1062	1072	1082	1092	1102	1112
GCTATGCnAT	GGGnGTTGGn	GTnGAGnTGG	AGAACTCnAT	GGGGGGnntG	AACTTnGGnA
1122	1132	1142	1152	1162	1172
GnTCATATTT	TGACCCnGCn	TATTTnCGTC	TnGGACAGGA	GATGGTCAGA	AGATCnGCAG
1182	1192	1202	1212	1222	1232
GnAAGnTCAG	CTCnGTnATn	GCnGCnGAGC	TnGGnATCAC	nGCAGAGGAn	GCnAAACTAG
NP3 →	1242	1252	1262	1272	1282
TCTCnGAAAT	CGCCTCnCAG	nCTGGGGAnG	nAnGnACCnn	TAGnGGGnCn	GGGCCnnGn C
SP3 →	1302	1312	1322	1332	1342
AGGCGCAGGT	nTCnTTnCTC	CAGCAnAAAA	nnGnnGAnGG	AGAGTCnnnn	nCAnCnGnGA
1362	1372	1382	1392	1402	1412
CCAGnGAAGn	nnnCAnnnCT	nnGAnnCCAn	AnGGnnCnGA	nGnnAnGGnC	AnnAnnCnnn
1422	1432	1442	1452	1462	1472
CnCGCnCAGG	nAnnCCnAGA	GGAGnnACnC	CnnnCCAACn	GCTnnnGGAn	ATCATGCnnG
1482	1492	1502	1512	1522	1532
AnGAnGnnnn	CnCGnGnGnn	nCnnGnCAA	nCnCTCGTGA	GGCTCAnnGn	TCGGCnGAGG
1542	1552	1562	1572	← NP4	1582
CACTCnTnAG	nCTnCAnGCn	ATGGCCA AGA	TnCTnGAGGn	CCAnGAGGAG	GGAGAAGACn
1602	1612	1622	1632	1642	1652
ACnnnCAGnn	nTAnAnCGAC	AnGGATCTCC	TnnGnTnAGn	AGAnnnnCCn	nCnnnCnnnA
1662	1672	1682			
nCnnnnnCAA	nAnAnCnCCn	nnCAGTnTTA	TAAAAAA		

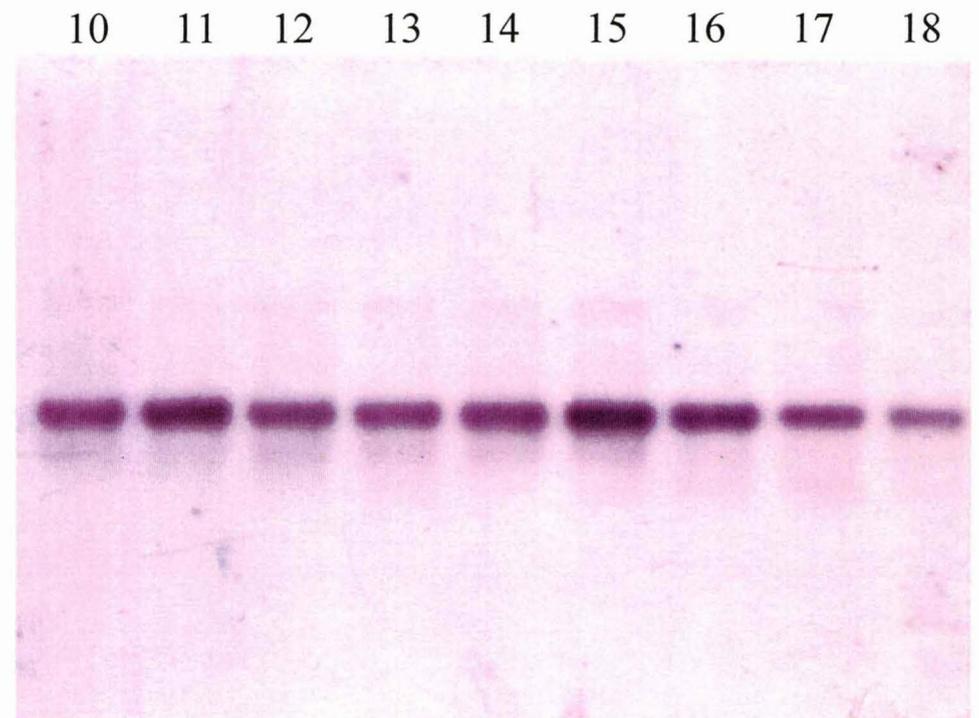
Fig. 3 : Specific PCR amplification of the NP gene fragment of different PPRV isolates with primers NP3/NP4. The amplified products are analysed by electrophoresis on 2% agarose gel stained with ethidium bromide (a) and transferred onto nylon membrane then probed with a digoxigenin labelled internal oligonucleotide (b) as indicated in "Materials and Methods".

Lanes: M (DNA MW markers); 1 (PPR Guinea Bissau), 2 (PPR Senegal 94), 3 (PPR Burkina-Faso 86), 4 (PPR Côte-d'Ivoire 89), 5 (PPR Guinea), 6 (PPR Dorcas, from Sultanate of Oman), 7 (PPR Ibri, from Sultanate of Oman), 8 (PPR Sinnar, from Sudan), 9 (PPR Ethiopia 94), 10 (PPR Nigeria 75/1), 11 (PPR Nigeria 75/2), 12 (PPR Nigeria 75/3), 13 (PPR Nigeria 76/1), 14 (PPR Accra), 15 (PPR Ghana 78/1), 16 (PPR Central Africa Republic), 17 (PPR Israel), 18 (PPR Egypt), 19 (PPR India 94/1), 20 (PPR India Calcutta), 21 (PPR India Pradesh), 22 (lymph node goat Ethiopia 96), 23 (lung goat India Tamilnadu 1996), 24 (lymph node goat Israel 97), 25 (lymph node goat Mali, 1997), 26 (Rinderpest virus RBOK strain), 27 (Uninfected Vero cells).



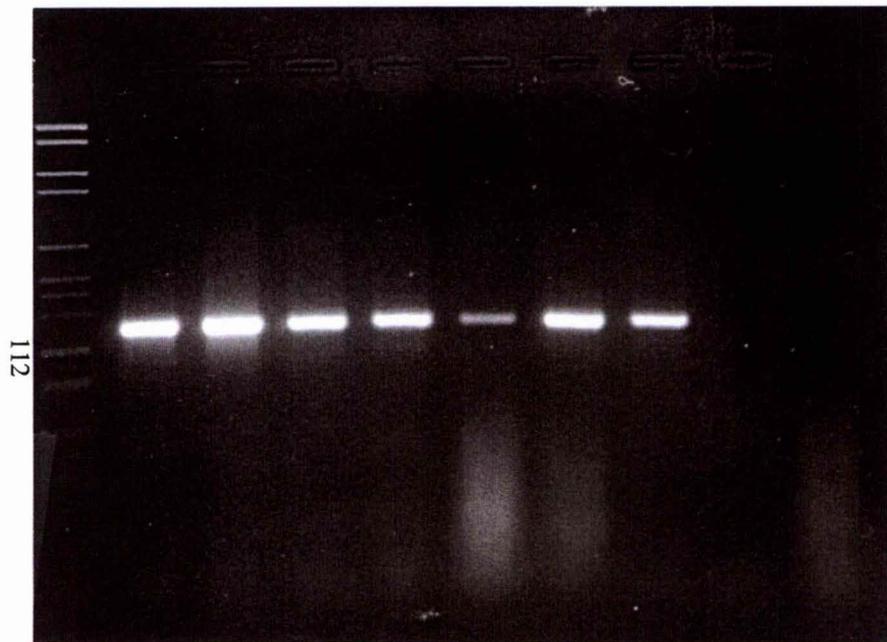


B 1



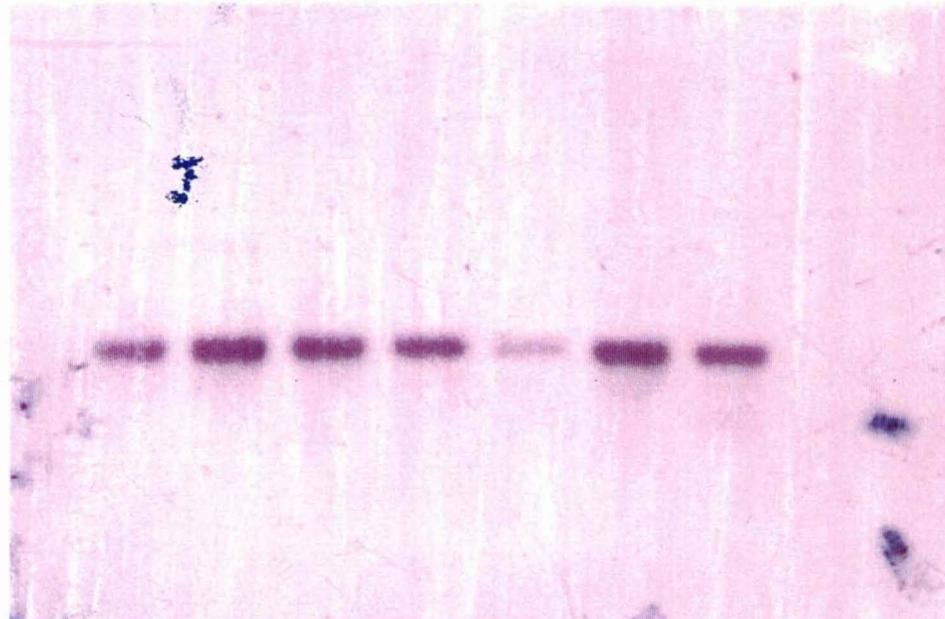
B 2

M 19 20 21 22 23 24 25 26 27



C1

19 20 21 22 23 24 25 26 27



C2

1.1.1.2 Détection d'ARN du virus PPR chez les dromadaires. ARTICLE 3 : Roger F, Shamaki D, Hurard C, Mebratu GY, Yigezu LM, Grillet C, Libeau G, Diallo A. Detection of Peste des Petits Ruminants RNA in Lungs of Camels Suffering from Respiratory Disease in Ethiopia and Nigeria. Soumis à Vet . Microbiol.

**Detection of Peste des Petits Ruminants RNA in Lungs of Camels Suffering from
Respiratory Disease in Ethiopia and Nigeria**

ROGER¹, F., SHAMAKI², D., HURARD¹, C., MEBRATU³, G.Y., YIGEZU³, L.,
GRILLET¹, C., LIBEAU¹, G. and A. DIALLO¹

¹CIRAD, Programme Santé Animale, TA 30/G, Campus International de Baillarguet, 34398
Montpellier, Cedex 5, France

²National Veterinary Research Institute, Vom, Plateau State, Nigeria

³National Veterinary Institute, PO BOX 19, Debre-Zeit, Ethiopia

Keywords: PPR, Camel, PCR, Respiratory Disease

INTRODUCTION

Peste des petits ruminants is an acute and highly contagious disease of small ruminants. The causative agent is peste des petits ruminants virus a morbillivirus related to measles, rinderpest and canine distemper viruses (Gibbs *et al.*, 1979). Clinically, it is characterised by fever, congestive lesions of different mucosa membranes followed by ocular and nasal discharges, erosive stomatitis, diarrhea and death in severe cases. It is now considered as one of the major constraints to small ruminant productions in all areas where it is present. After its first description in Côte d'Ivoire by Gargadennec and Lalanne (1942), PPR was for a long time associated only with the West African French speaking countries. With the development of specific diagnostic tests, it is now apparent that the disease is widely distributed. Its geographical distribution covers nearly all the zones from the Sub-Saharan belt in Africa to West Asia (Taylor, W.P., 1984; Lefèvre and Diallo, 1990; Rossiter, P.B and Taylor, W.P, 1994; Wamwayi, H.M. *et al.*, 1995). In fact it was overlooked in many areas due to its clinical similarity to rinderpest or pasteurella infection. The confusion with the latter is due to the catarrhal inflammation of the respiratory tract with bronchopneumonia that is a common complication in the later stages of the disease. Because of these respiratory symptoms, PPR was known in Nigeria by the name of "pneumo-enteritis complex" or by the pidgin name of Kata (Withney *et al.*, 1967; Rowland *et al.*, 1971; Isoun and Mann, 1972). Roeder *et al.* (1994) who described the first PPR outbreak in goats in Ethiopia have noticed coughing, sneezing and pneumonia as the main symptoms of the disease. Such respiratory syndrome was observed during an epizootic disease that affected camels in Ethiopia between May 1995 and September 1996. This is a report on the detection of PPR virus RNA in some pathological samples that were collected during that outbreak and also lung tissues from some camels with respiratory syndrome from the Sokoto abattoir in Nigeria.

MATERIALS AND METHODS

a) *Post-mortem samples.*

In Ethiopia, in January 1996, samples of lymph nodes, lung and liver were taken from a camel which died from a respiratory disease during the outbreak in the Awash district. Sera were also collected from 90 dromedaries in three different regions. The first group (G1) of sera composed of 17 samples was collected in August 1995 from Southern Ethiopia, an area that was considered as non-affected by the outbreak under investigation. The second set, G2, was collected from 47 clinically sick or contact camels in Eastern Ethiopia in November 1995. The final group, G3, was made up of serum samples that were collected from camels in Northern Ethiopia nearly one month after the outbreak had died out.

In the present study lung, lymph nodes and spleen samples that were collected from 6 camels suffering from respiratory disease and slaughtered in the abattoir of Sokoto town, Nigeria, were analysed. A total of 439 sera collected from camels on different occasions between 1980 and 1993 from 4 states (Borno, Kano, Sokoto and Plateau) of Nigeria were also analysed.

b) *Diagnostic techniques.*

The serum samples were analysed by competitive ELISA based on the recombinant PPR Np protein and monoclonal antibody anti PPR Np as described by Libeau *et al.* (1995) or on semi-purified viruses (RPV or PPRV) and monoclonal antibodies specific to RPV or PPRV hemagglutinin (Anderson and McKay, 1994). All tissue samples were first analysed in the National Veterinary Research Institute (Vom, Nigeria) or the National Veterinary Institute (Debre-Zeit, Ethiopia) by the immunocapture technique (Libeau *et al.*, 1994). Then, for further analyses, they were sent to Cirad-emvt (Montpellier, France). In that Institute, they were tested again by immunocapture ELISA test and then by RT-PCR to amplify the PPRV Np gene with primers NP3 and NP4, as described by Couacy *et al.* (submitted for publication). The amplified PCR products were gel purified and ligated into the pGEMT plasmid (Promega). Competent XL-Blue bacteria were transformed with the ligated DNA. The positive colonies were screened. Their plasmids were purified on Qiagen columns and

sequenced on an automatic ABI 377 sequencer by using M13 and M13r primers. The sequence data were analysed by the DNASIS software (Hitachi).

RESULTS

a) Epidemiological data.

In May 1995, a highly contagious disease broke out in Ethiopia in the camel population. It was a respiratory syndrome that was characterised by sero-muco-purulent nasal discharge, productive coughing, and dyspnea with abdominal breathing. The onset of the disease was characterised by a sudden elevation of the body temperature (41-42°C), followed by lacrimation. Swelling of the sub-mandibular area and diarrhoea were recorded in some cases. One to two weeks after the initial symptoms, the animals were prostrate, lethargic, and incapable of movement. Neurological signs, including paralysis, were observed in some herds that had previously manifested the respiratory syndrome. In a period of less than 10 months, the disease was registered in most camel-rearing areas of the country (fig. 1). The morbidity rate sometimes exceeded 90%. The mortality rates reported from different places varied from as high as 70% to as low as 5%, with vigorous antibiotic treatment to prevent or control the secondary bacterial infection. The use of oxytetracycline and streptomycin, particularly when given early, demonstrated good therapeutic effects.

b) Serology

The results from Ethiopian sera are presented in tables 1 and 2. All sera (90) were tested for the presence of PPR antibodies while 80 were analysed by the rinderpest (RP) C-ELISA. The positivity rate for all the samples was 7.8% for PPR and 21.3% for rinderpest. Among the sera that were analysed by both tests, 57 out of 80 were negative for PPR and RP antibodies. No serum was dual positive (table 1). When we consider the results related to the areas as indicated in "Materials and Methods", no PPR and RP antibodies were found in the Borona zone (G1). However, the sera collected during and after the camel respiratory disease outbreak in the Awash, Kombolcha and Afar regions (G2 and G3) were positive for both PPR and RP antibodies (table 2). It should be noted that rinderpest occurred in Afar region in 1994 and that PPR outbreaks were reported in sheep and goat populations in 1995 in different parts of Ethiopia, and notably in lowland areas such as Afar and East-Shoa.

The serum samples from Nigeria were all negative for the RP test, but some were shown to contain PPR antibodies (table 3): 16.25% and 0.9% in Kano state in 1980 and 1993 respectively, 13.3% in Plateau state in 1993.

c) *Viral Antigen and RNA detection*

Some tissue samples collected in the field were tested PPR positive in Ethiopia and Nigeria using the immunocapture ELISA test described by Libeau *et al.* (1994). These results were confirmed in Cirad-emvt by both immunocapture and RT-PCR tests for the samples of the Ethiopian camel which died 5 days after the onset of the disease and for 3 out of 6 Nigerian camels. The PCR products were sequenced as indicated in "Materials and Methods". The data that were obtained were aligned (see fig.2) with the partial Np sequences of PPRV Ethiopia 94 (Diallo, A., unpublished data) and PPRV Nigeria 75/1 (Diallo *et al.*, 1994). This analysis indicated clearly that the RNA corresponding to PPRV Np gene was amplified from the camel pathological samples.

DISCUSSIONS and CONCLUSION

This is a report on indications of camel infection by PPRV, a virus that is known to be specific to small ruminants. The *Morbillivirus* genus is a group formed by closely related highly pathogenic viruses: measles virus, rinderpest virus, peste des petits ruminants virus, canine distemper virus, phocine distemper virus and dolphin morbillivirus. Among them, only rinderpest has a large host range. The others seem to be highly host specific. However, it has been reported that canine distemper virus has caused disease in lions in East Africa (Roelke-Parker *et al.*, 1996; Osterhaus *et al.*, 1997). Late in the 1980s, a highly contagious disease killed many seals in the North Sea. Two morbilliviruses that were isolated during these outbreaks were named phocine distemper virus 1 (PDV1) and phocine distemper virus 2 (PDV2). Further analyses carried out on these two viruses have demonstrated that PDV2 is in fact a CDV strain and that there is only one PDV. Therefore, it appears that CDV can cause disease in some animal species other than the canine species. PPR was regarded as a disease of sheep and goats until 1987 when reports mentioned the serological evidence of PPRV infection and its involvement in outbreaks in wild small ruminants life (Hafez *et al.*, 1987; Furley *et al.*, 1987). Many experiments to reproduce PPR in pigs and adult cattle either by in

contact with sick goats or by virus inoculation have failed. Only sero-conversions to PPRV were obtained during these experiments (Dardiri *et al.*, 1976; Gibbs *et al.*, 1979; Nawathe and Taylor, 1979). The same results were previously obtained by Mornet *et al.* in 1956 but these authors, in their experiments, noticed pyrexia and oral erosion in young cattle. However, up to now, no disease related to PPRV has yet been found in cattle living in naturally conditions. But, Anderson and MacKay have reported serological evidence for the transmission of PPRV from sheep and goats to cattle under natural conditions in Africa. Bearing in mind that both rinderpest and PPR resemble each other clinically, and as Babiker and Taylor (1984), suggested, it is possible that, occasionally, cattle in poor conditions may develop lesions that would be diagnosed as rinderpest. Concerning the camel, the first suspicion of infection by PPRV has been reported by Ismail *et al.* in Egypt. These authors have detected the presence of PPR antibodies in 6 out of 142 camel sera examined (Ismail *et al.*, 1992). During our present investigation, antibodies against PPRV were also found by cELISA in camel sera. Moreover, PPR RNA were detected in some tissue samples collected from camels that had suffered from respiratory disease. However, we have been unable to isolate any viruses from these samples probably because no more viable virus was present at the time they reached the Cirad/emvt laboratory. A PPRV strain isolated from goats during an outbreak, which involved sheep and goats, was inoculated into two camels in an attempt to reproduce the disease. However, this experiment was unsuccessful (unpublished data). This might indicate that the camel is not sensitive to PPRV as is the case with rinderpest virus (Taylor, W.P, 1968). It can only undergo a silent infection by contact with infected small ruminants. It should be noted that a PPR outbreak occurred in the sheep population nearly at around the same time as the camel disease in Ethiopia. Another hypothesis is the need for poor living conditions or the presence of some pathogenic bacteria to provoke the disease in camels. Even in its natural hosts, namely sheep and goats, it is well known that PPRV does not always provoke clinical symptoms. Indeed, the apparition of the disease in these animals depends on the species, the breed, the age and primarily the presence of other pathogenic micro-organisms such as *pasteurella*, *staphylococcus* (Obi *et al.*, 1983; Ezeokoli *et al.*, 1986; Ugochkwu and Agwu, 1991; Rossiter and Taylor, 1993). *Streptococcus equi* subsp. *equi* has been isolated from samples collected during the camel disease reported here (Yigezu *et al.*, 1997). This bacterium is known to be the agent of strangles, a disease of only domestic equines. Therefore, the possibility of a synergism between PPRV and this bacterium might have favoured the outbreak that occurred in the camel population in Ethiopia in 1995-1996. Such hypothesis needs further investigation.

Acknowledgements

EU, through the contract on the molecular epidemiology of PPR and rinderpest (TS2-A-0178-F), has partially supported this work.

References

1. Akpan M.O., Okewole E.A., Obi, T.U. and Awah J.N. A comparison of three chemotherapeutic regimens in the management of naturally peste des petits ruminants (PPR) disease in West African dwarf goats. *Tropical Veterinarian*, 1999, **17**, 87-96
2. Anderson, J. and McKay, J.A. The detection of antibodies against peste des petits ruminants virus in cattle, sheep and goats and the possible implications to rinderpest control programmes. *Epidemiology and Infection.*, 1994, **112**, 225-231
3. Anene, B.M., Ugochukwu, E.I. and Omamegbe, J.O. The appraisal of three different pharmaceutical regimes for the treatment of naturally occurring peste des petits ruminants (PPR) in goats. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*, 1987, **35**, 1-3
4. Couacy-Hymann, E., Roger F. , Hurard C., Guillou J.P., Libeau G., Diallo A. Rapid and sensitive detection of peste des petits ruminants virus by a polymerase chain reaction assay. (submitted for publication).
5. Diallo, A., Barrett T., Barbron M., Meyer G. and Lefèvre P.C.. Cloning of the nucleocapsid gene of peste des petits ruminants virus relationship to other morbillivirus. *Journal of General Virology*, 1994, **75** : 233-237
6. EL Hag Ali, B. and Taylor, W.P. Isolation of peste des petits ruminants virus from the Sudan. *Research in Veterinary Science*, 1984, **36**, 1-4
7. Ezeokoli, C.D., Umoh,J.U., Chineme, C.N., Isitor, G.N. and Gyang, E.O. Clinical and epidemiological features of peste des petits ruminants in Sokoto red goats. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 1986, **39**, 269-273

8. Furley, C., Taylor, W.P. and Obi, T.U. An outbreak of peste des petits ruminants in a zoological collection. *Veterinary Record*, 1987, **121**, 443-447
9. Gargadennec, L. et Lalanne, A. La peste des petits ruminants. *Bulletin des Services Zootechniques et des Epizooties de l'Afrique Occidentale Française*, 1942, **5**, 16-21.
10. Gibbs, E.P.J., Taylor, W.P., Lawman, M.P.J. and Bryant, J. Classification of peste des petits ruminants virus as the fourth member of the Genus Morbillivirus. *Intervirology*, 1979, **11**, 268-274.
11. Govindarajan, R., Koteeswaran, A., Venugopalan, A.T., Shyam, G., Shaquna, S., Shaila, M.S. and Ramachandran, S. Isolation of peste des petits ruminants from an outbreak in Indian Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Veterinary Record*, 1997, **141**, 573-574.
12. Ismail, T.M., Hassan, H.B., Youssef, N.M.A., Akha, G.M., Abd Le-Halim, M.M. and Fatehia, M.M. studies on prevalence of rinderpest and peste des petits ruminants antibodies in camel sera in Egypt. *Veterinary Medicine Journal Giza*, 1992, **40**, 49-53
13. Isoun, T.T. and Mann, E.D., A stomatitis and pneumoenteritis complex of sheep in Nigeria. *Bulletin of Epizootic Diseases of Africa*, 1972, **20**, 167-174
14. Lefèvre, P.C. and Diallo, A. Peste des Petits Ruminants. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 1990, **9**, 951-965.
15. Libeau G., Diallo A., Colas F. and Guerre L. Rapid differential diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants using an immunocapture ELISA. *Veterinary Record*, 1994, **134**, 300-304
16. Libeau G., Diallo A., Lancelot R., Colas F. and Guerre L. Development of a competitive ELISA for detecting antibodies to the peste des petits ruminants virus using a recombinant N protein. *Research in Veterinary Science*, 1995, **58** : 50-55

17. Mornet, P., Orue, J., Gilbert, Y., Thiery, G. et Sow, M. La peste des petits ruminants en Afrique occidentale française. Ses rapports avec la peste bovine. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 1956, **9**, 313-342.
18. Nawathe, D.R. and Taylor, W.P. Experimental infection of domestic pigs with the virus of peste des petits ruminants. *Tropical Animal Health and Production*, 1979, **11**, 120-122.
19. Obi, T.U., Ojo, M.O., Durojaiye, O.A., Kasali, O.B., Akapavie, S., and Opasina, D.B.. Peste des petits ruminants (PPR) in goats in Nigeria: Clinical, Microbiological and Pathological features. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, 1983, **30**, 751-761
20. Rowland, A.C. Scott, G.R., Ramachandran, S. and Hill, H.D. A comparative study of peste des petits ruminants and kata in West African dwarf goats. *Tropical Animal Health and Production*, 1971, **3**, 241-247
21. Roeder, P.L., Abraham, G., Kenfe, G. and Barrett T. Peste des petits ruminants in ethiopian goats. *Tropical Animal Health and Production*, 1994, **26**, 69-73
22. Roelke-Parker, M.E., Munson, L., Parker, C., Kock, E., Cleaveland, S., Carpenter, M., O'Brien, S.J, Pospischil, A., Hofman-Lehmann, R., et. al. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature*, 1996, **381**, 172.
23. Rossiter, P.B and Taylor, W.P.- Peste des petits ruminants. In : *Infectious diseases of Livestock*. Eds: J.A. W. Coetzer, G.R. Thomson and R.C. Tustin., 1994, VolIII, p 758- 765
24. Taylor, W.P. The susceptibility of the one humped camel (*Camelus dromedarius*) to infection with rinderpest virus. *Bull. Epizo. Dis. Afr.*, 1968, **16**, 405-410.
25. Taylor, W.P. The distribution and epidemiology of peste des petits ruminants. *Preventive Veterinary Medicine.*, 1984, **2**, 157-166
26. Ugochukwu, E.I. Isolation and identification of aerobic pathogenic bacteria from pneumonic lungs of goats suffering from pneumonia enteritis complex. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*, 1985, **33**, 303-306

27. Wamwayi, H.M., Rossiter, P.B., Kariuki, D.P., Wafula, J.S., Barrett, T., and Anderson, J. Peste des petist ruminants antibodies in East Africa. *Veterinary Record*, 1995, **136**, 199-200
28. Whitney, J.C., Scott, G.R., Hill, D.H.. Preliminary observations on a stomatitis and enteritis of goats in Southern Nigeria. *Bulletin of Epizootic Diseases of Africa*, 1967, **15**, 331-341
29. Yigezu, L.M., Roger, F., Kiredjian, M. and Tariku, S. Isolation of *Streptococcus equi* subspecies *equi* (strangles agent) from an Ethiopian camel. *Veterinary Record*, 1997, **140**, 608

Table 1: Results of Ethiopian camel sera tested by PPR or RP c-ELISA

PPR	Rinderpest	number of sera tested
-	-	57
+	-	6
-	+	17
+	+	0
+	non tested	1
-	non tested	9

Table 2: PPR and RP antibodies detected in camel sera in different areas in Ethiopia

Location of sera collection	Percentage of positive PPR (N= 90)	Percentage of positive RP (N= 80)
G1 (Borona, 1995; non affected area)	0 (n= 17)	0 (n= 14)
G2 (Awash, Afar, 1995; during outbreak)	6.4% (n=47)	36.4% (n=44)
G3 (Kombolcha, Afar, 1996; after outbreak)	15.4% (n=26)	4.5% (n=22)

Table 3: Detection of PPR antibodies in camel sera from Nigeria

Location and year of serum collection	Number of tested sera	number PPR +	Percentage of PPR +
Kano State (1980)	80	13	16.25%
Kano State (1993)	231	2	0.9%
Borno State (1993)	82	0	0%
Sokoto State (1993)	31	0	0%
Plateau State (1993)	15	2	13.3%

Figure 1: Map of the zones in Ethiopia where the outbreak of camel respiratory disease was recorded

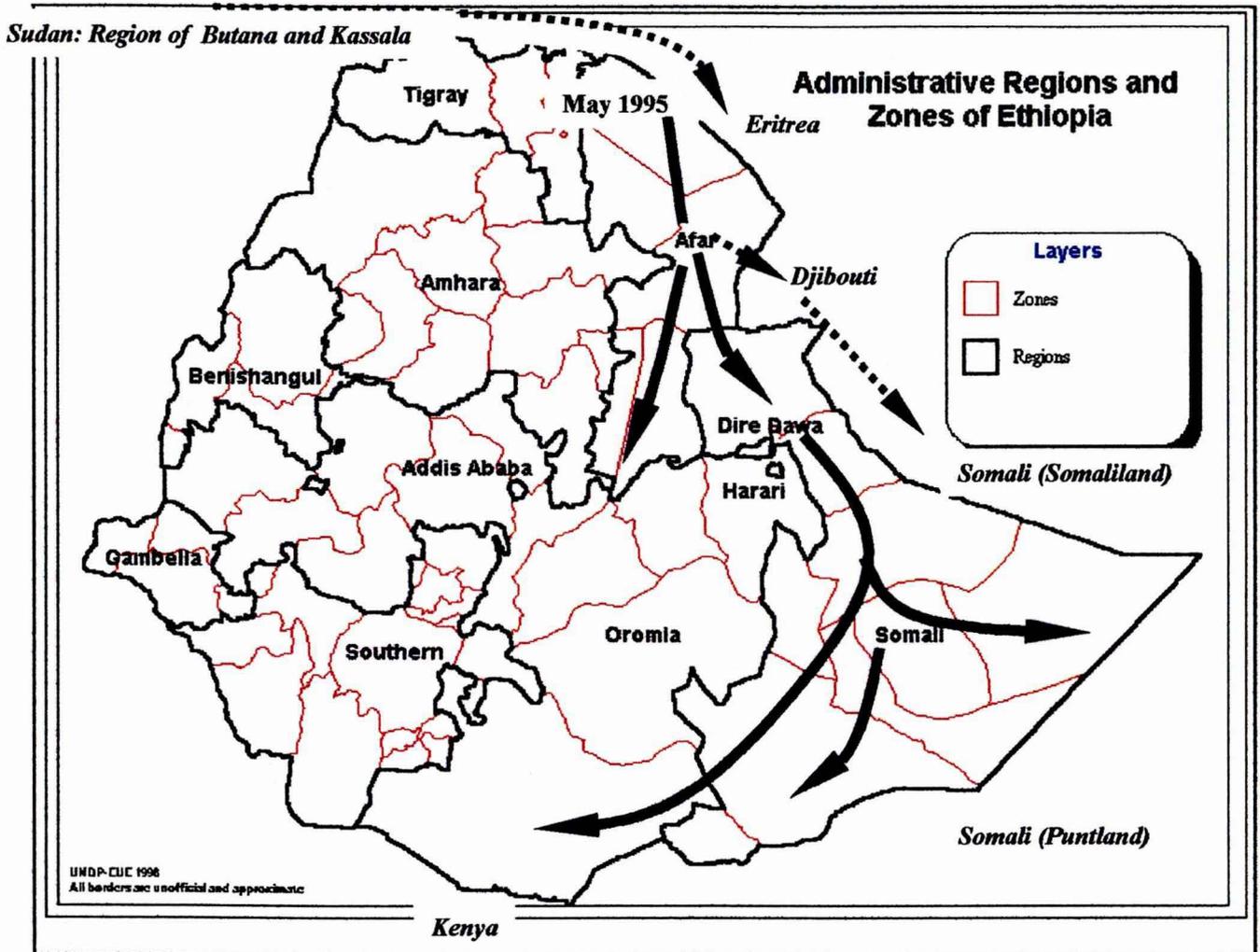
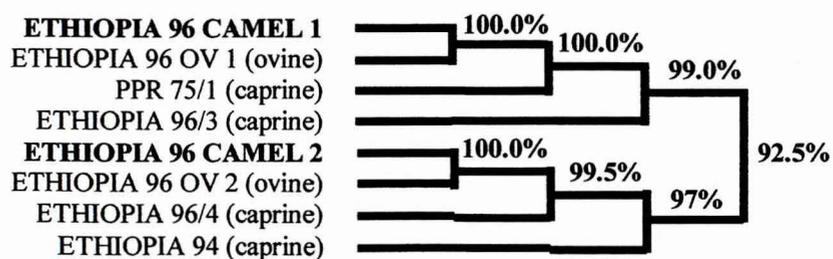


figure 2: Dendogramme obtained by the comparison of the sequence of different PPR amplified products



1.1.2. Reproductions expérimentales préliminaires

En accord avec le NVI, le CIRAD-EMVT a décidé de mettre en place des infections expérimentales préliminaires.

Ces infections expérimentales avaient pour objectifs :

1. de permettre une éventuelle reviviscence des échantillons de dromadaires (positifs en immuno-capture et PCR, mais négatifs lors de la tentative d'isolement sur cultures cellulaires) par passages successifs sur des petits ruminants puis sur des dromadaires ;
2. de tenter de reproduire, chez des dromadaires, la maladie observée à partir de souches virales proches génétiquement de celles détectées en PCR chez les dromadaires malades ;
3. de tester les souches PPRV éthiopiennes en parallèle sur des ovins et caprins utilisés comme témoin pour les souches ;
4. d'évaluer, chez les petits ruminants, la distribution tissulaire du PPRV. Ceci n'a jamais été réalisé pour la PPR mais avait été étudié pour la peste bovine. Etant données les observations cliniques nerveuses chez le dromadaire et le tropisme cérébral des Morbillivirus humain (MV) et canin (CDV), il était prévu de rechercher le virus au niveau de l'encéphale (cerveau et cervelet) ;
5. de préparer des expérimentations avec la ou les souches camelines, si l'isolement aboutissait, et ultérieurement d'associer les souches de PPRV et *S. equi* subsp. *equi* (et par ailleurs de tester également *S. equi* subsp. *equi* seul).

Deux types d'expérimentations ont été réalisées :

Expérimentation 1 : Inoculation des tissus du dromadaire positif successivement à des petits ruminants au NVI (Ethiopie), puis à partir d'un de ces animaux à des caprins et ovins à l'IAH-Pirbright, (Grande-Bretagne), puis de nouveau, à partir de ces animaux, à des petits ruminants et des dromadaires au NVI (Ethiopie).

Expérimentation 2 : Inoculation d'une souche de PPRV à des dromadaires et des petits ruminants (NVI, Ethiopie).

1.1.2.1 Matériels et méthodes

Les infections expérimentales ont été réalisées en collaboration avec nos collègues du NVI et ont été mises en place au cours de deux missions de 15 jours chacune au cours de l'année 1998.

i. Animaux

Les petits ruminants utilisés en Ethiopie pour les reproductions expérimentales provenaient de zones (régions des hauts-plateaux) non affectées par la PPR. Les sérums de ces animaux ont

été testés en ELISA anticorps PPR et peste bovine (techniques in: Libeau, 1998) à deux reprises à 15 jours d'intervalle.

Les ovins et caprins utilisés à l'IAH-Pribright sont entretenus dans l'animalerie de cet Institut situé en Grande-Bretagne, pays indemne de PPR.

Pour les dromadaires, une mission d'exploration a été organisée dans la région du Borana à Negele. La principale contrainte était de disposer d'animaux provenant de troupeaux non affectés par la maladie lors de l'épizootie de 1995-1996 et séronégatifs pour la PPR et la peste bovine. Cette zone du Borana a été sélectionnée principalement en raison de la possibilité de se procurer aisément des animaux, ce qui est difficile voire impossible en zones Afar et Somali. Cependant, les troupeaux visités avaient été touchés par la maladie en 1996 (cf. chapitre 2). Des prises de sang ont été réalisées sur 60 animaux et les sérums ont été analysés en ELISA de compétition pour la détection d'anticorps anti-PPRV et anti-RPV (techniques décrites In: Libeau (1998)). Les résultats ont été négatifs pour l'ensemble de ces sérums. Il a été décidé d'acheter 10 jeunes dromadaires (âgés de 10 à 24 mois). Ils ont été transportés depuis Negele jusqu'au laboratoire de Debre Zeit (NVI). Leurs sérums, testés en ELISA à deux reprises à 15 jours d'intervalle, étaient négatifs.

Les animaux ont été déparasités à deux reprises par des anthelminthiques (dromadaires et petits ruminants) et par un trypanocide (dromadaires).

ii. *Expérimentation 1 : processus et tissus utilisés*

Un broyat de foie et liquide thoracique du dromadaire positif (C0), conservés à -20°C au NVI (mais auparavant transporté du terrain en boîte isotherme avec de la glace) a été inoculé à des petits ruminants par voie sous-cutanée (SC). Puis, les passages successifs ont été réalisés à partir de lymphocytes et poumon, mélangés et broyés dans du milieu essentiel minimum (MEM).

Le processus adopté pour ces différents passages par inoculations successives est résumé par la figure IV.

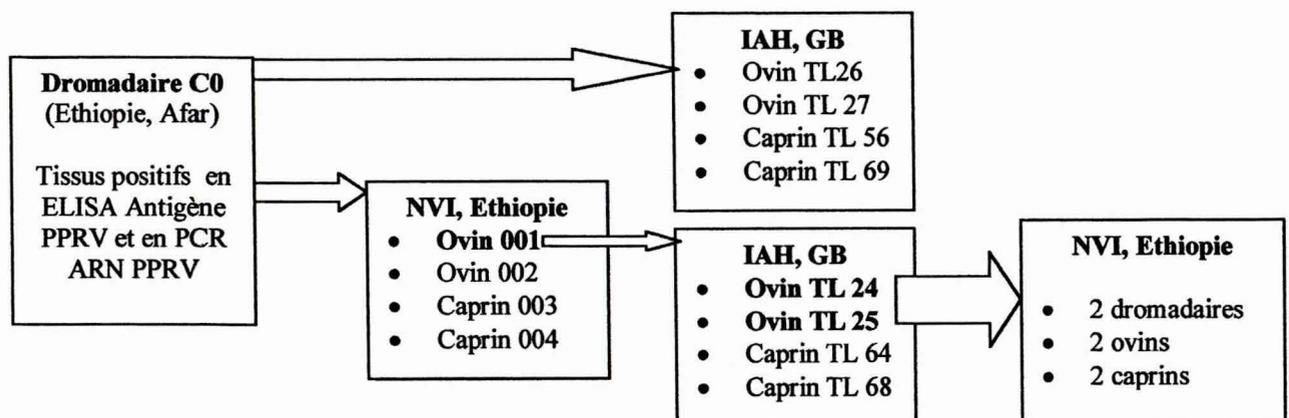


Figure IV : processus expérimental par inoculations successives

iii. *Expérimentation 2 : souches virales utilisées*

Les ARN de PPRV détectés à partir du dromadaire C0 par PCR puis séquencés (ADNc) ont montré l'existence de 2 souches appartenant à deux groupes génétiques, les groupes II et III définis par Diallo (1997). L'arbre phylogénétique des souches isolées en Ethiopie est présenté en annexe IV (In: article *J. Camel Practice & Research*), celui des souches PPRV et des 4 groupes génétiques en annexe V.

La souche 'Ethiopia 94' du groupe III a été retenue dans un premier temps. Les inoculations ont été réalisées par voie sous-cutanée (SC) sous un volume de 1 ml. Cette souche 'Ethiopia 94' a été inoculée à deux dromadaires, deux ovins et deux caprins.

iv. *Suivi des animaux*

La température des animaux et les signes cliniques ont été relevés bi-quotidiennement pendant 15 jours. Des prélèvements de sang total (préparation de lymphocytes) et de sang sur tube sec (sérums), des écouvillons nasaux et les organes des animaux autopsiés ont été conservés au NVI et transmis en partie au CIRAD-EMVT (France) pour analyses. Une partie des analyses (sérologie) a été effectuée au NVI.

La température normale des petits ruminants est de $39,1 \pm 0,5$ °C. La température normale des dromadaires est de 36°C à 36,5°C le matin et de 39°C le soir. Cependant, il est à souligner qu'en fonction de la température ambiante, celle du dromadaire peut présenter des amplitudes de 6 à 8 °C en 24 h. Higgins (1986) considère qu'à partir de l'intervalle 37,5°-38° C le matin, un dromadaire peut être considéré en hyperthermie.

v. *Analyses*

Les analyses virologiques ont été effectuées par PCR (Couacy-Hymann *et al.*, article 2 de ce mémoire). Une estimation semi-quantitative de l'intensité de la bande révélée par PCR a été utilisée sur la base d'une notation de 0 à 5.

1.1.2.2 Résultats

i. *Expérimentation 1 : inoculations des tissus et passage sur petits ruminants*

i.1 Ovins et caprins : NVI, Debre-Zeit (Ethiopie)

En mars 1996, une première inoculation a été réalisée sur quatre petits ruminants. Un ovin (code 001) a montré un hyperthermie le 4^{ème} jour après l'inoculation. Cet animal a été autopsié le 7^{ème} jour. Un échantillon de poumon, analysé par PCR, s'est révélé positif. Un broyat de cet échantillon en MEM a été utilisé pour la suite de cette expérimentation à l'IAH-Pirbright (GB).

i.2 Ovins et caprins : IAH-Pirbright (GB)

Les huit animaux inoculés n'ont pas montré d'hyperthermie pendant les 15 jours d'observations. Les signes cliniques relevés et les résultats PCR sont résumés dans le tableau V.

Animal et code IAH	Origine de l'inoculum	Signes cliniques	PCR (sur lymphocytes)	Remarques
Ovin TL 26	Tissus de dromadaire C0	Dépression, légère congestion de la conjonctive et diarrhée peu importante	Fiablement positive	
Ovin TL 27			Négative	
Caprin TL 56		Légère congestion oculaire, légère hyperhémie à la base des dents	Négative	
Caprin TL 69			Négative	
Ovin TL 24	Tissus de l'ovine 001 (inoculé préalablement avec les tissus du dromadaire C0)	Dépression, légère congestion de la conjonctive et diarrhée peu importante	Positif	Recueil de lymphocytes et poumons destinés à l'inoculation des dromadaires, ovins et caprins.
Ovin TL 25			Positif	
Caprin TL 64		Légère congestion oculaire, légère hyperhémie à la base des dents	Négatif	
Caprin TL 69			Négatif	

Tableau V : bilan de l'inoculation des tissus du dromadaire C0 et de l'ovine 001 à des petits ruminants de l'IAH-Pirbright (GB)

Les tissus des différents petits ruminants inoculés ont été conservés (lymphocytes et poumon) et ceux des ovins TL 24 et TL25 ont été mélangés et ont constitué l'inoculum (code TL24-25) pour la suite de l'expérimentation réalisée au NVI Debre Zeit (Ethiopie). Il est à souligner que les tentatives d'isolement sur cellules VERO se sont révélées infructueuses.

i.3 Dromadaires, ovins et caprins (NVI, Debre-Zeit, Ethiopie)

Six animaux ont été inoculés. Il s'agissait des dromadaires identifiés n° 4 et n°10, des caprins n° 33879 et n° 33877 et des ovins n° 33869 et n°33870.

L'inoculum TL24-25 a été injecté en SC à raison de 1,4 ml pour chaque dromadaire et 850 µl par petit ruminant.

Les dromadaires ont montré les signes cliniques suivants : le dromadaire n°4 a montré une température de matinale de 38,7°C à J+2 et un larmolement à partir de J+4 et pendant 4 jours. Le dromadaire n°10 a montré une température de 37,8°C à J+9. Les résultats des analyses par PCR des lymphocytes des dromadaires, prélevés à J+5, J+6 et J+7, ont été négatifs.

Les petits ruminants ont montré à divers degrés les signes cliniques suivants: hyperthermie, jetage, toux, hypertrophie des ganglions préscapulaires (ps.), diarrhée, dont les détails sont représentés dans les figures VI, VII, VIII et IX.

La légende pour ces graphiques est la suivante :

■ - ■ - ■ T°C normale max (39,6°C) T°C normale mini (38,6°C)
—▲— T °C animal	—*— Jetage
—○— Diarrhée	—●— Toux
—◆— Hypertrophie des ganglions ps.	—△— Larmolement

Figure V: légende des figures VI, VII, VIII et IX ; et X, XI, XII et XIII

La température normale des petits ruminants est de 39,1 ± 0,5 °C. La température figurant sur les graphiques est la température relevée le matin. Les résultats d'analyses par PCR des organes prélevés figurent dans le tableau VI.

Expérimentation 1	Ovin n° 33869	Ovin n° 33870	Caprin n° 33877	Caprin n° 33879
Poumon	NT	NT	5	NT
Foie	NT	NT	0,5	NT
Rate	0,5	0	5	4
Encéphale	0	0	0,5	0
Intestin grêle	NT	NT	4	NT
Gros intestin	NT	NT	0	NT
Ganglion mésentérique	NT	NT	1,5	NT
Ganglion médiastinal	NT	NT	1	NT
Ganglion préscapulaire	NT	NT	1,5	NT

Tableau VI: résultats d'analyses par PCR des tissus des petits ruminants inoculés avec les échantillons TL25-24 (lymphocytes et poumons). (NT : échantillon non testé, échantillon non exploitable).

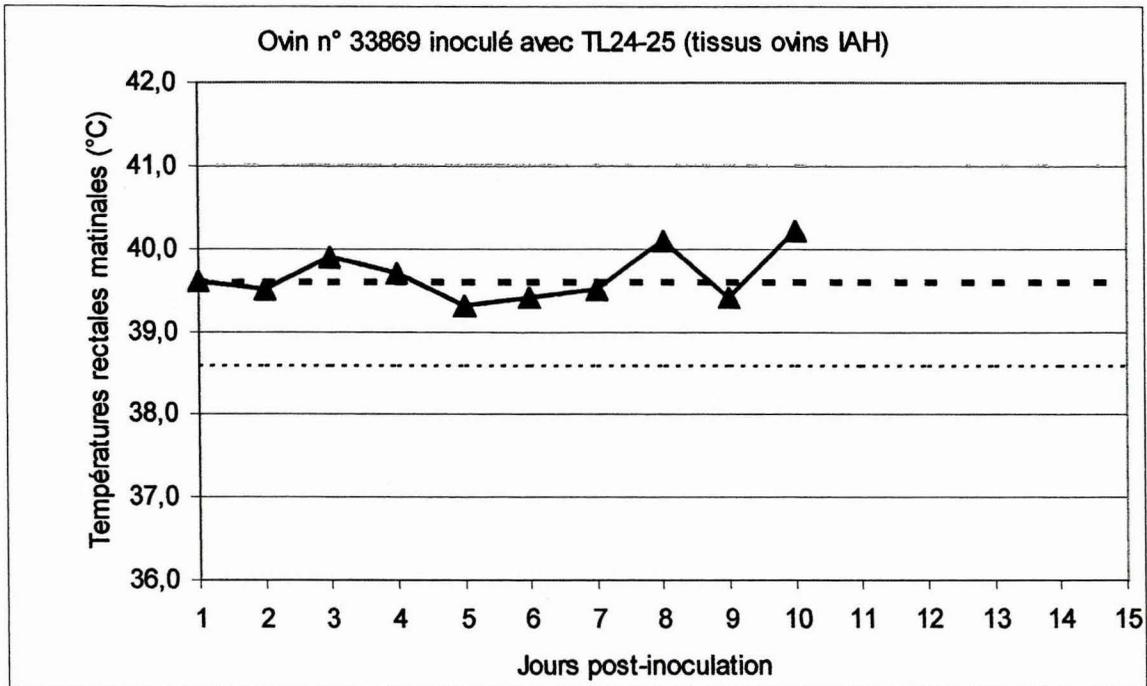


Figure VI : suivi clinique de l'ovine n°33869 (inoculum TL24-25)

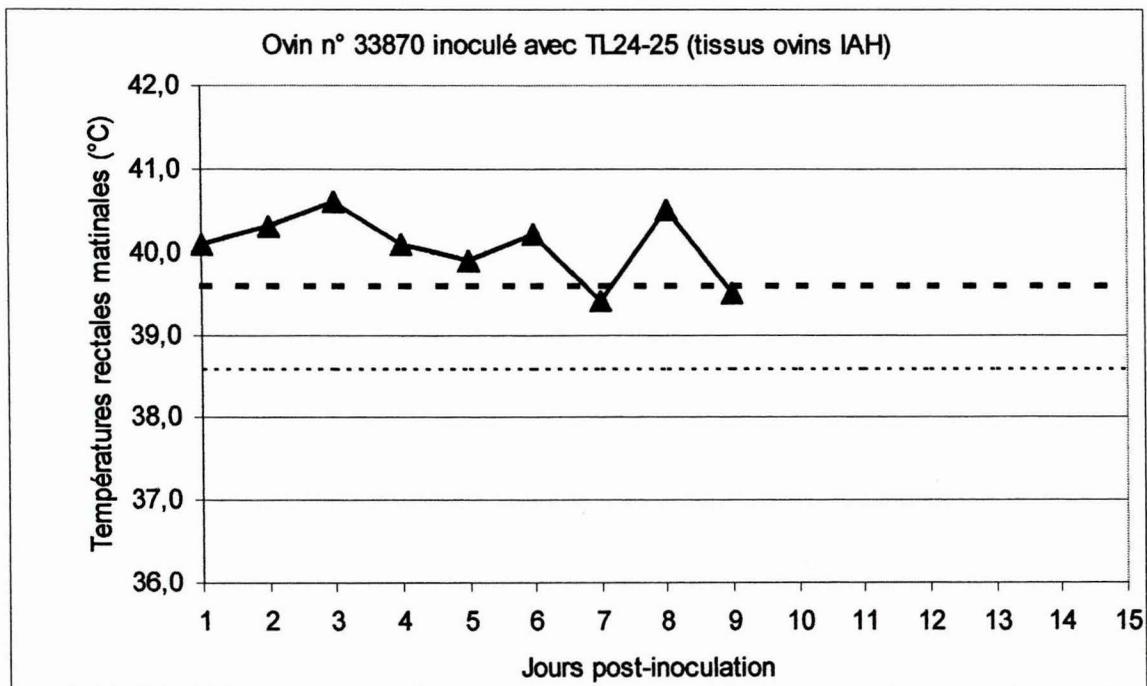


Figure VII : suivi clinique de l'ovine n°33870 (inoculum TL24-25)

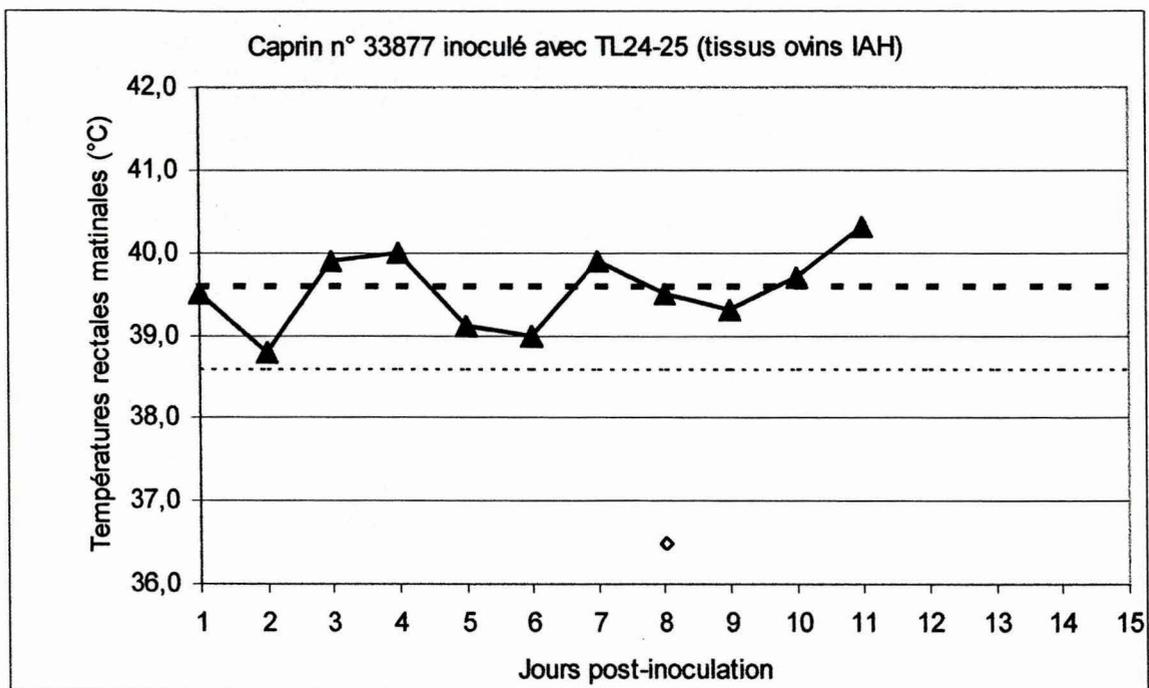


Figure VIII : suivi clinique du caprin n°33877 (inoculum TL24-25)

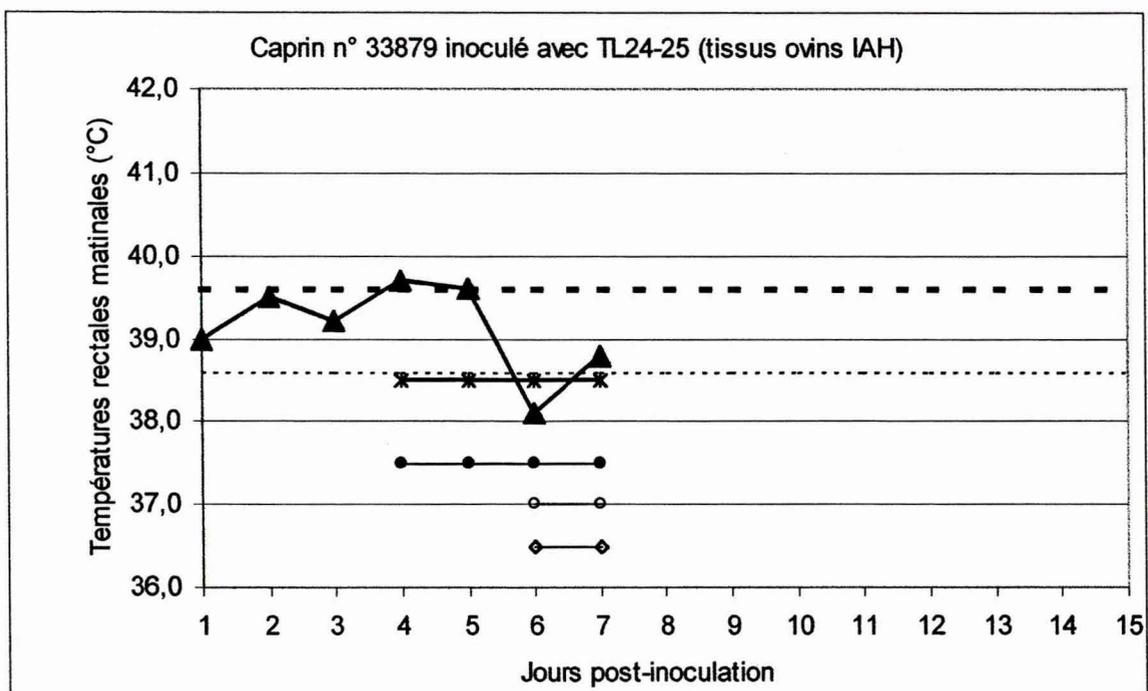


Figure IX : suivi clinique du caprin n°33879 (inoculum TL24-25)

ii. *Expérimentation 2 : inoculation de la souche 'Ethiopia 94'*

Six animaux ont été inoculés. Il s'agissait des dromadaires n°1 et n°11, des caprins n° 33862 et n° 33866 et des ovins n° 33863 et n°33874.

Les dromadaires ont exprimé les signes cliniques suivants : le dromadaire n°1 a montré une température matinale de 37,5°C à J+9 et de 37,6 à J+12 ; le dromadaire n°11 a montré un larmolement à partir de J+6 et pendant 2 jours ainsi qu'une légère augmentation du volume des ganglions préscapulaires à J+6, mais pas de température supérieure à 37,5°C. Les résultats des analyses par PCR des lymphocytes des dromadaires, prélevés à J+5, J+6 et J+7, ont été négatifs. Le dromadaire n°11 a pu être sacrifié et autopsié. Il ne montrait pas de lésions. Les analyses par PCR des différents organes ont été négatives.

Les petits ruminants ont montré, à divers degrés, les signes cliniques suivants: hyperthermie, jetage, toux, larmolement, hypertrophie des ganglions préscapulaires et diarrhée. Les détails sont rapportés dans les figures X, XI, XII, XIII. La légende est identique à celle des figures de la précédente expérimentation (figure V). Les résultats d'analyses par PCR des organes prélevés figurent dans le tableau VII.

Expérimentation 2	Ovin n° 33863	Ovin n° 33874	Caprin n° 33862	Caprin n° 33866
Poumon	3	1	0*	4
Foie	4	0,5	NT	0,5
rate	5	0	0,5	1,5
Encéphale	0,5	0	0	0
Intestin grêle	4	0	0	NT
Gros intestin	NT	0,5	0,5	NT
Ganglion mésentérique	5	0	0	0,5
Ganglion médiastinal	NT	3	2	0,5
Ganglion préscapulaire	5	5	4	0,5

Tableau VII : résultats d'analyses par PCR des tissus des petits ruminants inoculés la souche PPRV 'Ethiopia 94' (NT : échantillon non testé, échantillon non exploitable).

*: lors d'infection par le PPRV, les poumons sont habituellement toujours positifs.

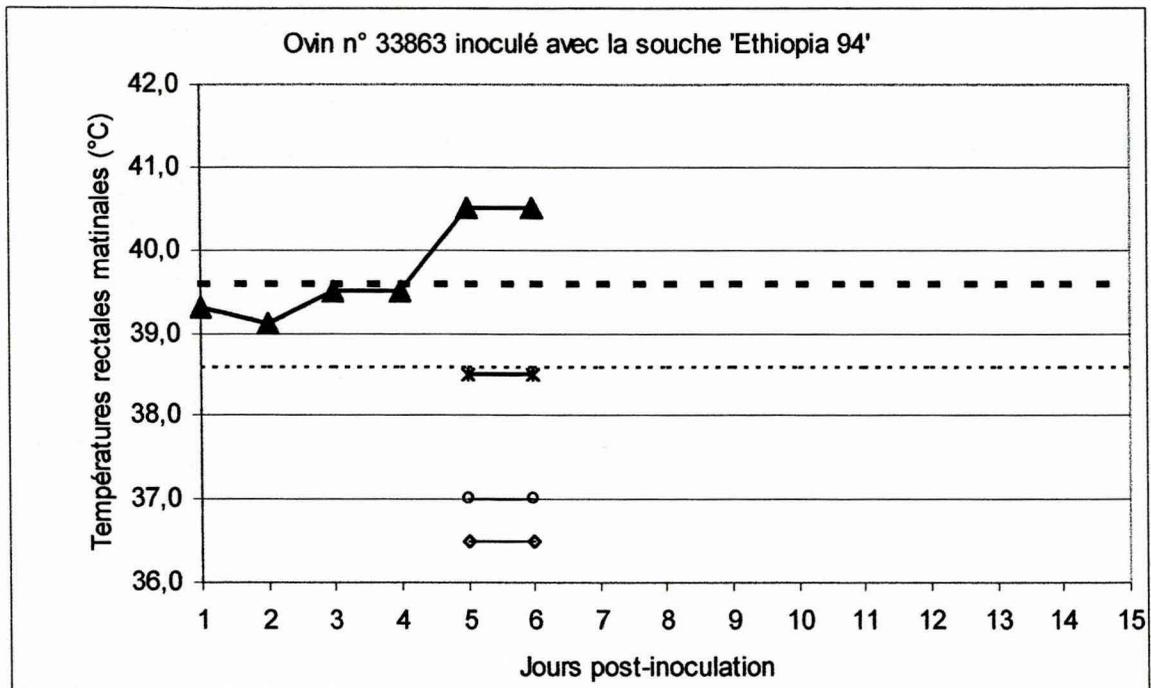


Figure X : suivi clinique de l'ovine n°33863 (inoculum 'Ethiopia 94')

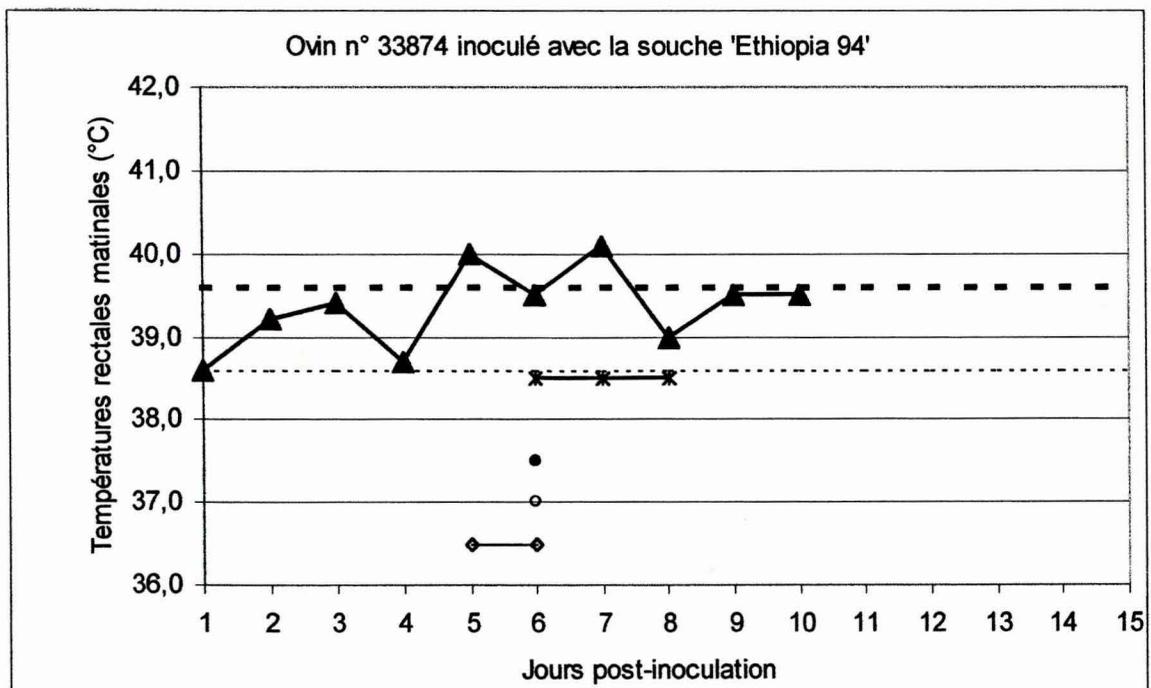


Figure XI : suivi clinique de l'ovine n°33874 (inoculum 'Ethiopia 94')

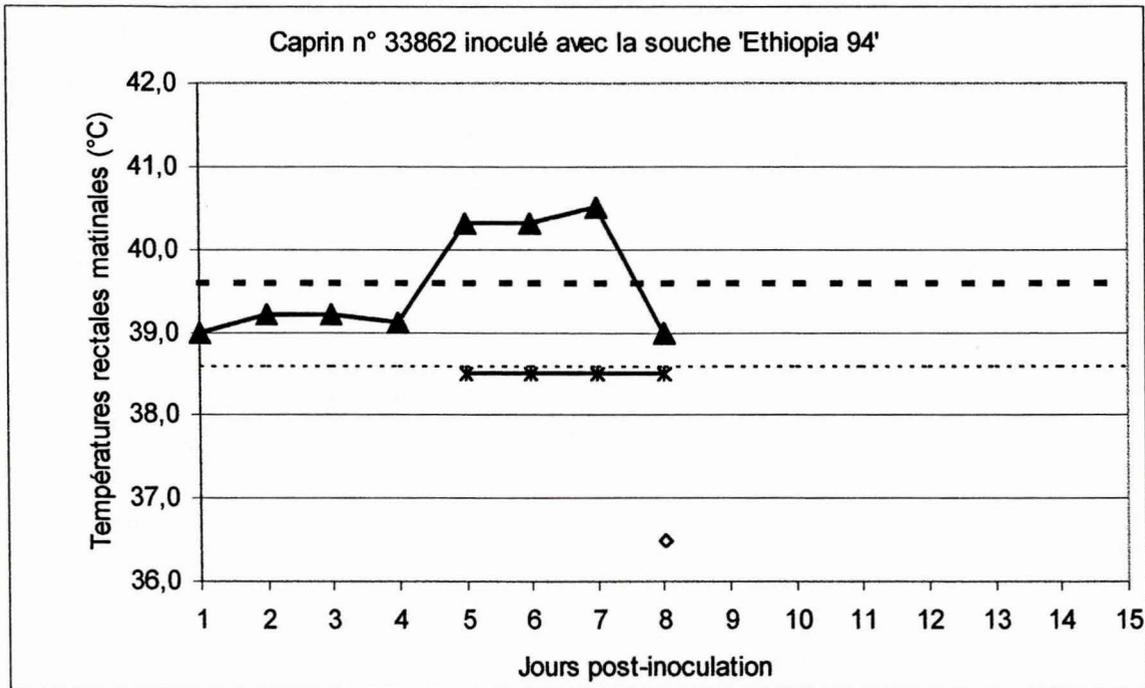


Figure XII : suivi clinique du caprin n°33862 (inoculum 'Ethiopia 94')

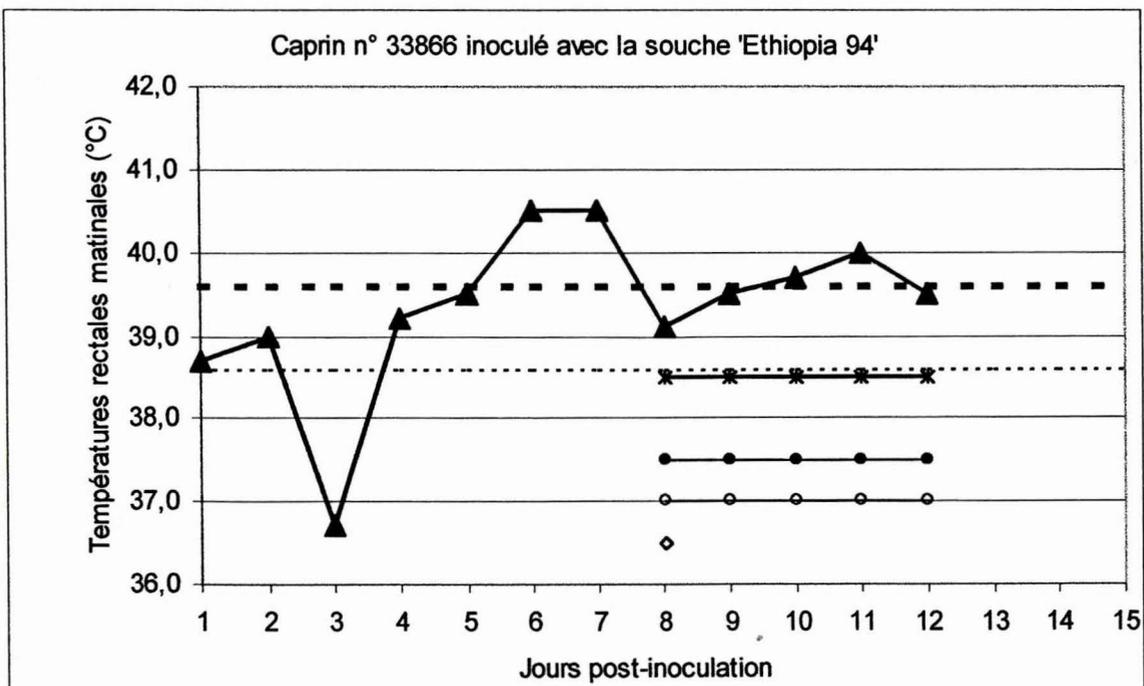


Figure XIII : suivi clinique du caprin n°33866 (inoculum 'Ethiopia 94')

1.1.2.3 Commentaires

Ces expérimentations avaient initialement un "caractère d'urgence". En effet, il s'agissait de fournir une réponse aux autorités éthiopiennes sur la nature de la maladie en éprouvant l'hypothèse PPR.

Les dromadaires ont montré quelques signes cliniques passagers. Néanmoins, il est légitime de s'interroger sur leur immunité PPR malgré l'absence d'anticorps décelables et sur l'absence partielle de facteurs que l'on suppose prédisposants. En effet, ces animaux avaient été déparasités (anthelminthiques et trypanocides) et étaient nourris normalement, mais pouvaient être stressés par le transport - la période d'adaptation avant les premières inoculations a été de 3 mois - puis par le climat différent de Debre-Zeit, zone des hauts-plateaux (1.800 m d'altitude), par rapport aux zones semi-arides du Borana.

Les infections expérimentales de la PPR chez les petits ruminants sont problématiques et en général difficilement reproductibles.

Les petits ruminants inoculés ont montré des signes cliniques de PPR et l'ARN du virus a été détecté par PCR.

Concernant l'expérimentation 1, des signes cliniques et détections du PPRV par PCR ont été décrits tout au long du processus de "passage en série" sur les petits ruminants. Il s'agirait de vérifier, notamment à partir des animaux n°33877 et 33879, l'identité génétique avec les souches détectées initialement sur les dromadaires. Il n'est effectivement pas exclu que des contaminations croisées aient pu advenir entre les différentes expérimentations malgré les précautions prises.

Concernant l'expérimentation 2, des signes cliniques ont été relevés chez les ovins avec la souche 'Ethiopia 94', souche provenant de petits ruminants importés depuis la région Somali (Ogaden) jusqu'à Debre-Zeit (lors d'un regroupement avant abattage et exportation). En premier lieu, des cas cliniques aigus avaient été observés sur des ovins. Les caprins ont été également affectés mais avec des formes moins sévères. Leur atteinte a été décalée dans le temps par rapport à l'atteinte des ovins.

La détection de l'ARN viral du PPRV, à partir de l'encéphale de deux animaux, mérite d'être souligné. Le tropisme du PPRV pour les tissus cérébraux n'a jamais été rapporté. Il est évidemment indispensable de dupliquer et vérifier ces premiers résultats. Le tropisme cérébral est décrit pour le MV et le CDV avec des expressions cliniques. Il n'y a pas eu de formes nerveuses observées et décrites chez les petits ruminants par contre des signes neurologiques ont été observés en Ethiopie chez les dromadaires durant l'épizootie de 1995-1996 (et rapportés indirectement en Somalie). L'encéphalite aiguë post-infectieuse décrite pour le MV, survenant sur un terrain immunodéprimé (le MV se comportant dans ce cadre comme un virus opportuniste) est à prendre en compte.

2. Analyse du rôle potentiel de *Streptococcus equi* subsp. *equi*

2.1. *Streptococcus equi* subsp. *equi* et la gourme

Les données générales sur la gourme et *Streptococcus equi* subsp. *equi* sont issues des articles, revues et ouvrages suivants : Sweeny *et al.* (1987a,b), Bradley *et al.* (1991), Oikawa *et al.* (1994), Newton *et al.* (1997), Flanagan *et al.* (1998), Merck (1998).

Streptococcus equi subsp. *equi* est l'agent étiologique de la gourme (Anglais : strangles, synonyme : distemper) des équidés. La gourme est une maladie cosmopolite, hautement contagieuse, dont le contrôle repose sur le traitement antibiotique, sur la vaccination et sur des mesures de prophylaxie sanitaire.

2.1.1. *Streptococcus equi* subsp. *equi*

2.1.1.1 Taxonomie

La taxonomie des streptocoques du groupe C de Lancefield a longtemps été imprécise. A l'origine, les souches du groupe C étaient réparties en quatre espèces sur la base de leur pouvoir hémolytique, sur leur capacité à fermenter le sorbitol et le tréhalose et sur leur pouvoir pathogène :

- *Streptococcus dysgalactiae* : hémolyse α , sorbitol -, tréhalose + ; responsable de mammites chez les bovins ;
- *Streptococcus equisimilis* : hémolyse β , sorbitol -, tréhalose + ; responsable d'infections chez l'homme et les animaux ;
- *Streptococcus equi* : hémolyse β , sorbitol -, tréhalose - ; responsable d'infections chez le cheval ;
- *Streptococcus zooepidemicus* : hémolyse β , sorbitol +, tréhalose - ; responsable d'infections chez les animaux et parfois chez l'homme.

En 1980, seule la nomenclature de *Streptococcus equi* a été incluse dans les "Approved Lists of Bacterial Names".

En 1983, Garvie *et al.* valident la nomenclature de *Streptococcus dysgalactiae* pour des souches alpha-hémolytiques isolées de mammites chez les bovins. Actuellement, cette espèce est divisée en deux sous-espèces et elle inclut les souches de *Streptococcus equisimilis*.

En 1984, Farrow et Collins montrent que *Streptococcus equi* et *Streptococcus zooepidemicus* sont génétiquement apparentés (homologies ADN - ADN de 90%).

Toutefois, les études révèlent que ces deux taxons ne sont pas identiques. Ces auteurs proposent que les souches de *Streptococcus zooepidemicus* soient reclassées au sein d'une sous-espèce de *Streptococcus equi* : *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. En vertu du Code de Nomenclature, la reconnaissance de cette sous-espèce conduit à placer les souches anciennement dénommées *Streptococcus equi* au sein d'une nouvelle sous-espèce, *Streptococcus equi* subsp. *equi* (cf. annexe VI).

2.1.1.2 Caractères bactériologiques

Streptococcus equi subsp. *equi* présente tous les caractères du genre *Streptococcus*. C'est une bactérie ovoïde ou sphérique, de 0,6 à 1,0 mm de diamètre, capsulée, assemblée par 2, en courtes chaînes ou en longues chaînes (notamment après culture en milieu liquide). Elle appartient au groupe C de Lancefield. *Streptococcus equi* subsp. *equi* acidifie le galactose, le glucose, le maltose et le saccharose. D'autres caractères bactériologiques figurent dans le tableau VIII.

	<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i>	<i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	<i>S. phocae</i>
Groupe de Lancefield	C	C	C ou L (souches animales) C, G ou L (souches humaines)	-, F ou C
Hydrolyse de l'esculine	Généralement +	Généralement +	Généralement -	-
ADH	+	+	+	-
Bêta-glucuronidase	+	+	+	-
Acidification du				
Lactose	-	+	Généralement +	-
Mannitol	-	Généralement -	-	-
Ribose	-	+	+	+
Sorbitol	-	+	-	-
Tréhalose	-	Généralement -	+	-

Tableau VIII: Caractères bactériologiques des streptocoques du groupe C de Lancefield ou pouvant porter l'antigène du groupe C de Lancefield, isolés en médecine vétérinaire et donnant des colonies bêta-hémolytiques.

La culture nécessite des milieux riches. Sur gélose au sang, les colonies d'aspect muqueux atteignent un diamètre de 3 mm en 24 heures et elles s'entourent d'une zone d'hémolyse bêta. Certaines souches donnent des colonies non muqueuses, d'aspect mat et rugueux car elles hébergent un phage codant pour une hyaluronidase qui hydrolyse la capsule. En bouillon, la croissance conduit à la formation d'un sédiment visqueux.

2.1.2. La maladie chez les équidés

2.1.2.1 Symptômes et épidémiologie

La gourme est une maladie très contagieuse, mondialement répandue, spécifique des équidés, Elle atteint les animaux de tous âges, mais les sujets âgés de 1 à 5 ans sont plus fréquemment et plus gravement atteints. La durée moyenne de la maladie est de 10 à 14 jours. La morbidité peut être proche de 100% dans une population pleinement sensible et la mortalité inférieur à 2%. Le germe est un parasite strict dont la survie dans le milieu extérieur peut toutefois atteindre quelques semaines ou quelques mois. La transmission se fait par contact direct ou par l'intermédiaire des mouches, de l'eau, des aliments ou de matériel contaminés.

Il existe trois formes cliniques :

1. une forme localisée (décrite ci-dessous) ;
2. une forme septicémique ("*bastard strangles*") qui pour certains auteurs serait favorisée par une immunosuppression d'origine virale (Wilkens, 1994). Studdert (1971) rapporte l'existence d'une infection concomitante de la gourme avec un herpesvirus équin ;
3. une complication très rare, le purpura hémorragique, pouvant survenir 2 à 3 semaines après les signes respiratoires ou lors d'une ré-infection.

Après une période d'incubation de 3 à 14 jours, l'infection débute par de la fièvre (39,5°C à 40,5°C), de l'anorexie, un jetage d'abord séreux puis devenant purulent, une pharyngite pouvant entraver la déglutition et une laryngite. Sept à quatorze jours après la contamination, on note une abcédation des nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens, sous-maxillaires et parotidiens et, fréquemment, un empyème des poches gutturales. Généralement, les abcès des nœuds lymphatiques s'ouvrent, le pus est drainé à travers la peau et l'évolution est favorable.

La forme septicémique ("*bastard strangles*") est consécutive à une dissémination du germe et à sa localisation dans divers organes ou tissus (poumons, rein, cerveau, foie, rate, articulations, peau, nœuds lymphatiques mésentériques et médiastinaux) où il est à l'origine de processus suppuratifs entraînant la mort dans 10% des cas.

Les animaux guéris peuvent rester porteurs du germe pendant 6 semaines ou plus.

Exceptionnellement, cette bactérie est responsable d'infections (septicémies) chez l'homme.

2.1.2.2 Diagnostic bactériologique

Les meilleurs prélèvements sont constitués par le jetage nasal ou le pus d'un nœud lymphatique.

Les prélèvements doivent être effectués précocement car la multiplication rapide de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* ou de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* peut masquer et rendre difficile l'isolement de *S. equi* subsp. *equi*. En effet, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* est ubiquiste et isolé fréquemment de chevaux malades ou sains. Le rôle pathologique de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* n'est pas connu.

Dans ce cadre, afin de pallier aux difficultés de l'isolement bactériologique, des techniques d'amplification génique (PCR) ont été développées (Artiushin et Timoney, 1996 ; Al-Ghamdi et al., 2000).

L'examen direct révèle la présence de coques légèrement ovoïdes, formant des chaînes de longueur variable ou parfois groupées en palissades. L'ensemencement s'effectue sur gélose trypticase soja au sang de mouton ou de cheval. Un milieu sélectif de type gélose Columbia ANC peut être utilisé pour les prélèvements contaminés. Après avoir montré que le germe appartient au genre *Streptococcus*, l'identification repose sur l'aspect généralement muqueux des colonies, sur l'hémolyse de type bêta, sur la mise en évidence de l'antigène C et sur les caractères biochimiques présentés dans le tableau VIII. L'utilisation de galeries miniaturisées donne également des résultats satisfaisants.

2.1.2.3 Contrôle

Streptococcus equi subsp. *equi* est sensible à la pénicilline G, au chloramphénicol, aux tétracyclines, à l'érythromycine et à la lincomycine.

Les animaux malades ou suspects doivent être immédiatement isolés et le matériel et les locaux désinfectés. Les pâturages fréquentés par les chevaux infectés doivent être considérés comme contaminés durant une période d'un mois. Des vaccins inactivés sont disponibles dans certains pays mais leur efficacité est discutée car la protection repose essentiellement sur l'immunité locale.

2.1.3. *S. equi* et les camélidés

L'isolement de *S. equi* subsp. *equi* n'a jamais été rapporté chez les camélidés, la description de la gourme non plus. La morve, maladie pouvant être confondue sur le plan clinique avec la gourme, est signalée chez les camélidés (Blancou, 2000). Timoney (1993) précise que « *Streptococcus equi* est très adapté aux équidés et qu'il ne montre pas de variation antigénique ».

L'entité morbide « fièvre des alpacas » est identifiée comme une Streptococcose causée par la sous-espèce *zooepidemicus* de *S. equi* (Thedford and Johnson, 1989). Cette maladie est vraisemblablement déclenchée par des facteurs de stress. Notons que *S. equi* subsp. *zooepidemicus* se développe rapidement dans les prélèvements destinés à l'isolement de *S. equi* subsp. *equi* et qu'il peut masquer cette espèce.

S. equi subsp. *zooepidemicus* a été isolé aux USA d'un dromadaire présentant une péritonite (Heller *et al.*, 1998)

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* est susceptible d'infecter de nombreuses espèces animales, et, principalement, le cheval et l'homme (Sharp et Prince, 1995 ; Ferrandière *et al.*, 1998). Chez le cheval, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* est fréquemment isolé des voies respiratoires supérieures chez l'animal sain. C'est une bactérie pathogène opportuniste, responsable de métrites, d'avortements, d'épididymites, d'infections ombilicales et de pneumonies dont l'apparition est favorisée par des infections virales ou par des stress (tels que les transports). Chez les bovins, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* est associé à des cervicites, à des métrites et à des mammites chroniques avec induration et fibrose de la mamelle. Lors de mammites, le germe est excrété dans le lait et peut être à l'origine d'une contamination de l'homme (ingestion de lait cru ou de produits à base de lait cru). Chez les agneaux, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* est isolé de pleurésies fibrineuses, de pneumonies et de péricardites alors que chez la chèvre, il est responsable de mammites. Chez toutes ces espèces, l'expression clinique est favorisée par de mauvaises conditions d'élevage (stress, changements brutaux de température, excès d'humidité, carences, etc.).

2.2. Travaux expérimentaux

2.2.1. Isolement du germe *S. equi* subsp. *equi* chez un dromadaire malade. ARTICLE 4 : Yigezu LM, Roger F*, Kiredjian M, Tariku S. 1997. Isolation of *Streptococcus equi* subspecies *equi* (strangles agent) from an Ethiopian camel. Vet Record, **140**, 608 (*Corresponding author)

Isolation of *Streptococcus equi* subspecies *equi* (strangles agent) from an Ethiopian camel

L. M. Yigezu, F. Roger, M. Kiredjian, S. Tariku

Veterinary Record (1997) **140**, 608

A SICK female adult camel (*Camelus dromedarius*) was observed during an epizootic outbreak of disease in dromedaries in Ethiopia. The disease was highly contagious and characterised by elevated morbidity but low mortality rates. Over a period of 10 months it spread to all camel-rearing areas of the country (Awash valley, East Hararghe, Ogaden, Borana) and to neighbouring Djibouti and Somalia.

The dominant clinical symptoms observed in the camel included fever, loss of appetite, lacrimation, oedema of the throat and supraorbital fossae, productive coughing, purulent nasal discharge, dyspnoea, abdominal breathing, emaciation, depression and prostration. The symptoms were reported to have developed over eight days.

On postmortem examination, the lungs showed haemorrhage and thickened interlobular septae, the bronchi were filled with foamy fluid, the heart seemed enlarged with petechial haemorrhages and the intestines were congested.

Samples of lung and bone marrow were cultured for 24 hours at 37°C in tryptose broth and on solid media with and without horse serum. Translucent colonies about 2 mm in size were isolated. On blood agar, colonies of about 1.5 to 2 mm in diameter, with a zone of β -haemolysis, were observed. Smears showed the organism to be a Gram-positive coccus that formed into chains. The results of various biochemical tests are shown in Table 1. Overall, the results suggested that the organism was *Streptococcus equi* subspecies *equi*.

The pathogenicity of this bacteria for rabbits and mice was assessed by inoculation of a 24-hour-old pure culture by the intravenous route. Four of five mice died of septicaemia as confirmed by reisolation of the strain from heart blood. None of the rabbits died from the bacterial challenge.

Streptococcus species have been isolated from clinically healthy camels although they were not definitely identified and characterised (Shigidi 1973, Mahmoud and others 1988, Rana and others 1993). On the other hand, *Streptococcus* species are described in active respiratory disease of camels, for example, β -haemolytic streptococci (Pal and Chandel 1989), *Streptococcus viridans*, *S. pneumoniae* and *S. pyogenes* (Thabet 1994). An outbreak of contagious cough in camels has been described in the Gobi Desert and the bacteriological examination revealed a haemolytic pneumococcus (Oinakhbaev 1965).

There is no available information on the specific isolation of *S. equi equi* in camelids. *S. equi equi* has been identified as the causative agent in equine strangles. Typically, strangles is characterised by fever, acute mucopurulent inflammation of the upper respiratory tract and purulent lymphadenitis and abscessation. Furthermore, it is commonly suspected that non-typical strangles, the so-called 'bastard strangles', is determined by an inadequate immune response or follows on from a viral infection (Wilkins 1994). Lymphadenitis and abscessation of the sub-

TABLE 1: Biochemical reactions recorded after culture of lung and bone marrow samples on brain heart infusion medium at 37°C

Biochemical reaction	Result
Optochin susceptibility	Resistant
Catalase production	Negative
Bile aesculin	Negative
Growth in sodium chloride 6.5 per cent solution	Negative
Hydrolysis of aesculin	Negative
Hydrolysis of arginine	Positive
Voges Proskauer test	Negative
Production of acid from inulin, lactose, mannitol, melibiose, raffinose, sorbitol, trehalose	Negative
Production of dextran and levan formations from sucrose	Negative
Agglutination with anti-streptococcal group C serum	Positive

mandibular retropharyngeal lymph nodes, as in the typical *S. equi equi* infection in horses, were not noted in this case. However, subcutaneous oedema, fever and mucopurulent upper respiratory tract infection were described in the camel and these signs were commonly observed during the epizootic. The lesions described in this animal, and in some other cases, are possibly related to a septicemic form as this *Streptococcus* species was isolated from the bone marrow.

'Alpaca fever' has been described in South American camelids, caused by *Streptococcus zooepidemicus* and stress is often the predisposing factor (Thedford and Johnson 1989). However, strangles abscesses in equines are rapidly invaded by *S. zooepidemicus* and may confuse the bacteriological diagnosis (Wilkins 1994).

Strangles is a disease of domestic equines of all age groups which is more severe in horses than in donkeys and mules. The agent is directly transmissible via oral or nasal routes and by indirect means through contamination of the environment (feed, water, stable) by excretions from sick horses. Regrouping of horses is usually a risk factor in a strangles outbreak. Although the camel rearing arid and semi-arid areas of Ethiopia are uninhabited by horses, they are inhabited by donkeys and, in fact, these species are used as pack animals for transportation of agricultural products to markets and this could favour the transmission of the agent by contact.

It is assumed that this bacterium played a role in the epizootic occurring in camels in Ethiopia. However, more bacteriological surveys and serological investigations need to be carried out to prove this.

As far as synergism with other pathogenic organisms is concerned, the morbillivirus prevalence observed (PPRV strain, unpublished observation) may have favoured the development of infection with *S. equi equi* as a secondary bacterial agent.

Determination of the pathogenicity of *S. equi equi* in camels is an area requiring further investigation by means of experimental inoculation and reproduction of the disease.

References

- MAHMOUD, A. Z., MOUSTAFA, S. I. & EL-YAS, A. H. (1988) *Assiut Veterinary Medical Journal* **20**, 93
- OINAKHBAEV, S. (1965) *Veterinariya Moscow* **42**, 105
- PAL, M. & CHANDEL, B. S. (1989) *Indian Veterinary Medical Journal* **13**, 277
- RANA, M. Z., AHMED, A., SINDHU, S. T. A. K. & MOHAMMAD, G. (1993) *Camel Newsletter* **10**, 30
- SHIGIDI, M. A. (1973) *Sudanese Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry* **14**, 9
- THABET, A. EL. R. (1994) *Assiut Veterinary Medical Journal* **30**, 188
- THEDFORD, T. R. & JOHNSON, L. W. (1989) *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **5**, 149
- WILKENS, C. A. (1994) Strangles. In *Disease of Livestock with Special Reference to Southern Africa*. Vol 2. Eds J. A. W. Coetzer, G. R. Thomson, R. C. Tutsin. Oxford, Oxford University Press. p 1248

L. M. Yigezu, S. Tariku, National Veterinary Institute, PO Box 19, Debre-Zeit, Ethiopia

F. Roger, CIRAD-EMVT, Campus International de Baillarguet, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

M. Kiredjian, Institut Pasteur, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France

Correspondence to Dr Roger



2.2.2. Mise au point d'outils et caractérisation moléculaire de la souche isolée en Ethiopie. ARTICLE 5 : Sechi LA, Roger F, Diallo A, Yigezu Lm, Zanetti S, Fadda G . 1999. Molecular Characterization of *Streptococcus equi* subspecies *equi* isolated from an Ethiopian Camel by Ribotyping and PCR-Ribotyping. *Microbiologica*, **22**, 383-387.

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Streptococcus equi* subspecies *equi* ISOLATED FROM AN ETHIOPIAN CAMEL BY RIBOTYPING AND PCR-RIBOTYPING

SECHI L.A.¹, ROGER F.², DIALLO A.², YIGEZU L.M.³, ZANETTI S.¹, and FADDA G.⁴

¹Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli studi di Sassari, Viale S. Pietro 43/B, 07100 Sassari, Italy; ²CIRAD-EMTV, Animal Health program, BP 5035, 34032 Montpellier cedex 1, France; ³National Veterinary Institute, PO Box 19, Debre Zeit, Ethiopia and ⁴Istituto di Microbiologia, Facoltà di Medicina e Chirurgia "Agostino Gemelli", Università Cattolica del Sacro Cuore, 00168 Roma, Italy

Received June 18, 1999

Accepted September 3, 1999

SUMMARY

The aim of this study was to characterize a *S. equi subspecies equi* strain isolated from an Ethiopian camel by different molecular techniques (Ribotyping and PCR-Ribotyping). We compared the results obtained with those generated from two strains of the Pasteur Collection. The ribotyping showed the highest power of differentiation, distinguishing between the strains analyzed, whereas PCR-Ribotyping was able only to differentiate the camel isolate but not the strains from the Pasteur Collection. The application of this technique will be very useful to establish a clonal relationship among equine and camelids strains and help the prevention and cure of the equine and camel pathology.

KEY WORDS: *Streptococcus equi* subspecies *equi*, molecular differentiation, rRNA, PCR

Knowledge of the epidemiology of *Streptococcus equi* is limited by a lack of practical methods to determine the spread of these bacteria. Traditional methods to differentiate

Streptococci, like phage typing (Kuhnen *et al.* 1987), serotyping (Sharpe and Shattock 1952) or biotyping (Fecklam and Collins 1989) are not very useful. Galan and Timo-

Streptococcus equi, molecular ribotyping 383

ney (1988) used DNA restriction analysis and Southern blotting to differentiate *S. equi* strains but the results were not encouraging. Recently, different techniques to analyze the chromosomal DNA have been utilized successfully to type these bacteria. Pulsed-Field-Gel Electrophoresis has been successfully applied (Murray *et al.* 1991; Gordillo *et al.* 1993; Donabedian *et al.* 1995; Kuhn *et al.* 1995; Tomayko and Murray 1995), but the equipment necessary is very expensive and the particular procedure for DNA extraction is time-consuming and it is not suitable for use in routine microbiology laboratories. Ribotyping has been universally applied as a tool for differentiation of bacteria including streptococci and enterococci (Hall *et al.* 1992; Gordillo *et al.* 1993; Sechi *et al.* 1994; Donabedian *et al.* 1995; Kostman *et al.* 1995; Kuhn *et al.* 1995), the data reported in the literature do not show a good resolution of this method when applied to streptococci (Gordillo *et al.* 1993; Kuhn *et al.* 1995). In various strains of streptococci single base mutations could alter any one restriction enzyme site to reduce the number of restriction enzyme recognition sites. Alternatively, recombination could occur between homologous *rrn* fragments to alter the location of *rrn* operons in the chromosome (Liu, 1996). The ribotyping approach proposed here may be used with the suggested cloned probe, or with any one of the probes currently in use (Gordillo *et al.* 1993). Yigezu *et al.* (1997) reported the isolation of *S. equi* subspecies *equi* from a camel. We wanted to analyze further this strain isolated from a non-typical host in order to see if there were any differences at the genetic level with references strains. In order to simplify the laboratory typing of the *S. equi equi* isolate we attempted to use a PCR method, amplifying the *rrn* operon DNA by the use of primers derived from our cloned sequence. We found here that this PCR approach may differentiate *S. equi equi* 511 Collection Institute Pasteur (CIP) 105022 and *S. equi equi* 277 CIP 102910 from *S. equi equi* isolate but not different CIP strains. Presumably the differences are due to the presence of different length spacers between the 16S and 23S genomic DNA.

CIP strains were obtained from the Collection of Pasteur Institute. The clinical isolate was isolated from an Ethiopian camel in 1997 by Yigezu *et al.*. The clinical isolate was confirmed to be *S. equi equi* prior to analysis by the Rapid ID 32 Strep (Biomérieux, C.F., France).

DNA extraction and ribotyping. Chromosomal DNA was extracted from 10 ml of an overnight culture in Brain Heart Infusion broth (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA) as previously published (Sechi and Daneo-Moore, 1993). DNA was digested with *Pvu*II (Amersham International plc, Amersham, UK) as specified by the manufacturer. Electrophoresis gels were performed in 0.8% agarose (FMC Bioproducts, Rockland, ME, USA) in TAE 1X (0.01 M Tris-acetate, 0.1 mM EDTA, pH8) buffer at 35 V for 12 h. For hybridization, DNA was transferred to nylon membrane (Amersham International plc, Amersham, UK) by the method of Southern (1975). Hybridization were carried out at 65°C and the blots were washed at 68°C in 0.1X SSC (1X SSC is 0.15 M NaCl, 0.015M Sodium Citrate, pH 7) and 0.1% SDS. Probes were labeled by using the enhanced chemiluminescent gene detection system (Amersham International plc, Amersham, UK) (Feinberg and Vogelstein, 1983). The 1.8 kb *Apa*I clone (Sechi and Daneo-Moore, 1993) and λ DNA were used as probes.

PCR-ribotyping. Primers were designed to be complementary to conserved regions near the 3' end of the 16 S and the 5' end of the 23 S regions of the *rrn* previously reported (Sechi and Daneo-Moore, 1993) and were synthesized using a Gene-Assembler Plus, Pharmacia LKB in our Institute. Sequences of the primers are R1 5'-TTGTACACACCGCCCGTCA and R2 5'-GAAACATCTAATACCT. Amplifications were carried out in a final volume of 25 l with a reaction mixture containing 1X Buffer (20 mM Tris-HCl, pH8.4; 50mM KCl, Gibco BRL, Life Technology, UK), 1.5 mM MgCl₂, 200 M dNTP's (Pharmacia Biotechnology, N.J.), 0.5 mM of primers and 0.5 u of Taq polymerase (Gibco BRL Life technology, UK). Five l (50 ng) of chromosomal DNA were added to the reaction

mixture. Thirty cycles of amplification were performed, each cycle consisted of 1 min of denaturation at 94°C, 1 min of annealing at 55°C and 1 min at 72°C, the last cycle consisted of a 10 min extension at 72°C. Ten microliters of the PCR mixture were then analyzed by electrophoresis in TAE buffer 1X at 80 V in 1.8% Metaphor agarose gel (FMC Bio-products, Rockland, ME USA). The products were visualized staining the gel with ethidium bromide. Restriction analysis of the amplified products were performed with the following enzymes: *Pst*I, *Eco*RV, *Eco*RI and *Sau*3A (Amersham International plc., Amersham, Life Biology, UK).

Computers analysis of fingerprints. The patterns produced by the ribotyping method and PCR-ribotyping were evaluated with the Image master software (Pharmacia Biotechnology, Sweden). All bands produced were normalized by comparing molecular weight markers (λ -*Hind*III) between different films for the ribotyping, while the molecular weight of the amplified bands was calculated. Ribotyping has been shown to be a poor method for differentiating enterococcal strains for epidemiological purposes (Gordillo *et al.*

1993; Kuhn *et al.* 1995), but only few restriction enzymes were previously been used and the entire *rrn* of *E. coli* as a probe. The knowledge of the sequence of the *rrn* of the species of interest is essential in the choice of the probe and in that of the restriction enzymes to be used. We found that *Pvu*II gave the best results in differentiating *S. equi* strains.

We used 4 different enzymes (*Xba*I, *Eco*RI, *Pvu*II and *Hind*III, all from Amersham International plc., UK) to digest the chromosomal DNA of the 3 *S. equi equi* analyzed. Ribotyping, after DNA chromosomal digestion with *Pvu*II, allowed us to differentiate between the 3 strains analyzed as shown in Figure 1A. The two CIP strains showed a similar pattern except that *S. equi equi* 511 CIP 105022 hybridized with one extra band at around 3.0 kb. The fingerprinting pattern of the camel isolate was different from the two CIP strains except for the top band at 6.6 kb that was present in all three strains tested (Figure 1 A). The experiments were repeated several times with a high level of reproducibility. Moreover all experiments were standardized by comparing the fingerprints obtained with λ *Hind*III by the Image Master software (Pharmacia, Biotechnology, N.J.).

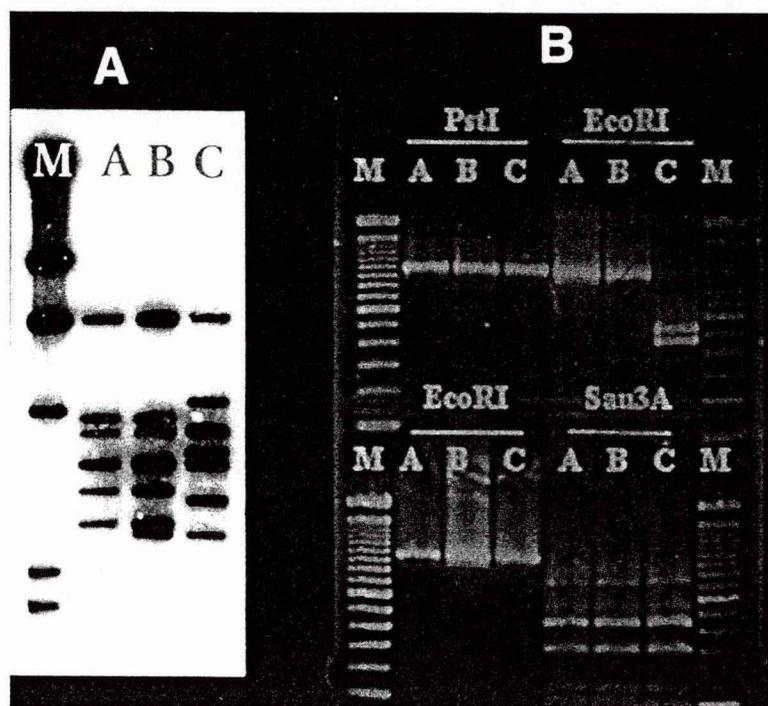


FIGURE 1 - A. RFLP profiles illustrating relation between the 2 CIP *S. equi equi* and the clinical isolate. The first lane is the marker λ -*Hind*III (Boeringher Mannheim); lanes M (100 bp ladder Amersham, life technology); lanes A, *S. equi equi* 277 CIP 102910, lanes B, *S. equi equi* 511 CIP) 105022; lanes C, *S. equi equi* camel isolate. B. Agarose gel electrophoresis (1.8% Metaphor agarose) of restriction digests with *Pst*I, *Eco*RV, *Eco*RI and *Sau*3A of the *rrn* intergenic spacers of the two CIP *S. equi equi* strains and the camel isolate amplified with the PCR-ribotyping method. lanes are as in (A).

Although standard ribotyping proved really useful in this study to determine the relatedness of Streptococcal strains, this approach requires a certain amount of work and time (2-3 days). PCR-ribotyping, on the other hand, is a rapid method that uses the 16S-23S intergenic spacer regions of bacterial ribosomal RNA operons as a target (Kostman *et al.* 1995; Gurtler and Stanisich 1996). Since Streptococci and Enterococci have 5 or 6 *rrn* operons (Sechi *et al.* 1994), there is a potential variability within the intergenic spacers. Bacot *et al.* (1991) have shown that *Streptococcus pneumoniae* has a tRNA^{ala} in one *rrn* operon. We previously found that *Enterococcus hirae* has one tRNA^{ala} in one operon and no tRNA in a second one (Sechi and Daneo-Moore, 1993). We wanted to see if the amplification of the intergenic spacers of enterococci was able to differentiate the clinical isolates as the ribotyping method (Gurtler and Stanisich, 1996). The chromosomal DNA of the 2 *S. equi equi* strains from the Pasteur Institute and the clinical isolate were amplified with primers complementary to the 3' end of the 16S and to the 5' end of the 23S *rrn*. All strains produced a pattern with one bright band at 980 bp. In order to differentiate the strains we used 8 different enzymes to digest the products of amplification, Figure 1B shows the results produced by only four endonucleases: *Pst*I, *Eco*RV, *Eco*RI and *Sau*3A. Only *Eco*RV was able to differentiate the clinical isolate from the two *S. equi equi* CIP strains (Fig. 1B), *Eco*RV did not digest the *rrn* intergenic spacer of the two CIP strains whereas they generated two bands of 460 bp and 520 bp after digestion of the camel isolate amplified fragment (Fig. 1B). *Pst*I and *Eco*RI did not digest the *rrn* intergenic spacer of all three strains analyzed whereas *Sau*3A generated a pattern of 4 bands for all strains. In conclusion, ribotyping showed a better power of differentiation than PCR ribotyping after restriction digestion of the amplification product, although the latter method can be used as first screening (it was able to differentiate the camel isolate from the two CIP *S. equi equi* strains) due to the short

time required to obtain the results. These techniques will be used notably to explore camel pathology in the horn of Africa and to establish genetic relationships between equine strains and camelids strains.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Ilaria Dupré for technical help in the Southern blotting. This work was supported by MURST prot. 9806297296_006 (Programma di ricerca scientifica, unità L. A. Sechi).

REFERENCES

- BACOT, M.C., and REEVES, R.H. (1991). Novel tRNA gene organization in the 16S-23S intergenic spacer of the *Streptococcus pneumoniae* rRNA gene cluster. *Journal of Bacteriology*, **173**, 4234-4236.
- CARON, F., PESTEL, M., KITZIS, M.D., LEMELAND, J.F., HUMBERT, G., and GUTMANN, L. (1995). Comparison of different β -lactam-resistant and highly glycopeptide-resistant isolate of *Enterococcus faecium*. *Journal of Infectious Diseases*, **171**, 106-112.
- CHOW, J.W., KURITZA, A., SHLAES, D.M., GREEN, M., SAHM, D.F., and ZERVOS, M.J. (1993). Clonal spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* between patients in three hospital in two states. *Journal of Clinical Microbiology*, **31**, 1609-1611.
- DONABEDIAN, S., CHOW, J.W., SHLAES, D.M., GREEN, M., and ZERVOS, M.J. (1995). DNA hybridization and contour-clamped homogeneous electric field electrophoresis for identification of enterococci to the species level. *Journal of Clinical Microbiology*, **33**, 141-145.
- FECKLAM, R.R., and COLLINS, M.D. (1989). Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *Journal of Clinical Microbiology*, **27**, 731-734.
- FEINBERG, A.P., and VOGELSTEIN, B. (1983). A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Analysis Biochemical*, **132**, 6-13.
- GALAN, J.E., and TIMONEY, J.F. (1988). Immunologic and genetic comparison of *Streptococcus equi* isolated from the United States and Eu-

- rope. *Journal of Clinical Microbiology*, **26**, 1142-1146.
- GORDILLO, M.E., SINGH, K.V., and MURRAY, B. (1993). Comparison of ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis for subspecies differentiation of strains of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Clinical Microbiology*, **31**, 1570-1574.
- GURTLER, V., and STANISICH, V.A. (1996). New approach to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. *Microbiology*, **142**, 3-16.
- HALL, L.M.C., DUKE, B., GUINEY, M., and WILLIAMS, R. (1992). Typing of *Enterococcus* species by DNA restriction fragment analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, **30**, 915-919.
- KOSTMAN, J.R., ALDEN, M.B., MAIR, M., EDLIND, T.D., LI PUMA, J., and STULL, T.L. (1995). A Universal approach to bacterial molecular epidemiology by polymerase chain reaction ribotyping. *Journal of Infectious Diseases*, **171**, 204-208.
- KUHN, I., BURMAN, L.G., HAEGMANN, S., TULLUS, K., and MURRAY, B. (1995). Biochemical fingerprinting compared with ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis of DNA for epidemiological typing of *Enterococci*. *Journal of Clinical Microbiology*, **33**, 2812-2817.
- KUHNEN, E., ROMMELSHEIM, K., and ANDRIES, L. (1987). Combined use of phage typing, enterococci typing and species differentiation as an effective epidemiological tool. *Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkd. Infektionskr. Hygiene Abt. 1 Orig. Reihe A*, **266**, 586-595.
- LIU, S.L., and SANDERSON, K.E. (1996). Highly plastic chromosomal organization in *Salmonella typhi*. *Proceeding National Academy of Science*, **95**, 10303-10308.
- MURRAY, B.E. (1990). The life and times of the *Enterococcus*. *Clinical Microbiology Reviews*, **3**, 46-65.
- MURRAY, B., SINGH, K.V., MARKOWITZ, S.M., LOPARDO, H.A., PATTERSON, J.E., ZERVOS, M.J., RUBEGLIO, E., ELIOPOULOS, G.M., RICE, L.B., GOLDSTEIN, F.W., JENKINS, S.G., CAPUTO, G.M., NASNAS, R., MOORE, L., WONG, S., and WEINSTOCK, E. (1991). Evidence for clonal spread of a single strain of β -lactamase-producing *Enterococcus* (*Streptococcus*) *faecalis* to six hospitals in five states. *Journal of Infectious Diseases*, **163**, 780-785.
- SCHABERG, D.R., CULVER, D.H., and GAYNES, R.P. (1991). Major trends in microbial etiology of nosocomial infection. *American Journal of Medicine*, **91**(suppl. 3B), 725-58.
- SECHI, L.A., and DANEOMOORE, L. (1993). Characterization of intergenic spacers in two *rrn* operons of *Enterococcus hirae* ATCC 9790. *Journal of Bacteriology*, **175**, 3213-3219.
- SECHI, L.A., ZUCCON, F.M., MORTENSEN, J.E., and DANEOMOORE, L. (1994). Ribosomal RNA gene (*rrn*) organization in enterococci. *FEMS Microbiology Letters*, **120**, 307-14.
- SHARPE, M.D., and SHATTOCK, P.M.F. (1952). The serological typing of group D *Streptococci* associated with outbreaks of neonatal diarrhoea. *Journal of General Microbiology*, **6**, 150-165.
- SOUTHERN, E.M. (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology*, **98**, 503-517.
- TOMAYKO, J.F., and MURRAY, B. (1995). Analysis of *Enterococcus faecalis* isolates from intercontinental sources by multilocus enzyme electrophoresis and pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*, **33**, 2903-7.
- YIGEZU, L.M., ROGER, F., KIREDJIAN, M., and TARIKU, S. (1997). Isolation of *Streptococcus equi subspecies equi* (strangles agent) from an Ethiopian camel. *Veterinary Rec.*, **140**, 608.

Discussion générale et perspectives

En raison de la progression rapide de la maladie observée chez les populations camelines de la Corne de l'Afrique, il est hautement probable qu'il s'agissait d'une maladie infectieuse et, plus précisément, d'une infection virale dont le rôle exact - cause, facteur causal ou facteur de risque - reste à déterminer. L'hypothèse bactérienne est à discuter ainsi que l'association virus - bactéries.

La pathologie observée à partir de mai 1995 a diffusé géographiquement sans que l'on observe de corrélation saisonnière. Cette observation renforce l'hypothèse de l'intervention d'agent(s) infectieux nouveau(x) pour les dromadaires et d'une pathologie apparemment non assujettie à des conditions extérieures.

1. Méthodologies utilisées : limites et contraintes

1.1. Approches cliniques, microbiologiques et expérimentales

i. Approche clinique

Pour la PPR, les signes cliniques enregistrés étaient similaires à ceux décrits chez les petits ruminants, exceptée l'atteinte des muqueuses buccales décrite, mais non personnellement observée.

Certaines descriptions cliniques pouvaient se rapporter à la gourme-maladie chez les équidés :

1. La phase initiale de la forme localisée (fièvre et jetage) ;
2. La forme septicémique qui était vraisemblablement celle affectant les dromadaires à partir desquels *Streptococcus equi* subsp. *equi* a été isolé, en particulier de la moelle osseuse. Cette forme généralisée est chez les équidés suspectée d'être provoquée par une initiation virale.

Mais, les signes cliniques de la PPR, maladie des ruminants, et de la gourme, maladie des équidés, ne sont pas nécessairement les mêmes chez un hôte hétérologue tel que le dromadaire, si celui-ci s'avère sensible à ces micro-organismes.

ii. Approche microbiologique

La présence du virus PPRV a été détectée - par ses antigènes, son ARN et ses anticorps - mais les tentatives d'isolement n'ont pu aboutir, ce qui soulève plusieurs interrogations. Cela pourrait être du à la mauvaise conservation des échantillons et/ou à l'absence d'un système cellulaire adapté. Habituellement, l'isolement du PPRV se fait aisément sur cellules VERO, système hétérologue, avec cependant parfois des difficultés (Diallo, communication personnelle).

Toutefois, même si une souche de PPRV avait été isolée, il aurait été difficile de conclure sur le rôle pathogène du virus PPR chez le dromadaire sans vérification des postulats de KOCH et/ou des postulats épidémiologiques (HILL et EVANS, cf. *infra*). Ainsi, un virus PPR a

également été isolé d'un bovin par l'Indian Institute of Science (*In*: Diallo, 1997) mais les infections expérimentales n'ont pas été concluantes et le doute subsiste quant à la signification de cet isolement.

La mise en évidence, d'une part, d'antigènes PPRV – ce qui témoigne d'une quantité importante de matériel biologique viral – et, d'autre part, d'ARN par PCR est en faveur de la présence du virus sous une forme éventuellement non viable.

La PCR est un outil devant être utilisé avec précautions, en particulier lors de la mise en évidence d'agents nouveaux. L'interprétation des résultats doit être prudente mais, par ailleurs, cet outil permet de soulever des hypothèses quant à l'intervention de souches, ou variants nouveaux, et chez des hôtes inhabituels.

Streptococcus equi subsp. *equi* a été isolé et caractérisé par rapport à des souches de référence. La recherche de *Pasteurellaceae* s'est avérée négative et la détection de Mycoplasmes par une méthode indirecte n'a pas été suivie d'isolement. La conservation des prélèvements peut être mise en cause, ainsi que les techniques et milieux d'isolement utilisés.

iii. *Infections expérimentales*

L'identification de l'agent causal d'une maladie infectieuse requiert d'abord la mise en relation de cas cliniques avec la détection et l'isolement d'agent(s) microbien(s) et ensuite l'utilisation d'un modèle d'infection expérimentale qui satisfait les postulats de KOCH. Ceux-ci sont les suivants :

1. L'agent doit être présent dans tous les cas de la maladie ;
2. L'agent ne doit pas être isolé lors d'autres maladies ou en l'absence de maladie ;
3. L'agent doit être isolé en culture pure et induire la maladie chez des animaux sensibles à partir desquels il sera ré-isolé.

Les postulats de KOCH s'appliquent correctement à des maladies dues à des agents pathogènes majeurs, responsables de maladies monofactorielles.

Le virus PPR et *Streptococcus equi* subsp. *equi* sont des agents microbiens que l'on peut qualifier de majeurs provoquant des maladies monofactorielles chez leurs hôtes. Mais, ils peuvent également se manifester dans un contexte "multifactoriel" et leur effet pathogène peut être conditionné par différents facteurs. Ainsi, le rôle immunodépresseur du PPRV peut prédominer et prédisposer à des infections secondaires, lors de l'existence de facteurs prédisposants et déclenchants. Les formes généralisées et graves de la gourme seraient dues à des facteurs prédisposants, en particulier de nature virale.

L'infection expérimentale de dromadaires avec une souche de PPRV ('Ethiopia 94') n'a pas été suivie de signes cliniques significatifs et le virus n'a pas été détecté dans les prélèvements de lymphocytes de ces animaux inoculés. Cette inoculation a, par contre, permis de vérifier la sensibilité des petits ruminants, en particulier, des ovins.

Les passages d'échantillons positifs d'un dromadaire malade chez des petits ruminants ont provoqué des signes cliniques et le virus a pu être détecté de nouveau par amplification génique. Cela corrobore la détection du virus PPR dans les échantillons initiaux, mais ne

permet pas de conclure sur son rôle pathogène pour le dromadaire qui pourrait "simplement" héberger ce virus.

Les conditions de ces expérimentations préliminaires n'ont cependant pas été idéales et donc rigoureuses. En particulier, l'utilisation de dromadaires d'Éthiopie, provenant de zones touchées par l'épizootie, ne permettait pas de disposer d'animaux naïfs vis-à-vis du virus PPR.

1.2. Approches épidémiologiques

Cependant, pour de nombreuses maladies y compris pour les maladies infectieuses, les postulats de KOCH ne peuvent pas être respectés. La présence de l'agent pathogène ne s'accompagne pas forcément de la maladie et d'autres facteurs interviennent. HILL puis EVANS ont proposé des postulats plus nuancés, s'appliquant à une démarche épidémiologique, que l'on peut résumer par trois conditions principales :

1. antériorité du facteur sur l'effet ;
2. association facteur-effet suffisamment forte ;
3. absence d'autres facteurs.

L'identification d'une étiologie virale et/ou bactérienne demande donc également une démarche épidémiologique. La détection d'une infection virale ou bactérienne au cours d'une maladie pouvant être fortuite, seule l'étude collective de cas permet de conclure. Mais, par ailleurs, il est à souligner que la présence d'un virus ou d'une bactérie peut être la conséquence et non la cause d'un contexte épidémiologique favorisant à la fois la maladie et l'infection.

Dans le contexte d'une approche épidémiologique analytique - détermination des causalités -, il est impossible d'attribuer un rôle causal à un facteur en ne travaillant que sur une population malade. Il est nécessaire, en effet, de disposer également d'une population saine afin de pouvoir calculer le risque relatif ou son estimation. Dans le cas de la pathologie observée sur les dromadaires éthiopiens, il y avait uniquement une population malade, excepté dans le cas de l'approche sérologique où la disponibilité de sérums d'animaux non affectés, puisque prélevés avant la survenue de l'épizootie, permettait de se situer dans le cadre d'une enquête rétrospective de type cas/témoin.

2. Discussion des hypothèses étiologiques

2.1. Hypothèse virale : PPRV

Les observations préliminaires pouvaient en effet inciter à rechercher une infection virale, en raison, d'une part, d'une incidence élevée de la maladie dans une zone où la prévalence d'un virus était élevée (ici le virus PPR) et, d'autre part, de l'existence de symptômes et de lésions compatibles avec une origine virale voire analogues avec celles d'une autre espèce (Buffet, 1993).

Lors de l'épizootie cameline, l'incidence de la PPR chez les petits ruminants en région Afar et l'analogie des signes cliniques observés habituellement chez les caprins et les ovins (syndrome respiratoire dominant) conduisaient particulièrement à suspecter cette maladie.

La détection du virus PPR et des anticorps anti-PPRV peuvent conduire principalement aux deux hypothèses suivantes :

1. Les dromadaires sont réceptifs au virus de la PPR - réceptivité établie par sérologie et détection d'antigènes et d'ARN - mais non sensibles. Dans ce cas, et dans le cadre du contrôle de la PPR, le rôle épidémiologique du dromadaire - relais ou cul-de-sac épidémiologique ? - reste à évaluer. Les résultats des infections expérimentales préliminaires militent en faveur de cette hypothèse.
2. Les dromadaires sont réceptifs et sensibles au virus de la PPR. Dans ce cas, le PPRV serait l'agent étiologique de la pathologie observée par son tropisme épithélial et/ou par son tropisme lymphocytaire et son rôle immunodépresseur. Par ailleurs, à l'instar de ce qui est observé pour le MV, l'hypothèse que ce virus puisse se comporter comme un agent opportuniste sur un terrain favorable peut être également avancée.

2.2. Hypothèse bactérienne : *Streptococcus equi* subsp. *equi*

L'effet positif de l'antibiothérapie orientait vers une étiologie bactérienne, et, notamment, vers l'hypothèse relative aux « pasteurelloses », en particulier par référence à celles des bovins. Cependant, les connaissances relatives aux « pasteurelloses » des dromadaires d'une part, et des bovins, ovins et caprins d'autre part, (septicémie hémorragique, mannheimiose et pasteurelloses) ne permettent pas de rendre compte de la large diffusion observée qui s'est manifestée sous une forme épizootique.

L'isolement de l'agent de la gourme des équidés, *Streptococcus equi* subsp. *equi*, maladie très contagieuse, suscite plusieurs interrogations. S'agit-il :

- d'une souche particulière, émergeant dans une population cameline naïve vis-à-vis de ce germe et se propageant rapidement ?
- d'une souche équine ou cameline affectant le dromadaire mais n'ayant jamais été isolée et typée ?
- d'une souche se comportant comme un germe opportuniste suite à l'intervention de facteurs prédisposants et/ou à une immunosuppression d'origine virale ou autre ?

2.3. Hypothèse relative à l'association virus et bactérie(s)

En fonction des données disponibles, l'hypothèse la plus plausible est une initiation du processus morbide par une ou plusieurs souches(s) du PPRV. Il est cependant difficile de conclure sur le fait que les signes cliniques étaient dus au(x) PPRV. Deux hypothèses à ce niveau sont concevables :

1. Formes cliniques subaiguës de la PPR, incluant une immunosuppression et des surinfections bactériennes ;
2. Formes sub-cliniques de PPR avec uniquement déclenchement d'une immunosuppression et survenue d'infections bactériennes.

Comme précisé antérieurement, la PPR chez les petits ruminants est très fréquemment compliquée par des infections bactériennes.

Un contexte prédisposant et favorisant à l'établissement de cette pathologie respiratoire a pu être généré par les prévalences de *T. evansi* et de *C. titillator*, infestations parasitaires enzootiques dans les zones d'élevage du dromadaire de la Corne de l'Afrique.

2.4. Autres hypothèses

Plus largement, la famille des *Paramyxoviridae* comporte de nombreux virus importants en médecine vétérinaire. Plusieurs provoquent des maladies systémiques (Morbillivirus, virus de la maladie de Newcastle, etc.) et d'autres des maladies en premier lieu respiratoires (virus respiratoire syncytial, virus parainfluenza).

Parmi les virus identifiés par sérologie chez le dromadaire, le PI-3 semble être celui dont la circulation est la plus intense en Afrique sub-saharienne et, en particulier, dans les zones semi-arides et arides. Mais, la progression rapide de la maladie observée ne peut être expliquée par l'intervention de ces virus (bovine PI-3 ou ovine PI-3) circulant apparemment activement en zones pastorales. Cependant, l'existence d'un variant spécifique camelin, n'est pas à exclure.

En raison de la forte variabilité génétique des virus Influenza, l'émergence de souches, contre lesquelles les hôtes habituels ne sont pas immunisés, est fréquente (Webster, 1998). L'épizootie décrite en Mongolie chez les chameaux était particulière puisqu'il s'agissait d'un virus issu d'un réassortiment avec un virus vaccinal. Les ruminants *sensu lato* ne sont pas considérés comme des animaux sensibles aux virus Influenza. Cependant, des données récentes montrent que les bovins pouvaient présenter une pathologie respiratoire provoquée par un virus Influenza.

Enfin, il est indispensable de ne pas omettre l'éventualité de l'intervention de virus et/ou bactéries autres, non identifiés et non suspectés.

2.5. Maladies infectieuses émergentes

En ce qui concerne le virus PPR et les hypothèses émises ci-dessus et l'isolement de *Streptococcus equi* subsp. *equi*, le contexte épidémiologique est celui des maladies infectieuses émergentes, incluant la notion de transferts interespèces.

La FAO enregistre en 2000 "une propagation alarmante des maladies animales. Des foyers de maladies mortelles du bétail sans précédent ont été signalés récemment en Afrique, en Europe et au Moyen-Orient". Selon l'avertissement lancé par la FAO, l'intensification du commerce international d'animaux et de produits de l'élevage, ainsi que les mouvements de populations d'un pays à l'autre, contribuent à la propagation des maladies infectieuses.

D'une manière plus générale, les futurs défis dans le domaine des maladies infectieuses émergentes sont les suivants (ICEID, 2000) : l'antibiorésistance, la grippe (virus Influenza), la fièvre jaune, les toxi-infections alimentaires, les maladies chroniques, les virus de la famille des *Paramyxoviridae*, en particulier les Morbillivirus et les nouveaux virus (Hendra-, Menangle- et Nipah virus) classés dans cette famille, les arboviroses et les "inattendus".

2.5.1. Définition(s)

A la fin des années 1970, en raison de l'existence de moyens efficaces de lutte (antibiotiques, vaccins), il était considéré que l'élimination des maladies infectieuses était proche mais quelques années plus tard, le concept de maladies émergentes était proposé (Morse, 1993) :

« Les infections émergentes sont celles dont l'incidence chez l'homme a augmenté dans les deux dernières décennies ou menace d'augmenter dans un proche avenir. L'émergence peut être due à la diffusion d'un nouvel agent, à l'identification d'une infection présente, mais non encore détectée, ou à la compréhension qu'une maladie établie avait une origine infectieuse. L'émergence peut également être employée pour décrire la réapparition, ou "ré-émergence", après la diminution de l'incidence d'une infection connue ».

Les définitions utilisées en santé animale sont analogues (Brown, 1999).

2.5.2. Origines des maladies émergentes

Les variations génétiques et antigéniques des micro-organismes sont fréquentes. Parmi les micro-organismes, les agents infectieux, ne persistant qu'à la faveur d'un parasitisme vis-à-vis d'un hôte, sont capables d'évoluer et de s'adapter à leur environnement par la plasticité de leur génome (mutation/sélection, conversion, recombinaison) et par la régulation de leur expression. Les variations permettent des adaptations rapides et l'élargissement de leurs spectres d'hôtes (Hannoun, 1993 ; Revillard, 1994). Les interactions hôtes - agents infectieux sont à l'origine d'une co-évolution : les micro-organismes obligent l'hôte à développer de multiples réponses adaptatives et, réciproquement, la réponse immunitaire de l'hôte exerce une forte pression de sélection sur les micro-organismes (Revillard, 1994). Ces évolutions naturelles sont perturbées par l'activité humaine qui est à l'origine de l'émergence de maladies. Ainsi, le rôle de combinaison, souvent complexes, de facteurs de prédisposition ont facilité depuis plusieurs années l'émergence de maladies (Lim, 1999).

Les éléments reconnus favorisant l'émergence de maladies humaines sont la multiplication des voyages internationaux, les modifications comportementales, écologiques, climatiques, l'intensification et la mondialisation du commerce, la diminution des mesures préventives, l'usage excessif de l'antibiothérapie, les adaptations microbiennes et l'utilisation de nouveaux animaux (zoonoses) (Morse, 1993 ; Longbottom, 1997 ; Cohen, 1998). Concernant les maladies émergentes animales, la plupart de ces facteurs sont recevables (Brown, 1999), en particulier les déplacements et le commerce, la diminution des mesures de contrôle dans certains pays, l'usage abusif de l'antibiothérapie et les modifications écologiques induites par l'activité humaine. Les modifications dans les conduites d'élevage (intensification, alimentation), avec l'exemple de l'encéphalite spongiforme bovine, sont également des facteurs essentiels.

Enfin, le développement d'outils de détection moléculaire, méthodes plus rapides, plus sensibles et plus spécifiques que les méthodes traditionnelles, permettent de mettre en évidence le rôle de micro-organismes jusqu'alors non détectés pour des pathologies (Relman, 1997).

Ces facteurs sont-ils présents dans un milieu traditionnel, peu anthropisé, comme le sont les zones semi-arides et arides où sont élevés les dromadaires ? Les importants mouvements

transfrontaliers du bétail et les modifications écologiques globales (climat) peuvent être des facteurs potentiels d'émergence. Mais, il faut sans doute prendre en compte le fait que les zones urbaines se développent considérablement avec un élevage s'intensifiant en zones périurbaines. Ces espaces, ainsi que les marchés, interfaces avec les milieux traditionnels, augmentent les risques d'échanges et de brassages microbiens.

Dans le cadre de l'hypothèse de l'intervention d'un virus PPR et/ou de *Streptococcus equi* subsp. *equi*, dans les populations camelines d'Ethiopie, quatre sources d'émergence, non exclusives, peuvent être ainsi suggérées :

1. Emergence d'un nouveau variant viral qui a affecté des dromadaires réceptifs mais dont la sensibilité resterait à établir ;
2. Passage inter-espèce, i.e. des petits ruminants aux dromadaires ;
3. Dissémination géographique d'un variant du PPRV à partir d'une population où il était originellement confiné ;
4. Reconnaissance et prise en compte d'une maladie qui avait déjà sévit chez les dromadaires, éventuellement dans une population restreinte.

*

**

En raison de l'hypothèse relative à une intervention d'un virus PPR et des caractéristiques génétiques de ces organismes, il paraît nécessaire de développer le cas des Morbillivirus dans le contexte des maladies émergentes.

2.5.3. Les Morbillivirus et les maladies émergentes

L'infection par des *Paramyxoviridae* récemment découverts et proches des Morbillivirus (virus Hendra et Nipah) infectant de façon persistante les chauves-souris, a causé plusieurs cas mortels chez l'homme après transmission par l'intermédiaire des chevaux ou des porcs. De la même façon, l'introduction de nouveaux Morbillivirus dans des populations jusqu'alors "vierges" a causé une mortalité importante parmi les mammifères terrestres et aquatiques (Osterhaus, 2000).

L'émergence de nouveaux Morbillivirus a été particulièrement décrite depuis 1988, en particulier chez les mammifères marins et les carnivores (Harder et Osterhaus, 1997 ; Hass et Barrett, 1996).

Le virus de la maladie de Carré (CDV), maladie du chien, voit son spectre d'hôtes s'accroître dans l'ordre des *Carnivora*. Ainsi, des membres des familles des *Felidae* (lions en particulier) et des *Hyenidae*, ont été affecté par le CDV. Des Carnivores marins ont été également infectés par le CDV et par un virus très proche du CDV, le 'phocine distemper virus' (PDV). Dans le cas de la transmission aux lions, plusieurs génotypes du virus co-circulent dans une zone géographique restreinte. Les transmissions interespèces se produisent fréquemment pour ce virus, et conduisent souvent à des épizooties importantes dans les populations fortement sensibles ou immunologiquement naïves (Harder et Osterhaus, 1997).

Trois Morbillivirus, proches génétiquement, affectent des membres de l'Ordre des *Cetacea*³¹, du sous-ordre des *Odontoceti* (Tautenberger *et al.*, 2000) : le PMV isolé de Marsouin (*Phocoenidae* ; porpoises), le DMV et le PWMV isolés de dauphins (*Delphinidae*).

Les Morbillivirus des bovins, ovins et caprins (RPV et PPRV) affectent à divers degrés des espèces domestiques et sauvages de l'ordre des *Artiodactyla* avec des réserves et incertitudes pour le sous-ordre des *Tylopoda*.

*

**

Les virus à ARN tels que les Morbillivirus, ont une capacité importante à muter en raison des erreurs des ARN polymérase et de l'absence de système de relecture. Les mutations accidentelles ne sont pas rectifiées, pas plus que les erreurs de copiage au cours de la réplication virale. A chaque cycle, des mutations surviennent et la réplication d'un virion peut en quelques heures devenir une quasi-espèce, ou, plus prosaïquement, « *a mutant viral swarm* ». Les quasi-espèces sont de très proches (mais non identiques) génomes viraux mutants et recombinants. Ils sont sujets à de constantes variations, compétition et sélection génétiques (Domingo *et al.*, 1998). La structure des quasi-espèces et la dynamique de réplication de l'ARN permettent aux populations virales de survivre dans leur cellule hôte et de provoquer la maladie. Quand une quasi-espèce est placée dans un nouvel environnement - hôte vertébré et son système immunitaire - seule celle qui est compatible avec celui-ci survivra et donnera naissance à un nouveau « phénotype ».

*

**

L'hypothèse relative à l'intervention de souche(s) de virus PPR lors de l'épizootie constatée chez les dromadaires en Ethiopie peut être discutée dans ce contexte.

Les hôtes connus du virus PPRV sont des animaux domestiques de la famille des *Bovidae* - les caprins et ovins réceptifs et sensibles, et les bovins, exclusivement réceptifs - et certains animaux sauvages des familles des *Bovidae* et *Cervidae*. Plusieurs souches de PPRV ont été identifiées et réparties en quatre groupes géographiques. La sensibilité chez les petits ruminants est variable, en particulier pour les ovins réputés moins sensibles. Mais, cette différence est probablement due à l'hôte lui-même plutôt qu'au virus, dont l'existence de souches de virulences différentes n'a pas été mise en évidence.

Les observations et les expérimentations faites en Ethiopie ont montré que les ovins pouvaient exprimer des formes aiguës et se distinguer de l'atteinte, subaiguë, décalée, des caprins. En conséquence, l'hypothèse de l'existence de souches dont la virulence serait variable est à considérer.

Les fragments d'ARN du PPRV détectés par PCR chez les dromadaires et les ovins, puis séquencés, ont montré une appartenance à deux groupes génétiques (II : groupe 'Nigeria et

³¹ une publication récente suggère que les Ordres des *Artiodactyla* et *Cetacea* soient regroupés en un seul groupe, les "*Cetartiodactyla*" : Phylogenetic relationships of artiodactyls and cetaceans as deduced from the comparison of cytochrome b and 12S rRNA mitochondrial sequences. Montgelard C, Catzeflis FM, Douzery E. 1997. *Molecular biology and evolution* 14:(5)550-559.

Ghana' et III : groupe 'Afrique de l'Est - Corne de l'Afrique et Péninsule Arabique'), ce qui pourrait signifier qu'il y avait circulation de deux souches. Il y a lieu de s'interroger sur la mise en évidence de ces deux souches : existe t-il une co-circulation des souches différentes dans une zone géographique restreinte ? Ont-elles un pouvoir pathogène différent, l'une des deux est-elle intervenue ou ont-elles agit conjointement ? La souche du groupe II aurait-elle été véhiculée depuis des régions situées à l'ouest de l'Ethiopie ?

L'hypothèse de l'intervention du PPRV chez les dromadaires se situe dans le cadre d'une transmission inter-espèce. Il a été précisé que le dromadaire était différent des ruminants vrais. Les données anatomiques suggèrent que les *Tylopoda* ont évolué séparément des *Ruminantia* depuis un ancêtre commun monogastrique. Cependant, les données moléculaires confirmant ces conclusions basées sur des comparaisons anatomiques sont peu nombreuses. Des travaux ont néanmoins été réalisés sur les immunoglobulines et ont montré une proximité avec celles des *Suidae* et celles de l'homme (Pastoret *et al.*, 1998). Il est également à relever que, récemment, Hamers-Casterman *et al.* (1993) ont montré que les immunoglobulines des dromadaires étaient à 75% des immunoglobulines sans chaînes légères. Les camélidés sont les seuls vertébrés connus possédant des anticorps de ce type. Le dromadaire semble être une espèce singulière, relativement éloignée des petits ruminants mais partageant les mêmes espaces. Un transfert inter-espèce du PPRV paraît plausible, à l'instar de ce qui a été observé pour le CDV.

"[...], les morbillivirus continueront à nous surprendre dans le futur [...]"
(Hass et Barrett, 1996).

3. Perspectives

Les études sur les épidémies et épizooties émergentes sont un défi important en matière d'épidémiologie et de santé. Lorsque le pic épizootique d'une maladie est terminé, une étude épidémiologique et environnementale approfondie peut souvent aider à mieux comprendre cette maladie et prévenir de futurs foyers (Reingold, 1998).

La poursuite des investigations nécessite des infections expérimentales en utilisant différentes souches de PPRV et *Streptococcus equi* subsp. *equi*, et une approche épidémiologique par la mise en place d'enquêtes exposés/non-exposés et cas/témoins si cette pathologie était observée de nouveau. La surveillance épidémiologique est donc nécessaire et le développement en Afrique sub-saharienne de réseaux d'épidémiosurveillance devrait intégrer l'espèce dromadaire.

3.1. Microbiologie et infections expérimentales

Les méthodes basées sur le séquençage offrent désormais des approches alternatives aux méthodes d'isolements viraux et bactériens. Le développement rapide des données relatives aux séquences du génome des micro-organismes et les progrès en biotechnologie autorisent en particulier l'identification d'un large éventail de pathogènes. Cette identification peut se faire sur les séquences hautement conservées, permettant ainsi de caractériser un groupe phylogénétique, et/ou sur les séquences variables qui conduisent à des identifications précises (Relman, 1997).

L'utilisation chez le dromadaire de techniques moléculaires pour la détection des virus de la famille des *Paramyxoviridae* et des bactéries de la famille des *Pasteurellaceae* et du genre *Streptococcus*, serait à considérer. Ces détections pourraient être mises en œuvre à partir de prélèvements sur des animaux tout-venant, en abattoir, puis suivies par des séquençages et/ou des tentatives d'isolement. Pour les isolements viraux, il est peut être nécessaire de disposer de lignées cellulaires issues de dromadaires.

Il est essentiel de poursuivre et d'élargir les infections expérimentales. Celles-ci devraient être menées dans des conditions rigoureuses et de préférence, pour la PPR, avec des dromadaires de régions où le virus ne circule pas. Il est également important de réaliser des infections expérimentales avec *Streptococcus equi* subsp. *equi* et d'associer l'infection virale à l'infection bactérienne.

3.2. Surveillance et enquêtes épidémiologiques

3.2.1. Epidémiosurveillance

L'épidémiosurveillance des maladies animales est essentielle à la définition et au suivi de la lutte contre les maladies animales. En Afrique sub-saharienne, où les services vétérinaires sont confrontés depuis plusieurs années à des problèmes de ressources et où les maladies entraînant des conséquences socio-économiques majeures persistent, cette surveillance sanitaire est à développer et à rendre durable. Le développement des technologies de l'information apporte de nouveaux moyens pour surveiller et faire face aux maladies (Grein *et al.*, 2000). Dans ce cadre, et pour les problèmes sanitaires des zones pastorales, par définition

éloignées de tels moyens de communication, il est essentiel d'évaluer rapidement les rapports sur les épizooties, mais également les rumeurs, qui transitent vers les centres urbains et marchés.

Les pathologies camelines sont à inclure au sein de ces systèmes de surveillance, en l'occurrence pour les maladies se caractérisant par de forts taux de morbidité et de mortalité comme la pathologie observée en 1995 – 1996. Cette pathologie pourrait réapparaître après reconstitution d'une population sensible. Une surveillance sanitaire peut en outre fournir des informations utiles à la formulation d'hypothèses sur les maladies du dromadaire, en particulier sur les maladies respiratoires et leurs facteurs de risques.

3.2.2. Enquêtes transversales

Ces enquêtes, mises en place dans un but descriptif, destinées principalement à estimer la prévalence d'une maladie, et fréquemment utilisées chez les dromadaires sous la forme d'enquêtes sérologiques, sont mal adaptées à la détermination des causes d'une maladie. Cependant, elles sont utilisées en raison de leur faible coût et peuvent permettre dans certains cas, pour des maladies fréquentes et récurrentes, de formuler des hypothèses. Mais, il est préférable d'utiliser une étude analytique longitudinale pour déterminer la ou les cause(s) d'une maladie.

3.3. Etudes épidémiologiques

3.3.1. Epidémiologie moléculaire

L'épidémiologie moléculaire de la PPR serait à appréhender en intégrant la diversité des hôtes potentiels. La définition de cette discipline serait cependant à reconsidérer selon Durr *et al.* (2000), car elle fait appel avant tout aux techniques de la biologie moléculaire plutôt qu'à l'approche épidémiologique.

3.3.2. Etudes analytiques

Les hypothèses suggérées par les premières approches doivent être confirmées par des études épidémiologiques analytiques. Ces études, à visée explicative, sont de préférence de type enquête exposés/non-exposés pour une maladie fréquente et à incubation courte, plutôt qu'une enquête cas/témoin mieux adaptée aux maladies rares et à incubation longue. Cependant, les enquêtes exposés/non-exposés ont l'inconvénient d'être complexes à mettre en œuvre, longues et coûteuses, surtout dans un contexte d'élevage extensif comme celui du dromadaire.

3.3.3. Modélisation

En considérant l'hypothèse relative à l'infection primaire du dromadaire par le PPRV, et en fonction des données nécessaires supplémentaires qui confirmeront ou non son rôle pathogène, il serait important de comprendre et prévoir la persistance du PPRV. En considérant le processus à différentes échelles - de l'individu aux populations -, une approche par modélisation de la persistance de la rougeole a été développée (Keeling, 1997) et étudiée dans le cas de la peste bovine (James et Rossiter, 1989a,b ; Tille *et al.*, 1991). En effet, en intégrant les différentes espèces pouvant intervenir - réservoirs, relais - et les modalités épidémiologiques - épizootiques et/ou enzootiques -, le développement de modèles relatifs à

la propagation et à la persistance de la PPR serait vraisemblablement une voie d'approche génératrice d'hypothèses sur l'épidémiologie de cette maladie.

Conclusion

"Over two-third of the African continent is unsuited to growing crops, consequently ruminant animals constitute the only practical way such land can be utilized for food production" (Pritchard, 1988).

L'animal dans l'économie pastorale est complètement intégré culturellement et économiquement au sein de la structure sociale (Majok et Schwabe, 1996) au contraire des sociétés agraires et industrielles où les animaux ont des rôles utilitaires et spécialisés. L'importance sociale, culturelle, économique et écologique du dromadaire dans les sociétés pastorales est bien établie (Faye, 1999).

Les contraintes inhérentes à son élevage sont, entre autres, d'ordre sanitaire. Par rapport aux autres animaux domestiques, les connaissances relatives à la pathologie du dromadaire sont sans aucun doute plus faibles et fragmentaires.

La survenue d'une pathologie très contagieuse en Ethiopie en 1995-1996 n'a pu être rattachée à une maladie connue des camélidés. Il s'agissait soit d'une pathologie existante, mais non reconnue jusqu'à présent, soit d'une maladie nouvelle dont les facteurs d'émergence restent à préciser dans le contexte de l'élevage pastoral. Les hypothèses formulées par les travaux présentés dans ce mémoire soulèvent plusieurs questions dont les plus essentielles concernent la sensibilité des dromadaires au PPRV et son rôle épidémiologique éventuel dans cette maladie.

Une approche, associant pathologie et microbiologie, infections expérimentales et épidémiologie, est nécessaire à la poursuite des investigations.

*

**

Références

- Abdel Rahim AI, Benhaj K, Elzurgani M.** 1990. A preliminary study on some Libyan camel affections and the economic losses due to condemnations at slaughter houses, in : Proc. the int. Conf. on camel production and improvement 10-13 Dec. Tobruk, Libya: 223.
- Abdhurman OASh.** 1987. Pulmonary lesions among slaughtered camels in Mogadishu. Camel forum 20.
- Abu Elzein EME.** 1984. Rapid detection of Bluetongue virus antigen in the sera and plasma of camels, sheep and cattle in the Sudan, using the Gel Immunodiffusion test. Archives of Virology 79:131-134
- Abu Elzein EME.** 1985. Bluetongue in camels : a serological survey of the one camel (*Camelus dromedarius*) in the Sudan. Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop. 38(4):438-442.
- Adlam C, Rutter JM.** 1989. Pasteurella and pasteurellosis. Academic Press, Londres. 223-262.
- Al-Darraji AM, Wajid SJ.** 1990. Etiological and pathological study of camel's lung lesions in Iraq. Camel Newsletter. 7(12):77.
- Alexander DJ, Brown IH.** 2000. Recent zoonoses caused by influenza A viruses. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot. 19(1):197-225.
- Al-Ghamdi GM, Kapur V, Ames TR, Timoney JF, Love DN, Mellencamp MA.** 2000. Use of repetitive sequence-based polymerase chain reaction for molecular epidemiologic analysis of *Streptococcus equi* subspecies *equi*. Am. J. Vet. Res. 61(6):699-705.
- Alonso JM.** 1971. Contribution à l'étude de la peste en Mauritanie. Th: Méd.: Paris 6, Paris; 59.
- Ames TR, Markham RJ, Opuda-Asibo J, Leininger JR, Maheswaran SK.** 1985. Pulmonary response to intratracheal challenge with *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida*. Can. J. Comp. Med. 49(4):395-400.
- Anchlan D, Ludwig S, Nymadawa P, Mendsaikhan J, Scholtissek C.** 1996. Previous H1N1 influenza A viruses circulating in the Mongolian population. Arch. Virol. 141(8):1553-1569.
- Angen Ø, Mutters R, Caugant DA, Olsen JE, Bisgaard M.** 1999. Taxonomic relationships of the [*Pasteurella*] *haemolytica* complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia haemolytica* gen. nov., comb. nov., *Mannheimia granulomatis* comb. nov., *Mannheimia glucosida* sp. nov., *Mannheimia ruminalis* sp. nov. and *Mannheimia varigena* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 49:67-86.
- Arora RG, Kalra DS.** 1973. A note on isolation of *Klebsiella pneumoniae* and Diplococci from cases of bronchopneumonia in camels. Ind. J. Anim. Sci. 43 (12):1095-1096.

Artiushin S, Timoney JF. 1996. PCR for detection of *Streptococcus equi* subsp. *equi*. In: Abstracts: XIIIth Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal diseases. September 16-20. Institut Pasteur. Paris, France.

Arya SC. 2000. Human contact with cattle, dogs and monkeys and genetic diversity of measles viruses. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 23(2):125-127.

Asche V. 1991. Melioidosis-a disease for all organs. *Today's life science* 6, 34-37.

Auguadra P. 1958. Grippe O influenza del dromedario Somalo. *Arch. Ital. Sci. Med. Trop. Parasit.* 34:215-222.

Awad FJ, Salem AA, Fayed AA. 1976a. Studies of clinical signs observed on experimentally infected animals with *Pasteurella multocida* type I. *Egypt J. Vet. Sci.* 13(1):53-56.

Awad FJ, Salem AA, Fayed AA. 1976b. Studies on the viability of *Pasteurella multocida* type I under simulated environmental conditions in Egypt . *Egypt J. Vet. Sci.* 13(1):57-69.

Baars RM. 2000. Costs and returns of camels, cattle and small ruminants in pastoral herds in eastern Ethiopia. *Trop. Anim. Health Prod.* 32(2):113-26.

Bares JF. 1968. Contribution à l'étude de la pathologie infectieuse du dromadaire au Tchad. *Th: Vét.: ENV Toulouse.*; 7:65.

Barrett T. 1999. Morbillivirus infections, with special emphasis on morbilliviruses of carnivores. *Vet. Microbiol.* 69(1-2):3-13.

Baumann MP, Zessin KH. 1987. The health of camel (*Camelus dromedarius*) in Somalia. *World Veterinary Congress. Montreal, 1987*, 15 p.

Bellini WJ, Rota PA, Harcourt BH, Tamin A, Goldsmith CS, Zaki SR, Rollin PE, Ksiazek TG. 2000. Nipah Virus, a Newly Emerging, Highly Pathogenic Paramyxovirus. In proceedings: International Conference on Emerging Infectious Diseases 2000. July 16-19, 2000. Atlanta Georgia, USA.

Bergin T, Torenbeeck LR. 1991. Melioidosis in camels. *Austr. Vet. J.* 68:309.

Berhe G, Minet C, Le Goff C, Ngangnou A, Grillet C, Libeau G, Black DN, Fleming M, Barrett T, Diallo A. 2000. Development of recombinant vaccine to protect small ruminants against both capripox and peste des petits ruminants diseases. XIIIth international Poxvirus and Iridovirus symposium. Le Corum, Montpellier, France, September 2-6, 2000

Bisgaard M, Mutters R. 1986. Re-investigations of selected bovine and ovine strains previously classified as *Pasteurella haemolytica* and description of some new taxa within the *Pasteurella haemolytica*-complex. *Acta. Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B.* 94, 185-193.

Bisgaard M. Ecology and significance of Pasteurellaceae in animals. *Zbl. Bakt.*, 1993, 279, 7-26.

Blancou J. 2000. Histoire de la surveillance et du contrôle des maladies animales transmissibles. Paris: Ed. Office International des Epizooties. ISBN 92-9044-506-8.

Bohrmann, R, Frey HR, Liess B. 1988. Survey on the prevalence of neutralizing antibodies to bovine viral diarrhoea (BVD) virus, bovine herpes virus type I (BHV-1) and parainfluenza virus type 3 (PI-3) in ruminants in the Djibouti republic. Dtsch. Tieraerztl. Wschr. 95:99-102.

Bornstein S, Musa BE, Jama FM. 1988. Comparison of seroepidemiological findings of antibodies to some infectious pathogens of cattle and camels of Sudan and Somalia with reference to findings in other countries of Africa. In : The int. symp. on the development of animal resources in the Sudan, Khartoum, Sudan:28-34.

Bourdin P, Laurent-Vautier A. 1967. Note sur la structure du virus de la peste des petits ruminants. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop. 20(3):383-386.

Bourdin P, Rioche, M, Laurent A. 1970. Emploi d'un vaccin antibovipestique produit sur cultures cellulaires dans la prophylaxie de la peste des petite ruminants au Dahomey. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop. 23(3):295-300.

Bradley SF, Gordon JJ, Baumgartner DD, Marasco WA, Kauffman CA. 1991. Group C streptococcal bacteremia: analysis of 88 cases. Rev. Infect. Dis. 13, 270-80.

Brogden KA, Lehmkuhl HD et Cutlip RC. 1998. Pasteurella haemolytica complicated respiratory infections in sheep and goats. Vet. Res. 29, 233-254.

Brown C. 1999. Emerging diseases of Animals. In: Emerging infections. Scheld WM, Craig WA, Hughes JM. American Society for Microbiology. ISBN 1-55581-168-X. pp.153-165

Brown IH, Crawshaw TR, Harris PA, Alexander DJ. 1998. Detection of antibodies to influenza A virus in cattle in association with respiratory disease and reduced milk yield. Vet. Rec. 143:637-638.

Buffet R. 1993. Epidémiologie et contrôle des maladies virales. In: Virologie médicale. R. Crainic et JC Nicolas, Coordinateurs. Technique et Documentation - Lavoisier, Paris. ISBN 2-85206-909-1.

Burgemeister R, Leyk W, Goessler R. 1975. Untersuchungen uber Vorkommen von Parasitosen, bakteriellen und viralen Infektionskrankheiten bei Dromedaren in Suedtunesien. Dtsch. Tieraerztl. Wschr. 82:352-354.

Chartier F, Chartier C, Thorel MF, Crespeau F. 1991. Un nouveau cas de tuberculose pulmonaire à *Mycobacterium bovis* chez le dromadaire (*Camelus dromedarius*) en Mauritanie. Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop. 44(1):43-47.

Chartier F. 1989. Contribution à l'étude lésionnelle des affections respiratoires du dromadaire. Thèse Vétérinaire (DVM), Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, N°22.

Chauhan RS, Gupta SC, Satija KC, Kulshreshtha RC, Kaushik RK. 1987. Bacterial flora of upper respiratory tract in apparently healthy camels. Ind. J. Anim. Sci. 57 (5):424-426.

Chauhan RS, Kaushik RK, Gupta SC, Satiya KC, Kulshreshtha RC. 1986. Prevalence of different diseases in camels (*Camelus dromaderius*) in India. Camel Newsletter. 3:10-14.

Chauhan RS, Kulshreshtha RC, Kaushik RK. 1985. Epidemiological studies of viral diseases of livestock in Haryana State. *Indian J. Virol.* 1 (1):10-16.

Christie AB, Chen TH, Elberg SS. 1980. Plague in camels and goats : their role in human epidemics. *J. infect. Dis.* 141(6):724-726

Cohen ML. 1998. Resurgent and emergent disease in a changing world. *Br. Med. Bull.* 54(3):523-32

Conti G. 1913. Una questione molto seria di profilassi : la peste bovina dei cammelli. *Moderna Zoolatro.* 24:215

Cross HE. 1919. Are camels susceptible to blackquarter, haemorrhagic septicemia and rinderpest ? *Bull. agric. Res. Inst. Pusa* 80.

Curasson G. 1932. *La peste bovine.* Paris: Vigot Frères.

Curasson G. 1947. *Le chameau et ses maladies.* Paris: Vigot frères. 462 p.

De Alwis MCL. 1992. Haemorrhagic septicemia-a general review. *Br. Vet. J.* 148:99-112

Dhillon SS. 1959. Incidence of rinderpest in camels in Hissar district. *India. Vet. J.* 36:603-607.

Diallo A, Libeau G, Couacy-Hymann E, Barbron M. 1995. Recent developments in the diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants. *Vet Microbiol.* 44(2-4):307-317. Review.

Diallo A, Taylor WP, Lefèvre PC, Provost A. 1989. Atténuation d'une souche du virus de la PPR. Candidat pour un vaccin homologue vivant. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* 42 (3):311-319.

Diallo A. 1997. Epidémiologie de la peste bovine et de la peste des petits ruminants à partir des données de biologie moléculaire. Projet de l'Union Européenne. Rapport scientifique final. Contrat n° TS3-CT93-0204

Djegham M. 1988. A propos de l'avortement chez la chamelle en Tunisie. *Maghreb Vet.* 3 (14):60.

Domingo E, Baranowski E, Ruiz-Jarabo CM, Martin-Hernandez AM, Saiz JC, Escarmis C. 1998. Quasispecies structure and persistence of RNA viruses. *Emerg Infect Dis.* 4(4):521-7.

Donatien A. 1921. El Ghedda, septicémie hémorragique des dromadaires. *Arch. Inst. Past. Afr.* 1(3):242-249.

Donchenko AS, Donchenko VN, Fatkeeva EA, Kibasov M, Zernova LA. 1975a. Destruction of tubercle bacilli in camel's milk and « shubat », a lactic acid product. *Veterinariya.* 2:24-26.

- Donchenko AS, Donchenko VN, Fatkeeva EA, Kibasov M.** 1975b. Isolation of tuberculosis mycobacteria in camel milk, their survival in « shubat » and methods of decontamination of these products. [Résumé].
- Donchenko AS, Donchenko VN, Kenzheev S.** 1975c. Effect of tuberculinisation on the blood proteins of camels and cows. Tuberculosis treatment. *Veterinaya*. 9:52-53.
- Dorchies P, Yilma JM, Savey J.** 1993. Prevalence of lung abscesses and interstitial pneumonia in ovine oestrosis. *Vet. Rec.* 133(13):325.
- Durr PA, Wilesmith JW, Clifton-Hadley RS.** 2000. Molecular Epidemiology – New Wine In Need of an Old Bottle? Proc. 9th International Symposium of the Society of Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE), August 6-11, 2000. Breckenridge, Colorado, USA
- Egwu GO, Aliyu MM.** 1997. Preliminary comparative studies on complement fixation, dot enzyme immunoassay, and western blotting for the detection of antibodies to *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* SC in Nigerian camel (*Camelus dromedarius*). *Acta Vet. Hung.* 45(2):111-118.
- El Amin MAC, Kheir SAM.** 1985. Detection of influenza antibody in animal sera from Kassala region, Sudan, by agar gel diffusion test. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.* 38(2):127-129.
- Elamin EA,** 1996. Parasites of the dromedary: a review. International Foundation of Science (IFS). Parasitology research in Africa. Proceedings of an IFS Workshop. Ed.: Gray DG et Uilenberg G. ISBN 91-85798-45-2
- El-Khouly AB, Gadir FA, Cluer DD, Manefield GW.** 1992. Aspergillosis in camels affected with a specific respiratory and enteric syndrome. *Aust. Vet. J.* 69(8):182-186.
- Elmossalami E, Siam MA, El Sergany M.** 1971. Studies on tuberculosis-like lesions in slaughtered camels. *Zbl. Vet. Med. B* 18 (4):253-261.
- FAO/WAICENT. FAOSTAT.** 2000. Statistical databases. URL: www.fao.org
- Farrag H, Zaki R, El Hindawi MR.** 1953. Pneumonia in camels. *Brit. Vet. Rec.* 59:119-122.
- Farrow JAE, Collins MD.** 1984. Taxonomic studies on streptococci of serological groups C, G and L and possibly related taxa. *System. Appl. Microbiol.* 5:483-493.
- Fassi-Fehri MM.** 1987. Les maladies des camélidés. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 6(2):315-335.
- Faye B, Meyer C, Marti A.** 1999. Le dromadaire, références bibliographiques, guide de l'élevage et médicaments. CD-Rom CIRAD, Montpellier (France).
- Faye B.** 1990. Eleveurs d'Ethiopie. Karthala. ISBN 2865372820. 194 pp.
- Faye B.** 1997. Guide de l'élevage du dromadaire. Ed. SANOFI Santé Nutrition Animale. 1^{ère} Edition.

Fayed AA. 1973. Studies on pasteurellosis in buffaloes in Egypt. DVM Thesis. Faculty of Vet. Med. Cairo.

Fedorov VN. 1960. Plague in camels and its prevention in the USSR. Bull. WHO/OMS. 23(2-3):275-281.

Ferrandière M, Cattier B, Dequin PF, Hazouard E, Legras A, Perrotin D. 1998. Septicemia and meningitis due to *Streptococcus zooepidemicus*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 17, 290-291.

Flanagan J, Collin N, Timoney J, Mitchell T, Mumford JA, Chanter N. 1998. Characterization of the haemolytic activity of *Streptococcus equi*. Microbial Pathogenesis. 24, 211-221.

Fowler ME. 1996. Husbandry and diseases of camelids. Rev. Sci. Tech. 15(1):155-169.

Francis AJ, Nimmo GR, Efstratiou A, Galanis V, Nuttall N. 1993. Investigation of milk-borne *Streptococcus zooepidemicus* infection associated with glomerulonephritis in Australia. J. Infect. 27:317-323.

Frank GH. 1989. Pasteurellosis of cattle. In: C. Adlam et J.M. Rutter (Eds) : *Pasteurella* and pasteurellosis. Academic Press, Londres. pp. 197-222.

Gargadennec L, Lalanne A. 1942. La peste des petits ruminants. Bull. Serv. Zoot. Epizoot. AOF. 5(1):16-21.

Garvie EI, Farrow JAE, Bramley AJ. 1983. *Streptococcus dysgalactiae* (Diernhofer) nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol., 1983, 33, 404-405.

Gautam OP, Gulati RL, Gera KL. 1970. Pulmonary abscess (Malli) in a camel. Ind. Vet. J. 47(4):364-365.

Gibbs EPJ, Taylor WP, Lawman MJP, Bryant J. 1979. Classification of peste des petits ruminants virus as the fourth member of the Genus Morbillivirus. Intervirology, 11:268-274.

Gonzalez CT, Maheswaran SK. 1993. The role of induced virulence factors produced by *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of bovine pneumonic pasteurellosis: review and hypotheses. Br. Vet. J. 149(2):183-93.

Haas L, Barrett T. 1996. Rinderpest and other animal morbillivirus infections: comparative aspects and recent developments. Zentralbl. Veterinarmed [B]. 43(7):411-420.

Haji CSG. 1933. Rinderpest in camels. Ind. Vet. J. 9:13-14.

Hamdy FM, Dardiri AH, Nduaka O, Breese SS Jr, Ihemelandu EC. 1976. Etiology of the stomatitis pneumoenteritis complex in Nigerian dwarf goats. Can. J. Comp. Med. 40(3):276-284.

Hannoun C, 1993. Génétique et évolution des virus. In : Virologie médicale. R. Crainic et JC Nicolas, Coordinateurs. Technique et Documentation - Lavoisier, Paris. ISBN 2-85206-909-1.

- Harder TC, Osterhaus AD. 1997.** Canine distemper virus: a morbillivirus in search of new hosts? *Trends Microbiol.* 5(3):120-4
- Hassan, AKM, Mustafa AA. 1985.** Isolation of *Pasteurella multocida* type B from an outbreak of haemorrhagic septicemia in camels in Sudan. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.* 38 (1):31-33.
- Hedger RS, Barnett IT, Gray DF. 1980.** Some virus diseases of domestic animals in the Sultanate of Oman. *Trop. Anim. Health Prod.* 12(2):107-114.
- Heller M, Anderson D, Silveira F. 1998.** Streptococcal peritonitis in a young dromadery camel. *Aust. Vet. J.* 76(4):253-254.
- Henchi B. 1994.** Le dromadaire en Tunisie. Importance actuelle et perspective d'avenir. *Rev. Méd. Vét.* 145(8-9):629-623.
- Higgins AJ. 1983.** Observations on the diseases of the Arabian camel (*Camelus dromedarius*) and their control. A review. *Vet. bull.* 53(12):1089-1097
- Higgins AJ. 1986.** The camel in health and disease. Baillière Tindall. ISBN 0-7020-1167-3
- Holland J. 1993.** Replication error, quasispecies populations, and extreme evolution rates of RNA viruses. In : *Emerging viruses*. Ed. Stephen S. Morse. ISBN : 0-19-507444-0. Oxford University Press, Inc.
- ICEID. 2000.** International Conference on Emerging Infectious Diseases. July 16-19, 2000. Atlanta, Georgia, USA. Abstracts.
- Ismail TM, Hassas HB, Nawal MA, Rakha GM, Abd El-Halim MM, Fatebia MM. 1992.** Studies on prevalence of rinderpest and peste des petits ruminants antibodies in camel sera in Egypt. *Vet. Med. J. Giza.* 10(2):49-53.
- James AD, Rossiter PB. 1989a .** An epidemiological model of rinderpest. I. Description of the model. *Trop Anim Health Prod.* 21(1):59-68
- Jones-lang K, Ernst-Larson M, Lee B, Goyal SM, Bey R. 1998.** Prevalence of influenza A virus (H1N1) antibodies in bovine sera. *Microbiologica.* 21:153-160.
- Kamel H. 1939.** Pneumococcus in camels. Technical and scientific bulletin, 226. Cairo, Ministry of Agriculture, 15.
- Keeling MJ. 1997.** Modelling the persistence of measles. *Trends Microbiol.* 5(12):513-8
- Kinne J, Cooper JE, Wernery U. 1998.** Pathological studies on camelpox lesions of the respiratory system in the United Arab Emirates (UAE). *J. Comp. Pathol.* 118(4):257-66.
- Kowalevsky MJM. 1912.** Le chameau et ses maladies d'après les observations d'auteurs russes. *J. Med. Vet. Zootechn.* 15: 462-466.
- Leese AS. 1908.** Camel tuberculosis. In : Annual report of officer investigating camel disease, India, s. l. s. n..

- Leese AS.** 1918. « Tips » on camels for veterinary surgeons on active service. Londres: Bailliere Tindall and Cox. 50p.
- Leese AS.** 1927. A treatise on the one-humped camel in health and disease. Vol II. Paris: Vigot frères.
- Lefèvre PC, Blancou J, Dedieu L, Diallo A, Libeau G, Thiaucourt F.** 1993. Field diagnostic kits: a solution for developing countries? Rev Sci Tech. 12(2):451-60.
- Lefèvre PC, Diallo A.** 1990. Peste des petits ruminants. Rev. Sci. Tech. 9(4):935-81.
- Lefèvre PC.** 1987. Peste des petits ruminants et infection bovinepestique des ovins et caprins. 2^e ed. Etudes et synthèse de l'IEMVT n°5. 99 p.
- Lefèvre PC.** 1991. Atlas des maladies infectieuses des ruminants. Maisons-Alfort: CTA/CIRAD/IEMVT. 95 p.
- Libeau G, Prehaud C, Lancelot R, Colas F, Guerre L, Bishop DH, Diallo A.** 1995. Development of a competitive ELISA for detecting antibodies to the peste des petits ruminants virus using a recombinant nucleoprotein. Res Vet Sci. 58(1):50-5.
- Libeau G.** 1998. Le diagnostic différentiel expérimental de la peste bovine et de la peste des petits ruminants. Thèse d'Université (PhD) microbiologie. Université Paris VI. 252 p.
- Liebert UG.** 1997. Measles virus infections of the central nervous system. Intervirology. 40(2-3):176-84. Revue
- Lim VK.** 1999. Emerging and re-emerging infections. Med J Malaysia. 54(2):287-91.
- Lingard A.** 1905. Report on the preparation of Rinderpest Serum, Calcutta. Abst. Bull. Inst. Pasteur. 4:235.
- Lingard, A.** 1905. Camel tuberculosis. In : Annual report of Imperial Bacteriologist. India, s. n. 1905-1906.
- Littlewood W.** 1905. Camels are not susceptible to Rinderpest. J. Comp. Path. 18:312.
- Lobanov VN.** 1959. Pathology of experimental plague in camels. Arkh. Pathol. 21(7):37-43.
- Lobanov VN.** 1967. La peste chez les chameaux. In : OMS. Séminaire inter-régional de l'O.M.S. pour la lutte contre la peste, Moscou.
- Longbottom H.** Emerging infectious diseases. Commun Dis Intell 1997 Apr 3;21(7):89-93
- Mahmoud AZ, Moustafa SI, El-Yas AH.** 1988. A study on lung affections of camels (*Camelus dromaderius*) in Assiut Governorate. Assiut Vet. Med. J. 20(40):93.
- Majok AA, Schwabe CW.** 1996. Development among Africa's migratory pastoralists. Bergin & Garvey, USA. ISBN 0-89789-477-4
- Mason FA.** 1912. Some observations on tuberculosis in camels in Egypt. J. comp. Path. Ther. 25(1):109-111.
- Mason FA.** 1917a. Tuberculosis in camels. Agric. J. Egypt. 7:2-11.

- Mason FA.** 1917b. Tuberculosis in camels. *J. comp. Path. Ther.* 30(1):80-84.
- Mason FA.** 1918. Tuberculosis in the camel. *J. comp. Path. Ther.* 31(2):100-102.
- Mason FA.** 1919. Pseudo-actinomycosis or Streptotrichosis in the camel. *J. Comp. Path. Ther.* 32(1):34-42.
- Maurice Y, Bares JF, Baille.** 1967. Enquête sérologique sur les rickettsioses chez le dromadaire au Tchad. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.* 20(4):543-550.
- Maurice Y, Provost A, Borredon C.** 1967. Présence d'anticorps antibovipestiques chez le dromadaire au Tchad. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.* 20 (4):537-542.
- Maurice Y, Queval R, Bares JF.** 1968. Enquête sur l'infection à virus para influenza 3 chez le dromadaire tchadien. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.* 21 (4):443-449.
- McGrane JJ, Higgins AJ.** 1985. Infectious diseases of the camel: viruses, bacteria and fungi. *Br Vet J.* 141(5):529-47.
- McQuaid S, Cosby SL, Koffi K, Honde M, Kirk J, Lucas SB.** 1998. Distribution of measles virus in the central nervous system of HIV-seropositive children. *Acta Neuropathol. (Berl).* 96(6):637-642.
- MERCK.** 1998. The Merck Veterinary Manual. 8th Edition. ISBN 0-911910-29-8.
- Mims C, Dimmock N, Nash A, Stephen J.** 1995. Mims' pathogenesis of infectious diseases. 4th Edition. Academic Press Limited. UK. ISBN 0-12-498263-8
- Moallin ASM, Zessin KH.** 1990. Note on diseases of the dromedaries at Beletweyne abattoir of Central Somalia. *Camel Newsletter.* 7 (12):69.
- Momin RR, Petkar DK, Jaiswal TN, Jhala VM.** 1987. An outbreak of pasteurellosis in camels. *Indian vet. J.* 64 (10):896-897.
- Morse SS.** 1993. Emerging viruses. Oxford University Press, Inc. ISBN 0-19-507444-0
- Moussa AA, Daoud A, Omar A, Metwally N, El-Nimr M, McVicar JW.** 1987. Isolation of Foot and Mouth disease virus from camels with ulcerative disease syndromes. *J. Egypt Vet. Med. Ass.* 47 (1-2): 219-229.
- Murray PK, Darsley MJ, Kinuthia SW, Jackson F.** 1989. Immunodepressant effect of Rinderpest virus. Third report. AFRC institute for Animal Health . Pirbright Laboratory.
- Musa MT, Harrison M, Ibrahim AM, Taha TO.** 1989. Observations on Sudanese camel nasal myiasis caused by the larvae of *Cephalopina titillator*. *Rev. Elev. Med Vét. Pays trop.* 42(1):27-31.
- Mustaffa IE.** 1987. Bacterial diseases of dromedaries and bactrian camels. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.* 6(2):391-405
- Mutters R, Ihm P, Pohl S, Frederiksen W, Mannheim W.** 1985. Reclassification of the genus *Pasteurella* Trevisan 1887 on the basis of deoxyribonucleic acid homology, with

- proposals for the new species *Pasteurella dagmatis*, *Pasteurella canis*, *Pasteurella stomatis*, *Pasteurella anatis*, and *Pasteurella langaa*. Int. J. Syst. Bacteriol. 35: 309-322.
- Mutters R, Mannheim W, Bisgaard M.** 1989. Taxonomy of the group. In : C. Adlam et J.M. Rutter (Eds) : *Pasteurella* and pasteurellosis. Academic Press, Londres. 3-34.
- Newton JR, Wood JL, Dunn KA, DeBrauwere MN, Chanter N.** 1997. Naturally occurring persistent and asymptomatic infection of the guttural pouches of horses with *Streptococcus equi*. Vet Rec. 25;140(4):84-90
- Nguyen VK, Bourges N, Concordet D, Dorchies P.** 1996. Mastocytes et éosinophiles de la muqueuse respiratoire d'ovins infestés par *Oestrus ovis* (Linne, 1761) [Mast cells and eosinophils of the respiratory mucosa of sheep with *Oestrus ovis* infection]. Parasite. 3(3):217-221.
- OIE.** 1996. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. 3rd Ed. ISBN 92-9044-423-1.
- OIE.** 2000. URL: www.oie.int
- Oikawa M, Kamada M, Yoshikawa Y, Yoshikawa T.** 1994. Pathology of equine pneumonia associated with transport and isolation of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. J. Comp. Pathol. 111, 205-212.
- Oinakhbaev S.** 1965. Aetiology of contagious cough in camels. Veterinariya, Moscow 42(6):105-106. [Résumé in: The Veterinary Bulletin, 1966. 36(6):380.]
- Okada H, Kobune F, Sato TA, Kohama T, Takeuchi Y, Abe T, Takayama N, Tsuchiya T, Tashiro M.** 2000. Extensive lymphopenia due to apoptosis of uninfected lymphocytes in acute measles patients. Arch. Virol. 145(5):905-20.
- Olaleye OD, Baba SS, Omolabu SA.** 1989. Preliminary survey for antibodies against respiratory viruses among slaughter camel (*Camelus dromedarius*) in north-eastern Nigeria. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot. 8(3):779-783.
- Osterhaus A.** 2000. Circulation des virus et contaminations interespèces chez les animaux sauvages. Bull Soc Pathol Exot. 93(3):156.
- Ouma JO, Olaho-Mukani W, Wishitemi BE, Guya SO.** 1997. Changes in classical pathway complement activity in dromedary camels experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. Vet. Immunol. Immunopathol. 57(1-2):135-40.
- Pal M, Chandel BS.** 1989. Streptococcal pneumonia in camel (*Camelus dromaderius*). Indian Vet. Med. J. 13:277-278.
- Paling RW, Macowan KJ, Karstad L.** 1978. The prevalence of antibody of antibody to contagious caprine pleuropneumonia (*Mycoplasma* strain F38) in some wild herbivores and camels in Kenya. J. Wildl. Dis. 14(3):305-308.
- Pastoret PP, Griebel P, Bazin H, Govaerts A.** 1998. Immunology of Camels and Llamas:421-443. In : Handbook of Vertebrate immunology. ISBN 0-12-546401-0. Academic Press Limited. 673 p.

Pecaud G. 1924. Contribution à l'étude de la pathologie vétérinaire de la colonie du Tchad. Bull. Soc. Path. Exot. 17(3):196-207.

Pegram RG, Tereke F. 1981. Observation on the health of Afar livestock. Ethiopian Vet. J. 5:11-14.

Perreau P, Maurice Y. 1968. Epizootiologie de la pasteurellose des chameaux au Tchad. Enquête sérologique. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop. 21(4):451-454.

Pritchard, WR. 1988. Veterinary education in Africa: past, present and future. Journal of Veterinary Medical Education 15:13-6

Provost A, Maurice Y, Borredon C. 1968. Note sur la peste bovine expérimentale du dromadaire. Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop. 21(3):293-296.

Rana MZ, Ahmed A, Sindhu STAK, Mohammad G. 1993. Bacteriology of camel lungs. Camel Newsletter. 10:30-32.

Rebhun WC, Jenkins DH, Riis RC, Dill StG, Dubovi EJ, Torres A. 1988. An epizootic of blindness and encephalitis associated with a herpes virus indistinguishable from equine herpes virus I in a herd of alpacas and llamas. JAVMA. 192 (4):953-956.

Refai M. 1992. Bacterial and mycotic diseases of camels in Egypt in : Proc. 1st int. Camel Conf.:59-64.

Reingold AL. 1998 Outbreak investigations: a perspective. Emerg Infect Dis. 4(1):21-7.

Relman DA. 1997 Emerging infections and newly-recognised pathogens. Neth J Med. 50(5):216-20.

Revillard JP. 1994. Immunologie. De Boeck-Wesmael SA, Bruxelles. ISBN 2-8041-1919-X

Richard D, Hoste C, Peyre de Fabrègues B. 1985. Le dromadaire et son élevage. CIRAD-Montpellier: IEMVT, Collection « Etudes et Synthèses ». 162 p.

Richard D. 1975. Etude de la pathologie du dromadaire dans la sous-province du Borana (Ethiopie). Th. Vét. ENV Maisons-Alfort, Créteil, France. N°75. 181 pp.

Richard D. 1989. L'haemonchose du dromadaire. Revue Elev. Med. Vét. Pays trop. 42(1) : 45-53

Roeder PL, Abraham G, Kenfe G, Barrett T. 1994. Peste des petits ruminants in Ethiopian goats. Trop. Anim. Health Prod. 26:69-73.

Rosadio RH, Rivera H, Manchego A. 1993. Prevalence of neutralising antibodies to bovine herpesvirus-1 in Peruvian livestock. Vet. Rec. 20:85-93.

Rossiter P. 1994. Rinderpest. In disease of Livestock with special reference to southern Africa. Oxford: JAW Coetzer, GR Thomson, RC Tutsin, , Oxford University Press :735-757.

Rossiter PB, James AD. 1989b. An epidemiological model of rinderpest. II. Simulations of the behaviour of rinderpest virus in populations. Trop Anim Health Prod. 21(1):69-84.

- Saint Martin G.** 1990. Bibliographie sur le dromadaire et le chameau. 2 tomes. CIRAD–Montpellier: CIRAD-EMVT, Collection « Etudes et Synthèses » de l’IEMVT. 824 pp.
- Sajjad-ur-Rahman, Ashfaq M, Zia-ur-Rahman, Hur G.** 1994. *Pasteurella multocida* Robert type-1 antibodies in camels. Pakistan Vet. J. 14(4):197-199.
- Samartsev AA, Arbuzov PN.** 1940. The susceptibility of camels to glanders, rinderpest and bovine contagious pleuropneumonia. Veterinariya Moscow. 4:59-63. (Résumé in: Vet. Bull., 1945. 2391).
- Schillinger D.** 1987. Kamel (*Camelus dromedarius*) Seminar Sonderdruck Vet. Labhard Verlag Konstanz. 9:50-53.
- Schmatz HD, Krauss H, Viertel P, Abdel Shakour Ismail, Abdul Assiz Hussein.** 1978. Seroepidemiologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen Rickettsien und Chlamydien bei Hauswiederkäuern in Ägypten, Somalia und Jordanien. Acta Tropica. 35:101-111.
- Schneider-Schaulies S, ter Meulen V.** 1999. Pathogenic aspects of measles virus infections. Arch. Virol. Suppl. Review. 15:139-58.
- Scholtissek C.** 1995. Potential hazards associated with influenza virus vaccines. Dev. Biol. Stand. 84:55-58.
- Schwartz HJ, Dioli M.** 1992. The one humped camel in Eastern Africa. A pictorial guide to diseases, health care and management. Ed. Verlag Josef Margraf.
- Scott GR, MacDonald J.** 1962. Kenya camels and Rinderpest. Bull. Epizoot. Dis. Afr. 10 (4):495-497.
- Scott GR.** 1981. Rinderpest and peste des petits ruminants. In : Gibbs EPJ Ed. Virus diseases of food animals. A world geography of epidemiology and control. Vol II. Disease monographs. London, Academic Press. pp 401-432.
- Seifert HSH.** 1992. Tropentierhygiene. Gustav Fisher Verlag Jena, Stuttgart.
- Semushkin NR.** 1968. Diagnosis of camel diseases. Sel’khozgiz, Moscow.
- Shah MA, Khan GS.** 1935- 1936. Pneumonia in camels. Ind. Vet. J. 12:206-220.
- Shaila MS, Shamaki D, Forsyth MA, Diallo A, Goatley L, Kitching RP, Barret T.** 1996. Geographic distribution and epidemiology of peste des petits ruminants virus. Virus Res. 43(2):149-153
- Sharp MW, Prince MJ.** 1995. *S. zooepidemicus* infection and bovine mastitis. Vet. Rec. 137:128.
- Shewen PE, Rice Conlon JA.** 1993. Pasteurella. In: C.L. Gyles et C.O. Thoen (Eds): Pathogenesis of bacterial infections in animals. Iowa State University Press, Ames, 2nd edition. Pp. 216-225.

- Shigidi MTA.** 1973. Aerobic microflora of respiratory tract of camels. Sudan J. Vet. Sci. and Anim. Husb. 14 (1):9-14.
- Sileghem M, Darji A, Hamers R, Van de Winckel M, De Baetselier P.** 1989. Dual role of macrophages in the suppression of interleukin-2 production and interleukin-2 receptor expression in Trypanosoma-infected mice. Eur. J. Immunol. 19:829-835.
- Sileghem M, Flynn L.** 1992. Suppression of interleukin-2 secretion and interleukin-2 receptor expression during tsetse-transmitted trypanosomiasis in cattle. Eur. J. Immunol. 22:767-773.
- Singh KV, Ata F.** 1967. Experimental Rinderpest in camels. A preliminary report. Bull. Epizoot. Dis. Afr. 15:19-23.
- Somac-Sarec.** 1982. Camel research project report by a Somali/Swedish Mission:10-26, 18-23. (Rapporté par Wernery and Kaaden, 1995).
- Sotnikov MI.** 1973. Camel plague. In: Orlov, F.M. Maloizvestnye zarazny boleni zivotnykh, Izdatel'stvo Klos:213-222 [Résumé dans Vet. Bull. 1974. 44: 937.].
- Srinivasan V.** 1940. Active immunisation of camels against Rinderpest with goat blood virus. Ind. Vet. J. 16:259-260.
- Stanley ML.** 1990. Prevalence of bluetongue precipitating antibodies in domesticated animals in Yemen Arab Republic. Trop. Anim. Health Prod. 22:273-274.
- Storz J, Lin X, Purdy CW, Chouljenko VN, Kousoulas KG, Enright FM, Gilmore WC, Briggs RE, Loan RW.** 2000a. Coronavirus and *pasteurella* infections in bovine shipping fever pneumonia and Evans' criteria for causation. J. Clin. Microbiol. 38(9):3291-3298.
- Storz J, Purdy CW, Lin X, Burrell M, Truax RE, Briggs RE, Frank GH, Loan RW.** 2000b. Isolation of respiratory bovine coronavirus, other cytocidal viruses, and *Pasteurella* spp from cattle involved in two natural outbreaks of shipping fever. J. Am. Vet. Med. Assoc. 216(10):1599-1604.
- Studdert MJ.** 1971. Equine herpesviruse 4. Concurrent infection in horses with strangles and conjunctivitis. Aust. Vet. J. 47(9):434-436.
- Sustronck B.** 1997. Evolution des vaccins à Pasteurella dans la prévention des maladies respiratoires de bovins. In: Troubles respiratoires des bovins, société Française de Buiatrie, Paris 26 et 27 novembre 1997, 300-303.
- Sweeny RC, Benson CE, Whitlock RH, Meirs D, Barningham S, Whitehead S.** 1987a. *Streptococcus equi* infection in horses. Part I. Comp. Cont. Educ. Vet. Pract. 9:689-693.
- Sweeny RC, Benson CE, Whitlock RH, Meirs D, Barningham S, Whitehead S.** 1987b. *Streptococcus equi* infection in horses. Part II. Comp. Cont. Educ. Vet. Pract. :845-851.
- Tacher G, Letenneur L.** 1999. Le secteur des productions animales en Afrique subsaharienne, des indépendances à 2020. I. Place de l'Afrique subsaharienne dans les échanges mondiaux et évolution du secteur élevage. Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop. 52(3-4):279-290.

- Taylor WP.** 1968. The susceptibility of the one humped camel (*Camelus dromedarius*) to infection with rinderpest virus. *Bull. Epizoot. Dis. Afr.* 16(4):405-410.
- Taylor WP.** 1979. Protection of goats against peste des petits ruminants with attenuated rinderpest virus. *Res. vet. Sci.* 27(3):321-324.
- Thabet AelR.** 1994. Some microbial studies of lung of clinically healthy and respiratory infected camels (*Camelus dromedarius*). *Assiut Vet. Med. J.* 30(59):188-195
- Thedford TR, Johnson LW.** 1989. Infectious diseases of New-World camelids (NWC). *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 5(1):145-157.
- Tille A, Lefevre C, Pastoret PP, Thiry E.** 1991. A mathematical model of rinderpest infection in cattle populations. *Epidemiol Infect.* 107(2):441-52.
- Timoney JF.** 1993. Strangles. *Vet. Clin. North Amer. : Equine Pract.* 9:365-374.
- Tounkara K, Traore A, Traore AP, Sidibe S, Samake K, Diallo BO, Diallo A.** 1996. Epidémiologie de la peste bovine au Mali : enquêtes sérologiques. *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 49(4):273-7.
- Tschegis.** 1902. Cité par Curasson (1947).
- Ugochukwu EI, Agwu CO.** 1991. Aerobic bacteria from nasal discharge of goats suffering from clinical PPR: isolation and identification. *Microbios.* 65(263):81-5.
- Vedernikoff V.** 1902. Cited from Curasson (1947).
- Viatteau E, Nguyen VK, Jacquiet P, Dorchies P.** 1999. Mastocytes et éosinophiles des muqueuses rhino-pharyngiennes du dromadaire infesté par *Cephalopina titillator* (Clark 1816); *Rev. Med. Vét.* 50(4):353-356.
- Vitovec J, Vladik P.** 1983. Bronchial disease of camels in Somalia. *Bull. Anim. Health. Prod. Afr.* 31 (3):291-294.
- Wang LF, Yu M, Hansson E, Pritchard LI, Shiell B, Michalski WP, Eaton BT.** 2000. The Exceptionally Large Genome of Hendra Virus: Support for Creation of a New Genus within the Family Paramyxoviridae. *J. Virol.* 1.74(21):9972-9979.
- Webster RG.** 1998. Influenza: an emerging disease. *Emerg Infect Dis.*4(3):436-41.
- Wernery U, Kaaden OR.** 1995. Infectious diseases of camelids. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, Allemagne. ISBN 3-8263-3056-0. 138 p.
- Wernery U, Wernery R.** (1990) : Seroepidemiologische untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen Brucellen, Chlamydien, Leptospiren, BVD/MD, IBR/IPV und Enzootischen Bovinen Leukosevirus (EBL) bei Dromedarstuten (*Camelus dromedarius*). *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 97:134-135.
- Whiteley LO, Maheswaran SK, Weiss DJ, Ames TR, Kannan MS.** 1992. *Pasteurella haemolytica* A1 and bovine respiratory disease: pathogenesis. *Review. J. Vet. Intern. Med.* 6(1):11-22.

Whitney JC, Scott GR, Hill DH. 1967. Preliminary observation on a stomatitis and enteritis of goats in Southern Nigeria. *Bull. Epizoot. Dis. Afr.* 15:31-41.

Wild TF. 1997. Les infections au virus de la rougeole. In "Immunité et Infection". Paris: JL Mège, JP Revillard et D Raoult Eds. Arnette Blackwell. pp. 253-263.

Wilkins CA. 1994. Strangles. In disease of Livestock with special reference to southern Africa. Vol. 2. Eds JAW Coetzer, GR Thomson, RC Tutsin, Oxford, Oxford University Press. p 1248.

Wilson RT. 1984. The camel. Londres: Ed. Longman. 223 p.

Yagil R. 1994. The camel in today's World. A Handbook on camel Management. Deutsche Welthungerhilfe German Agro-Action. Ed. German-Israel Fund Research & International Development and the Deutsche Welthungerhilfe.

Yamanouchi K. 1980. Comparative aspects of pathogenicity of measles, canine distemper, and rinderpest viruses. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 33(2):41-66.

Yamnikova SS, Mandler J, Bekh-Ochir ZH, Dachtzeren P, Ludwig S, Lvov DK, Scholtissek C. 1993. A reassortant H1N1 influenza A virus caused fatal epizootic among camels in Mongolia. *Virology.* 197(2):558-63.

Annexes

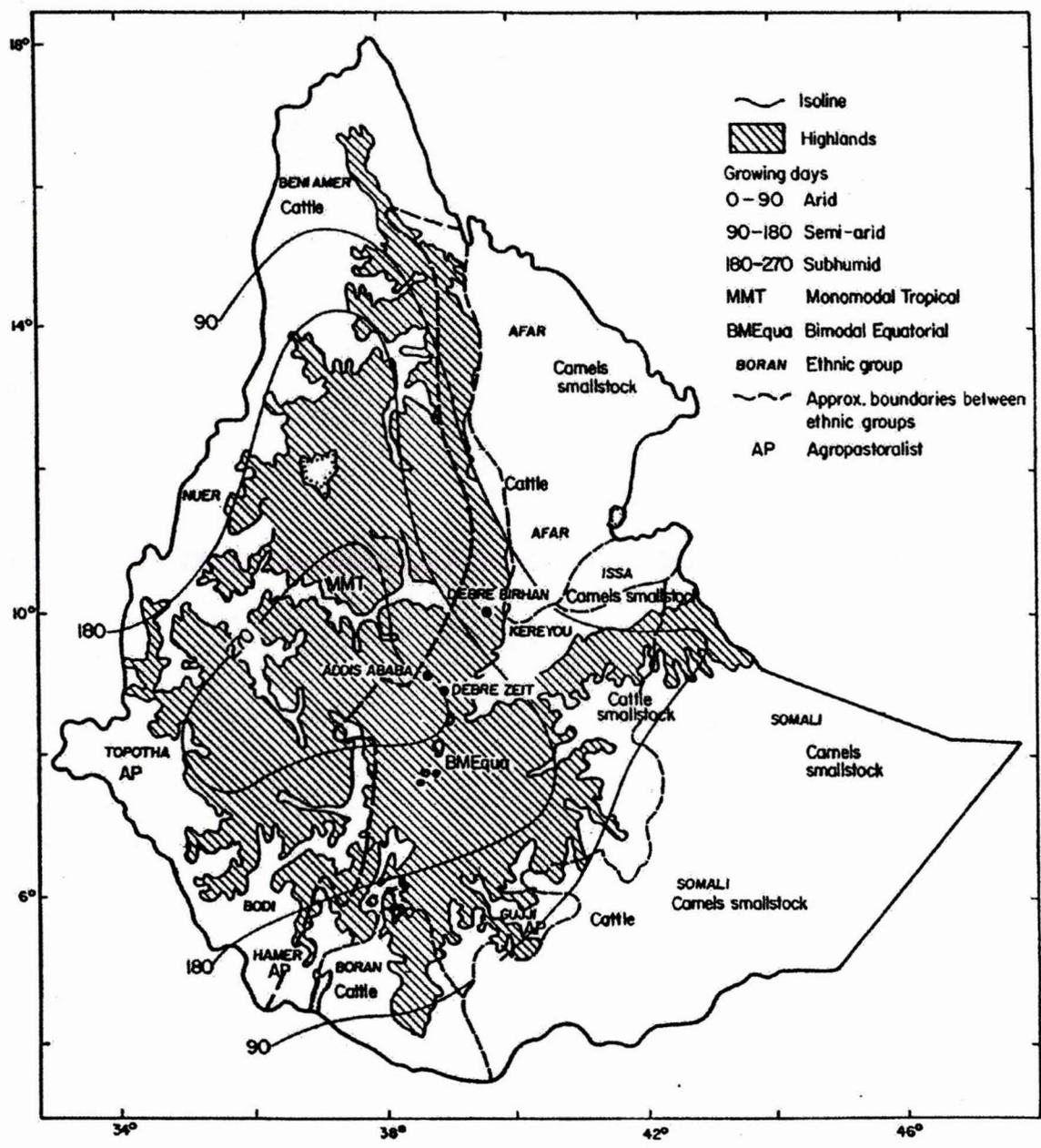
Annexe I: Situation géographique de l'Ethiopie au sein de la Corne de l'Afrique et de l'Afrique de l'Est



Base 802399A (R02760) 12-99

Annexe II : zones d'élevage du dromadaire en Ethiopie (d'après M. CORA, ILRI, 1989)

Les groupes ethniques éleveurs de dromadaires sont à l'est du pays, au niveau des basses-terres : Afar, Kereyou (Oromo), Issa, Somali et Boran.



Annexe III : liste des communications (congrès, symposiums) des résultats préliminaires

Les observations et résultats préliminaires ont été présentés lors de quatre réunions scientifiques de 1998 à 2000 (le nom de l'auteur qui présenté les résultats est souligné) et sont acceptés pour être publiés dans "Journal of Camel Practices and Research" :

1. Third Annual Meeting For Animal Production Under Arid Conditions. Camel Production and Future Perspectives - 2-3 mai 1998. Al Aïn, AEU.

François Roger, Laike Mariam Yigezu, Corinne Hurard, Geneviève Libeau, Guebre Yesus Mebratu, Adama Diallo, Bernard Faye. Preliminary investigations. Oral presentation. *Accepté (1998) pour publication dans "Journal of Camel Practices and Research". Publication prévue pour décembre 2000 (cf. annexe IV)*

2. 9th International Conference of the Association of Institutions of Tropical Medicine (AITVM). September 14-18, 1998. Harare, Zimbabwe.

François Roger, Laike Mariam Yigezu, Corinne Hurard, Geneviève Libeau, Guebre Yesus Mebratu, Adama Diallo, Joseph Domenech. Preliminary results. Oral presentation.

3. International Conference on Emerging Infectious Diseases (ICEID 2000). July 16-19, 2000. Atlanta, Georgia, USA.

François Roger, Geneviève Libeau, Leonardo A. Sechi, Colette Grillet, Laike Mariam Yigezu, Adama Diallo. Investigations on a new epizootic described on Camels (*Camelus dromedarius*) in Ethiopia. Poster. Abstract in the proceedings

4. IXth International Symposium of Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE 2000). August 6-11, 2000. Breckenridge, Colorado, USA

François Roger, Geneviève Libeau, Laike Mariam Yigezu, Colette Grillet, Leonardo A. Sechi, Guebre Yesus Mebratu, Adama Diallo. Investigations on a new pathology of camels (*Camelus dromedarius*) in Ethiopia. Oral presentation. Abstract in the proceedings.

**Preliminary investigations on a new pathology of camels (*Camelus dromedarius*)
observed in Ethiopia (1995-1996)**

François ROGER (1*), Adama DIALLO (1), Laike Mariam YIGEZU (2),
Corinne HURARD (1), Geneviève LIBEAU (1),
Guebre Yesus MEBRATU (2), Bernard FAYE (1)

(1) CIRAD-EMVT, Campus International de Baillarguet, TA 30/G, 34398 Montpellier
Cedex 5, France

(2) National Veterinary Institute, PO Box 19, Debre-Zeit, Ethiopia

* Corresponding author: francois.roger@cirad.fr

A new epizootic disease substantially affected the camel population in Ethiopia from May 1995 until September 1996. It was an acute febrile infection characterized by a respiratory syndrome, highly contagious, with elevated morbidity and low mortality rates, particularly following antibiotic treatment.

Over a period of 12 months, the disease was registered in most camel rearing areas of the country ([map 1](#): Camel's rearing areas in Ethiopia (gray shade) and geographical occurrence of the disease). The morbidity rate reported was over 90 %, the mortality rate varied from 5 to 70% and differed according to the areas and to the use of antibiotic treatment.

We have communicated informally with Veterinary personnel in Djibouti who informed us about a similar camel disease incidence in their country and even in the neighboring Somalia. Outbreaks were reported in Eritrea in 1995. A similar pathology (locally named "trekking fever") had been noted in 1994 in the Kassala region of Sudan.

Following a sudden onset, the major symptoms were sero-muco-purulent nasal discharge, lacrimation, productive coughing, dyspnea and abdominal breathing, with elevated body temperature (41-42°C). Swelling of sub-mandibular area and diarrhea were also recorded in some cases. One or two weeks after the appearance of the initial symptoms, animals get depressed, lie down and are incapable of moving. All ages and sex groups were affected. Neurological signs (paralysis) were observed in certain herds that had previously manifested respiratory syndrome.

The high prevalence of the peste des petits ruminants (PPR) in small ruminants in the epidemic area, as well as the appearance of similar symptoms with a rinderpest-like disease, its remarkably rapid spread and its pathology, have prompted us to search for a viral disease and specifically for morbillivirus as the primary etiologic agent. Moreover, it is perhaps also noteworthy that the last outbreak of rinderpest (RP) in Ethiopia was declared in late 1994 in the Afar region.

³² *The Journal of Camel Practice and Research. An International Journal indexed by the products of CAB, U.K. & ISI, Philadelphia. Editor : Dr. T.K. Gahlot, Dept Vet Surgery & Radiology. College of Vet & Animal Science. BIKANER 334001 India. Published by Camel Publishing House, 67, Gandhi Nagar West, Near Lalgarh Palace. BIKANER 334001 India.*

Clinical samples (lungs, lymph nodes, liver, spleen, thoracic fluid, nasal and eye swabs) were collected from the Afar region and serum samples from different regions.

ELISA Antigen test for the PPR virus (PPRV) and the RP virus (RPV), (Libeau *et al.*, 1994), was completed in Ethiopia and afterwards in CIRAD-EMVT, France. A reverse transcriptase - polymerase chain reaction (RT-PCR), utilizing universal primers for morbillivirus group and then specifically for PPRV and RPV, was also carried out (Couacy-Hymann *et al.*, In Press). A competitive-ELISA antibody test for PPR (Libeau *et al.*, 1995) was applied on serum samples from different regions.

In addition, bacteriological works were carried out using different culture media.

Virological results: PPRV antigen by ELISA test (Roger, 1997), PPRV genome by RT-PCR (Diallo, 1996) and PPR antibodies (Roger *et al.*, In Press) have been detected. RT-PCR confirms the presence of two morbillivirus strains (ETHIOPIA 96 CAMEL 1 and ETHIOPIA 96 CAMEL 2) closely related to the PPR virus. By comparison with the other available Ethiopian strains isolated in goats and sheep, these two camel strains belong to two genetic groups (figure 1: phylogenetic tree of the Ethiopian PPRV isolates (Np protein sequence)) which are identified as group II (for ETHIOPIA 96 CAMEL 1) and group III (for ETHIOPIA 96 CAMEL 2) by Diallo (1996).

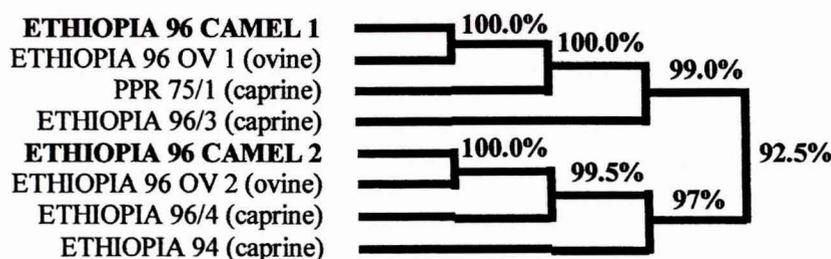


Figure 1 : Phylogenetic tree (N protein sequence) of the Ethiopian PPRV isolated on dromedaries, sheep and goats. The sequencing was carried out on the fragment amplified by PCR using universal primers for the Morbillivirus genus. The comparison was done with the reference strain PPR 75/1. PPR 75/1 belongs to the PPR genetic group II and 'Ethiopia 94' to the group III (Diallo, 1996).

Bacteriological results: a *Streptococcus equi* subsp. *equi* was isolated from a few camels (Yigezu *et al.*, 1997) and characterized (Sechi *et al.*, 1999). It was apparently the first isolation of the equine strangles agent from a camel. No *Pasteurella* spp. was isolated.

The susceptibility of the camel (*Camelus dromedarius*) to the PPR disease is not documented. Nonetheless, we may assume that the outbreak could have been initiated by a morbillivirus closely related to the PPR virus. The symptoms which were observed during that outbreak were milder than those of classical PPR in sheep and goats. This might be due either to the involvement of a mild strain or to the fact that camels are less sensitive to the PPR virus than small ruminants. Even in goat species, which are known to be very sensitive to PPR, there is a variation in the susceptibility according to the breed (Lefèvre, 1987).

The virus might have an immunosuppressor effect, like the other morbillivirus (Yamanouchi, 1980), which favored the pathogenicity of secondary bacterial infections already treated by antibiotics.

The exact role of the *Streptococcus equi* subsp. *equi* has yet to be determined.

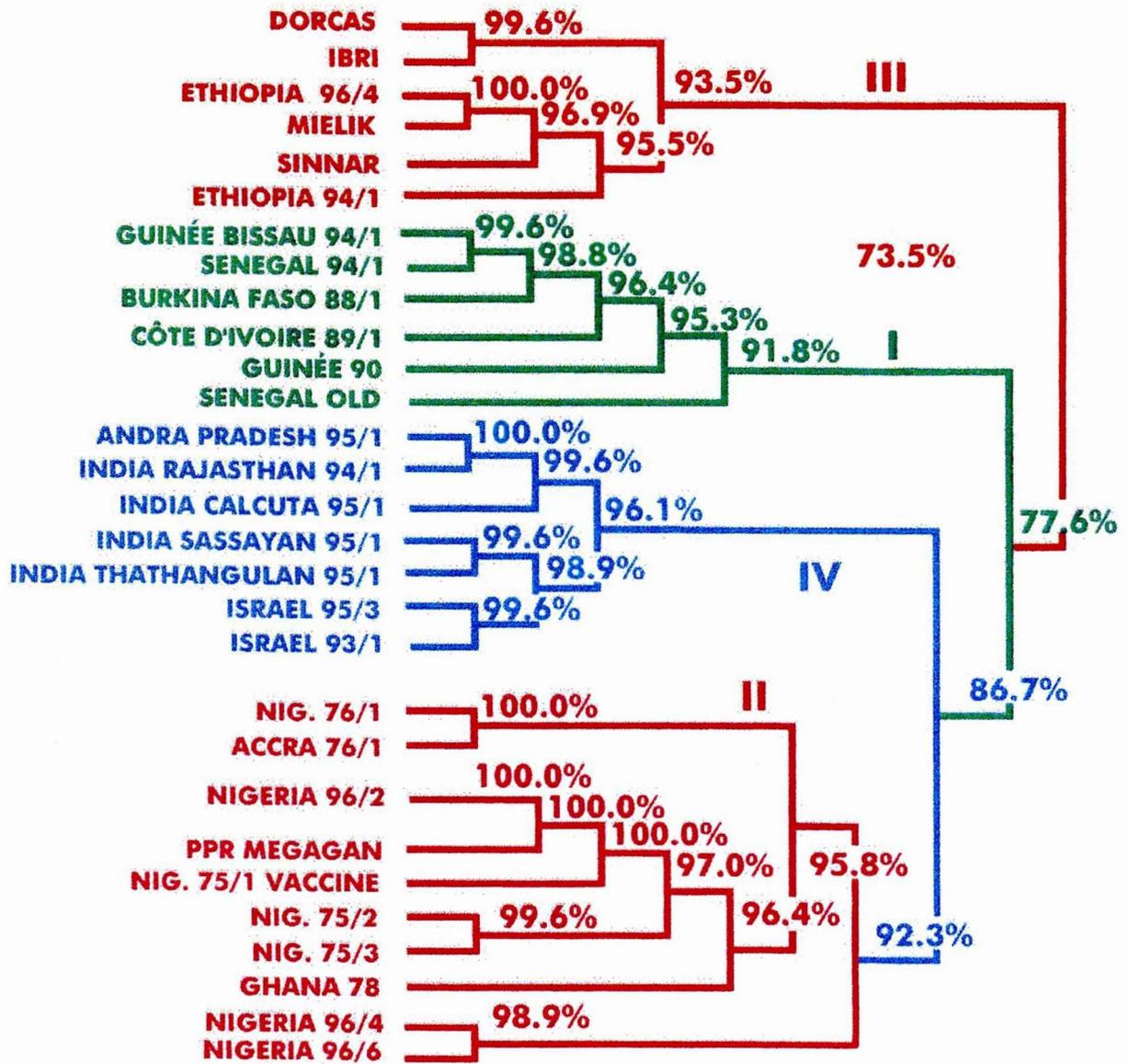
The economical importance of camel production in the Horn of Africa is very high. More than 60% of the world camel population is present in Somalia, Sudan, Ethiopia, Kenya and Djibouti. In Somalia, the camel export is the most important livestock incomes for the people.

Surveillance of this pathology and more accurate epidemiological and microbiological investigations are required.

References:

1. Couacy-Hymann E, Roger F, Hurard C, Guillou JP, Libeau G, Diallo A. Rapid and sensitive detection of peste des petits ruminants virus by a polymerase chain reaction assay. *J Virol Methods*. In press.
2. Diallo A. Projet "épidémiologie de la peste bovine et de la peste des petits ruminants à partir de données de biologie moléculaire". 1996. Rapport scientifique, contrat EU n° TS3-CT93-0204. 34 pp.
3. Lefèvre PC. 1987. Peste des petits ruminants et infection bovine des ovins et caprins. Etudes et synthèses de l'Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays tropicaux, 2^{ème} édition. 99 pp.
4. Libeau G, Diallo A, Colas F, Guerre L. 1994. Rapid differential diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants infections using an immunocapture ELISA. *Vet. Rec.* 134, 300-304
5. Libeau G, Prehaud C, Lancelot R, Colas F, Guerre L, Bishop DHL, Diallo A. 1995. Development of a competitive ELISA for detecting antibodies to the peste des petits ruminants virus using a recombinant nucleoprotein. *Res. Vet. Sci.* 58, 50-55.
6. Roger F, Mebratu GY, Libeau G, Diallo A, Yigezu LM, Yilma T. 2000. Detection of antibodies of rinderpest and peste des petits ruminants viruses (*Paramyxoviridae*, *Morbillivirus*) during a new epizootic disease in Ethiopian camels (*Camelus dromedarius*). In press.
7. Roger F. 1997. French Veterinary Project in Ethiopia. Statement 1997. Report CIRAD-EMVT N°97041.
8. Sechi LA, Roger F, Diallo A, Yigezu LM, Zanetti S. Molecular characterization of *Streptococcus equi* subspecies *equi* isolated from an Ethiopian camel by ribotyping and PCR-ribotyping. *Microbiol.* 1999; 22 (4): 383-7.
9. Yamanouchi K. 1980. Comparative aspects of pathogenicity of measles, canine distemper, and rinderpest viruses. *Japan J. Med. Sci. Biol.*, 33. 41-66.
10. Yigezu LM, Roger F, Kiredjian M, Tariku S. Isolation of *Streptococcus equi* subspecies *equi* (strangles agent) from an Ethiopian camel. *Vet Record* 1997 ; 140: 608.

Annexe V : Arbre phylogénétique des souches de PPRV (Np) et de la classification en quatre groupes. (DIALLO, 1997).



Annexe VI : classification des sous-espèces de *Streptococcus equi*

Référence : List of Bacterial names with Standing in Nomenclature.
URL:www.bacterio.cict.fr.

Streptococcus equi Sand and Jensen 1888, species. — Type strain: strain NCTC 9682. — Reference: SKERMAN (V.B.D.), MCGOWAN (V.) and SNEATH (P.H.A.) (editors): Approved lists of bacterial names. Int. J. Syst. Bacteriol., 1980, 30, 225-420.

Note: Subsequently, this species has been divided into subspecies (see: below).

Streptococcus equi subsp. *equi* Sand and Jensen 1888, subsp. nov. — Type strain: strain NCTC 9682. — Reference: HOWEY (R.T.), LOCK (C.M.), and MOORE (L.V.H.): Subspecies names automatically created by Rule 46. Int. J. Syst. Bacteriol., 1990, 40, 317-319.

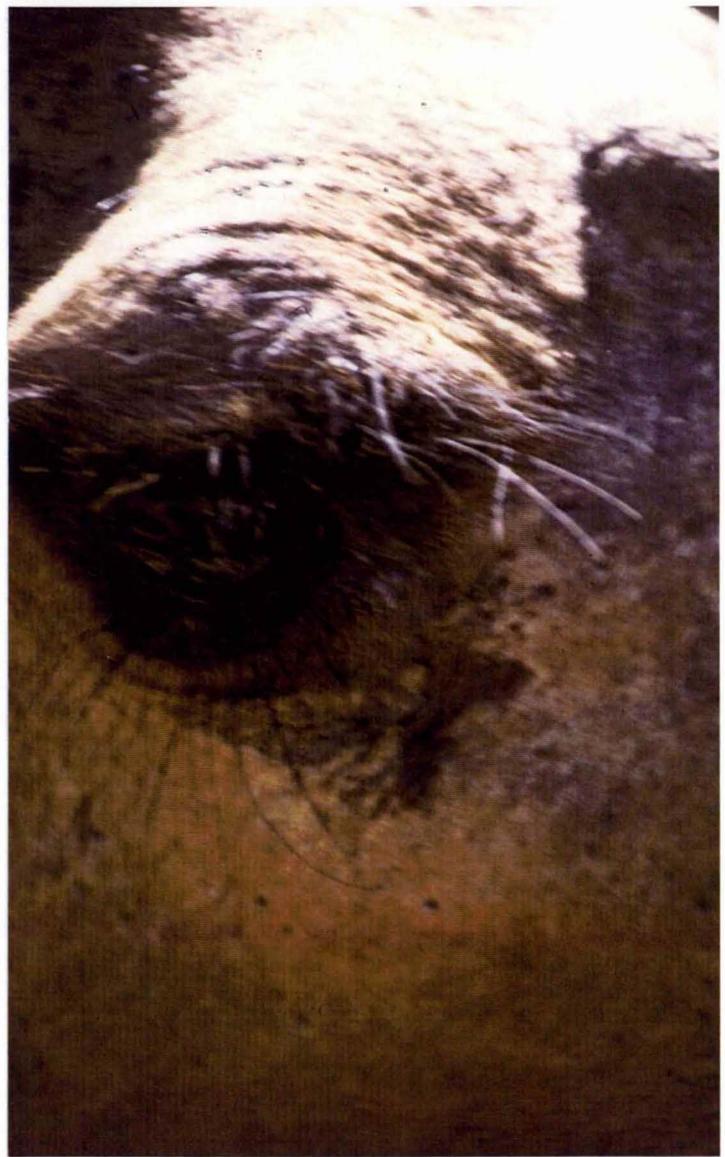
Note: The subspecies name *Streptococcus equi* subsp. *equi* Sand and Jensen 1888 is automatically created by the valid publication of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (ex Frost and Englebrecht 1940) Farrow and Collins 1985 (Rule 46).

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* (ex Frost and Englebrecht 1936) Farrow and Collins 1985, subsp. nov., nom. rev., comb. nov. — Type strain: strain NCDO 1358. — Synonyms: "*Animal pyogenes*, type A" Edwards 1934, "*Streptococcus zooepidemicus*" Frost and Englebrecht 1936, "*Streptococcus pyogenes animalis*" Seelemann 1942. — References: VALIDATION LIST N° 17. Int. J. Syst. Bacteriol., 1985, 35, 223-225. FARROW (J.A.E.) and COLLINS (M.D.): Taxonomic studies on streptococci of serological groups C, G and L and possibly related taxa. Syst. Appl. Microbiol., 1985, 5, 483-493.

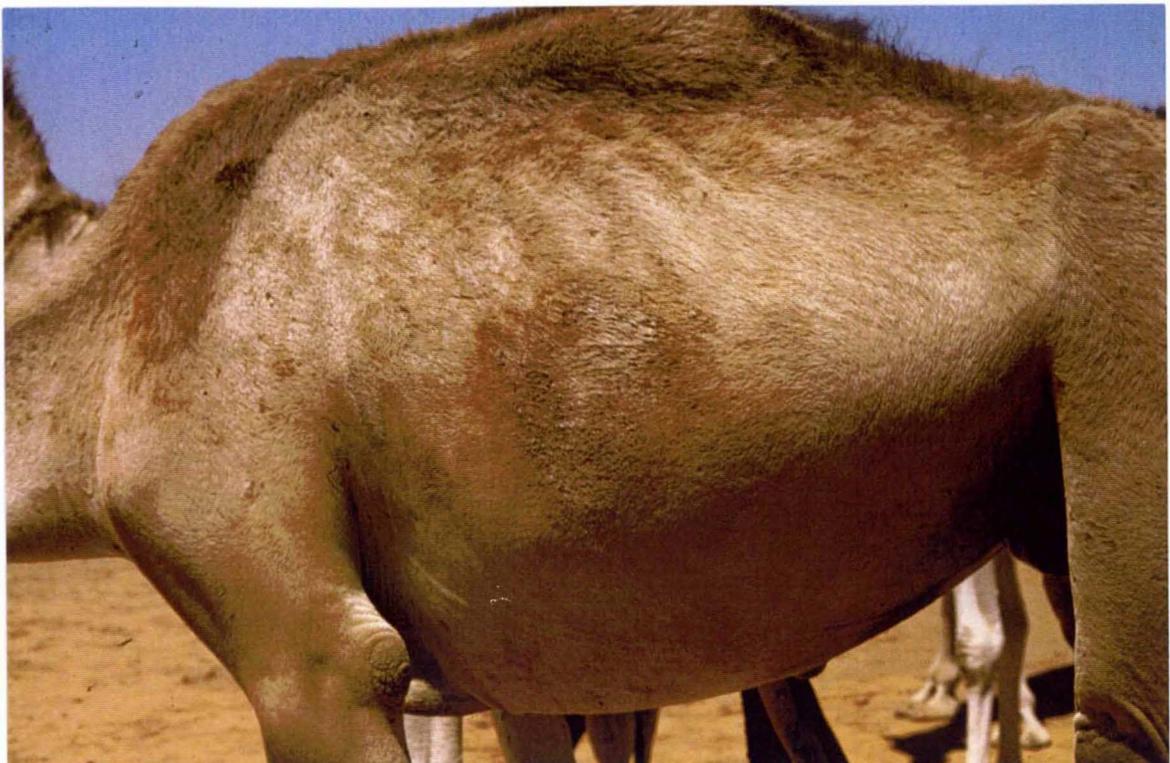
Annexe VII : photographies (Régions Afar et Somali, 1995-1996, F. Roger)



Nasal discharge (Ogaden/96)



lacrimation (Afar/95)

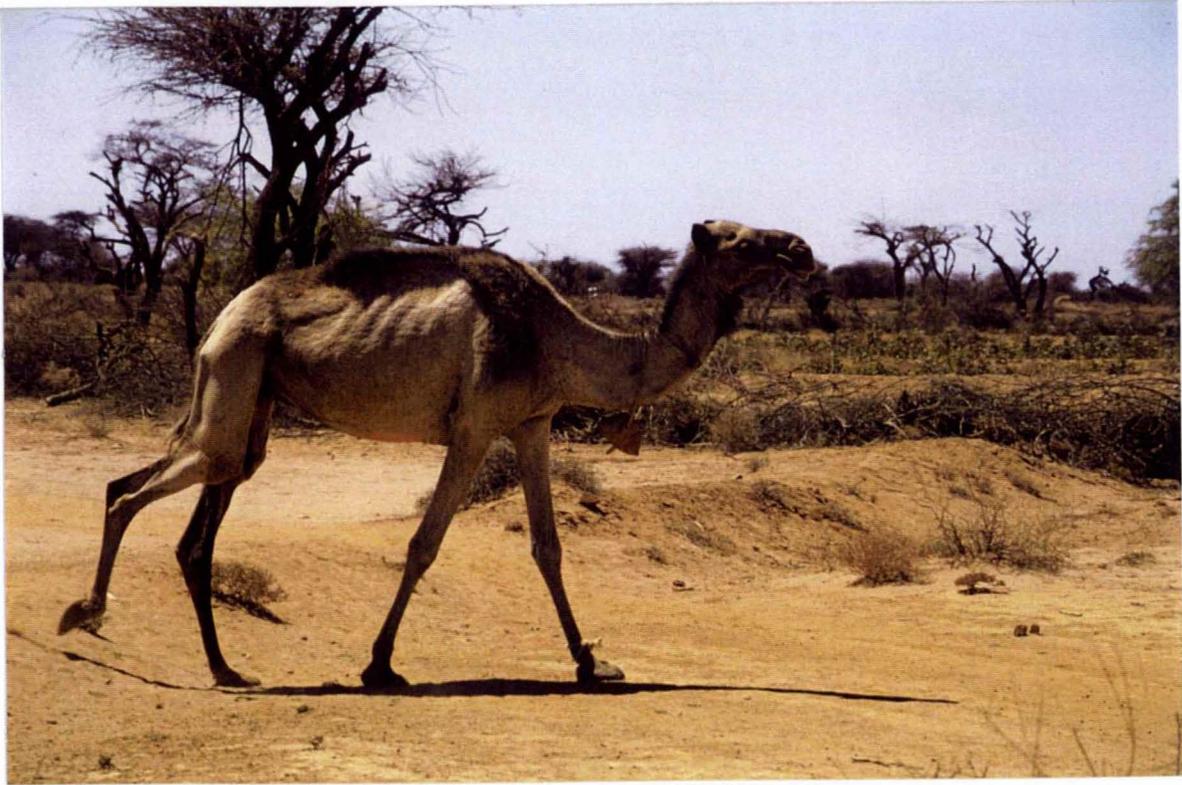


Trace of nasal discharge on the costal wall (Ogaden/96)

Dying
dromadery
(Afar / 95)



CIRAD-Dis
UNITE BIBLIOTHEQUE
Baillarguet



Convalescent camel (Ogaden/96)



Afar (95)

Résumé

En Ethiopie, en 1995 et 1996, une maladie épizootique a touché la majeure partie de la population cameline. C'était une pathologie aiguë très contagieuse, caractérisée par un syndrome fébrile et respiratoire. La morbidité était très élevée et la mortalité variable, surtout après un traitement antibiotique. En moins de deux ans, la maladie a été enregistrée dans toutes les zones d'élevage camelin de la Corne de l'Afrique.

La similitude des symptômes avec ceux de la peste des petits ruminants (PPR), affectant à la même période des caprins et ovins des mêmes zones, et la propagation remarquablement rapide de cette maladie, ont orienté les recherches étiologiques vers une maladie virale et plus précisément vers les morbillivirus des ruminants (virus de peste bovine et de la PPR).

Une souche du virus PPR (PPRV) a été détectée par un test d'immunocapture d'antigènes et par amplification génique (RT-PCR). Le séquençage de fragments amplifiés a montré une proximité génétique avec des souches connues du virus PPR. Un test ELISA pour la détection des anticorps anti-PPRV a été effectué sur des échantillons de sérums de régions épidémiologiquement différentes. Une augmentation des taux de séro-prévalence a été observée. Par ailleurs, des travaux bactériologiques ont été conduits en utilisant plusieurs milieux de culture. Une souche de *Streptococcus equi* subsp. *equi* a été isolée. C'était apparemment le premier isolement de l'agent de la gourme des équidés chez des camélidés.

Il est plausible que cette maladie ait été initiée par une souche du virus PPR. Ce virus pouvait avoir un rôle immunosuppresseur favorisant l'apparition d'infections bactériennes secondaires. Toutefois, considérant la spécificité de la gourme des équidés, maladie très contagieuse, le rôle exact de *Streptococcus equi* subsp. *equi* reste à être évalué.

Ces hypothèses sont discutées, notamment dans le contexte des maladies émergentes et du transfert interspèces d'agents infectieux.

Résumé

En Ethiopie, en 1995 et 1996, une maladie épizootique a touché la majeure partie de la population cameline. C'était une pathologie aiguë très contagieuse, caractérisée par un syndrome fébrile et respiratoire. La morbidité était très élevée et la mortalité variable, surtout après un traitement antibiotique. En moins de deux ans, la maladie a été enregistrée dans toutes les zones d'élevage camelin de la Corne de l'Afrique.

La similitude des symptômes avec ceux de la peste des petits ruminants (PPR), affectant à la même période des caprins et ovins des mêmes zones, et la propagation remarquablement rapide de cette maladie, ont orienté les recherches étiologiques vers une maladie virale et plus précisément vers les morbillivirus des ruminants (virus de peste bovine et de la PPR).

Une souche du virus PPR (PPRV) a été détectée par un test d'immunocapture d'antigènes et par amplification génique (RT-PCR). Le séquençage de fragments amplifiés a montré une proximité génétique avec des souches connues du virus PPR. Un test ELISA pour la détection des anticorps anti-PPRV a été effectué sur des échantillons de sérums de régions épidémiologiquement différentes. Une augmentation des taux de séro-prévalence a été observée. Par ailleurs, des travaux bactériologiques ont été conduits en utilisant plusieurs milieux de culture. Une souche de *Streptococcus equi* subsp. *equi* a été isolée. C'était apparemment le premier isolement de l'agent de la gourme des équidés chez des camélidés.

Il est plausible que cette maladie ait été initiée par une souche du virus PPR. Ce virus pouvait avoir un rôle immunosuppresseur favorisant l'apparition d'infections bactériennes secondaires. Toutefois, considérant la spécificité de la gourme des équidés, maladie très contagieuse, le rôle exact de *Streptococcus equi* subsp. *equi* reste à être évalué.

Ces hypothèses sont discutées, notamment dans le contexte des maladies émergentes et du transfert interspèces d'agents infectieux.

Mots-clés : Dromadaire - épizootie - pathologie respiratoire - peste des petits ruminants - *Streptococcus equi* subsp. *equi* - épidémiologie - microbiologie - maladie émergente.