

Essai comparatif d'efficacité des deux souches vaccinales T1/44 et T1sr contre la péripneumonie contagieuse bovine

A. Yaya ¹ R. Golsia ¹ B. Hamadou ¹

A. Amaro ² F. Thiaucourt ³

Mots-clés

Péripneumonie contagieuse bovine - Vaccin vivant - Efficacité - Cameroun.

Résumé

La péripneumonie est une maladie infectieuse qui touche uniquement les bovidés et connaît actuellement une recrudescence en Afrique. Dans le passé de nombreux pays ont pu contrôler la maladie, voire l'éradiquer, grâce à une prophylaxie médicale basée sur l'utilisation de deux souches vaccinales : T1/44 et sa variante streptomycino-résistante T1sr. Des échecs récents ont pu jeter un doute sur l'identité et l'efficacité de la souche T1sr. Depuis, son identité a été confirmée. Il devenait indispensable de vérifier son efficacité dans des conditions contrôlées. Les deux souches ont été utilisées en primovaccination à la dose minimum recommandée, soit 10^7 mycoplasmes par dose vaccinale. La reproduction expérimentale de la maladie a été réalisée par intubation endobronchique de 40 zébus du Nord-Cameroun qui ont servi à infecter par contact des animaux vaccinés et des animaux témoins. Tous les animaux ont fait l'objet d'un suivi clinique et sérologique. La transmission de la maladie a pleinement réussi et près de 40 p. 100 des animaux témoins ont succombé à la péripneumonie. La mortalité a été inférieure chez les animaux vaccinés mais la différence est à la limite de la signification statistique ($p = 0,054$). Quelle que soit la souche, la protection conférée par la vaccination, calculée sur la réduction de la mortalité, avoisine 37 p. 100 seulement. Il est difficile de comparer ces résultats avec des essais anciens qui étaient pratiquement tous réalisés avec des doses vaccinales beaucoup plus élevées et qui utilisaient une souche d'épreuve isolée en Australie. Les résultats obtenus soulignent le caractère partiel de la protection conférée par la vaccination actuellement pratiquée. Ils appellent d'une part à une meilleure définition des stratégies actuelles de lutte contre la péripneumonie et d'autre part à la mise au point de vaccins plus efficaces.

■ INTRODUCTION

La péripneumonie contagieuse bovine (Ppcb) est une maladie infectieuse qui affecte uniquement les bovidés ; elle est causée par *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype SC (MmmSC) (12). Cette maladie connaît actuellement une recrudescence notoire en Afrique qui peut, paradoxalement, être corrélée aux succès enregistrés dans la lutte contre la peste bovine. En effet, l'éradication de la peste dans la majeure partie du continent a entraîné

l'arrêt des campagnes systématiques de vaccination qui associaient les valences peste et Ppcb. Dans l'Est du continent, des pays qui étaient indemnes de Ppcb depuis de nombreuses années ont été de nouveau contaminés, sans doute en raison de mouvements incontrôlés d'animaux et du manque de préparation des services vétérinaires qui n'étaient plus confrontés à ce fléau depuis longtemps.

Des procédés traditionnels de prophylaxie médicale sont employés depuis des temps immémoriaux en Afrique (1). Ils consistent à insérer, sous la peau du chanfrein, de la lymphé péripneumonique ou des fragments de poumon hépatisé. Ces procédés ont été « redécouverts » en 1852 par un médecin belge (18). Cependant ce type de prophylaxie n'était toujours pas accepté à l'unanimité plus de trente ans après sa description. Il fallut attendre le V^e Congrès international vétérinaire à Paris en 1889 pour que cette méthode soit adoptée pour limiter de façon significative le nombre de

1. Lanavet, BP 503 Garoua, Cameroun

2. Lnv, Est. de Benfica 701, 1500 Lisboa, Portugal

3. Cirad-emvt, TA/30 G, Campus de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France

foyers, avant de pouvoir prendre des mesures de prophylaxie sanitaire d'abattage total (5). Celles-ci ont permis à la plupart des pays d'Europe de redevenir indemnes de Ppcb entre 1888 et 1934 (4).

Dès que l'agent de la péripneumonie fut isolé et caractérisé, de nombreux essais d'atténuation furent réalisés, le plus souvent par passages successifs en bouillon ou en œuf embryonné d'une culture initialement peu pathogène (11). Malgré les millions de doses vaccinales utilisées en Afrique entre les années trente et soixante, la lutte contre la Ppcb connut peu de succès. La souche T1/44, développée vers la fin des années cinquante (15), fut finalement adoptée presque universellement, non pas à cause de ses qualités intrinsèques mais plutôt par lassitude, après de longues recherches d'une souche offrant une très bonne protection et dénuée de pouvoir pathogène résiduel. La souche KH3J, strictement apathogène, fut progressivement abandonnée en raison de son manque d'efficacité. Les efforts ont donc porté principalement sur la standardisation des procédés de production de la souche T1 afin d'obtenir des produits de qualité uniforme. Enfin, la mise au point d'une souche T1 adaptée à la streptomycine (T1sr) a permis de produire un vaccin mixte lyophilisé contre la Ppcb et la peste bovine (10). Au cours des années soixante-dix, en Afrique, des vaccinations annuelles répétées ont assuré un contrôle effectif de la Ppcb ; dans certains pays l'éradication a pu être atteinte par des mesures complémentaires d'abattage total dans les éventuels foyers résiduels. Des politiques similaires ont permis l'éradication de la maladie en Australie, à l'aide d'une autre souche vaccinale, la souche V5 (9).

Bien que la souche T1sr ait été recommandée par un groupe d'experts réunis sous l'égide de la Fao en 1990, des doutes quant à son identité et son efficacité réelle sont apparus à la suite de la réintroduction de la Ppcb au Botswana en 1995 et aux échecs des campagnes de vaccination d'urgence (8). Cela conduisit la Fao, en décembre 1995, à recommander l'arrêt de l'utilisation de la souche T1sr au profit de la seule souche T1/44. Depuis cette date, l'identité de la souche vaccinale utilisée au Botswana a été confirmée par des techniques moléculaires (16), mais ces mêmes techniques ont également permis de mettre en évidence des différences notables entre les souches pathogènes qui circulent sur le continent africain. L'utilisation de séquences d'insertion IS 1296 comme sonde dans des techniques de Southern Blot avait d'ailleurs souligné de nettes différences entre les souches d'origine européenne et les souches africaines (2). Des phénomènes d'adaptation phénotypiques face à des anticorps monoclonaux ont également été observés chez un autre mycoplasme affectant les bovins, *M. bovis* (7). De tels phénomènes pourraient éventuellement exister chez les souches de MmmSC alors que le bétail africain est vacciné depuis des décennies avec la même souche vaccinale. Des gènes de protéines ou lipoprotéines membranaires dont l'expression est hypervariable ont été décrits chez de nombreuses espèces de mycoplasmes (3). De tels gènes peuvent également être présents chez MmmSC et favoriser l'émergence de variants clonaux aux propriétés antigéniques modifiées. Ces études de biologie moléculaire remettent en question le dogme de la très grande homogénéité des souches de MmmSC et pourraient expliquer certains échecs de vaccination. Cependant beaucoup d'autres raisons, plus traditionnelles celles-là, peuvent aussi expliquer des échecs sur le terrain (16).

C'est pourquoi il a été décidé de procéder à un essai vaccinal contrôlé afin de vérifier l'efficacité des deux souches vaccinales T1sr et T1/44 dans des conditions similaires aux conditions d'utilisation au Botswana en 1995. Il s'agissait notamment de contrôler l'efficacité d'une primovaccination en utilisant la dose minimum recommandée par les organismes internationaux (13).

■ MATERIEL ET METHODES

L'essai a été réalisé au Laboratoire national vétérinaire (Lanavet) de Garoua, au Cameroun. La protection conférée par la vaccination a été vérifiée selon une méthode développée en Australie. Elle consiste à transmettre la maladie de façon « naturelle » aux animaux témoins et vaccinés, par la mise en contact avec des animaux artificiellement infectés.

Animaux

Des bovins de type zébu, de plus de deux ans, ont été achetés dans la province du Nord (départements de Mayo-Rey et Bénoué), dans des zones où aucun cas de péripneumonie n'avait été déclaré et où aucune vaccination n'avait été pratiquée.

Vaccinations

Les deux lots de vaccin ont été produits au Cirad-emvt à partir de souches d'origine contrôlée. La souche T1/44, lyophilisée en 1970, provenait du laboratoire de Muguga au Kenya ; la souche T1sr, lyophilisée en 1990 pour produire un lot « grand-parental », provenait à l'origine d'une souche lyophilisée en 1972. Deux passages successifs en milieu liquide ont été réalisés avant lyophilisation en prenant bien soin de ne pas réaliser le moindre clonage. Avant utilisation, les produits finaux ont été certifiés par le Panvac (Pan African Veterinary Vaccine Control) à Debre Zeit en Ethiopie. Le titre par flacon a permis de définir la dilution d'emploi pour obtenir 10^7 unités formant colonie par dose vaccinale sous un volume de 1 ml. Quarante-quatre animaux, choisis par tirage aléatoire, ont été vaccinés par voie sous-cutanée en arrière de l'épaule : 22 avec la souche T1sr et 22 autres avec la souche T1/44.

Infection expérimentale

Souches d'épreuve

Le pouvoir pathogène de trois souches isolées au Cameroun en 1987, 1988 et 1996 a été préalablement testé sur cinq animaux par intubation endobronchique. La souche Touroua (1987) a été utilisée pour l'essai vaccinal proprement dit.

Intubation endobronchique d'épreuve

Quarante animaux non vaccinés ont été choisis de façon aléatoire et intubés par voie endobronchique droite à l'aide d'un bronchoscope trois mois après la vaccination. Les animaux étaient en position debout et maintenus dans un couloir de contention. L'inoculum a consisté en 50 ml d'une culture dans la phase exponentielle de croissance, auxquels ont été ajoutés 30 ml d'agar à 1,5 p. 100. Un rinçage du bronchoscope a ensuite été réalisé avec 100 ml de milieu de culture stérile.

Suivi des animaux

Les trois groupes d'animaux, comprenant 44 vaccinés, 40 intubés et 33 témoins non vaccinés, ont été mis en contact après l'intubation et maintenus confinés jusqu'à l'abattage, deux mois après l'apparition des premiers signes cliniques dans le groupe témoin. Des prises de sang ont été réalisées tous les mois sur l'ensemble des animaux et les sérums analysés par la réaction de fixation du complément (Rfc)(13), les tests Elisa de compétition (cElisa) (6) et Elisa indirect. Dans ce dernier cas, les sérums ont été analysés à la dilution 1/300 avec des plaques Elisa sensibilisées avec le même antigène que pour le cElisa. Le conjugué anti-bovin marqué à la peroxydase, Dako P449, a été utilisé au 1/1000, le substrat Abts étant le même que pour le cElisa.

■ RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Pré-essai des souches d'épreuve

Les mortalités sont apparues tout d'abord dans le groupe intubé avec la souche isolée en 1988, 9 jours seulement après l'intubation, puis dans le groupe contaminé avec la souche isolée en 1987, 13 jours après l'intubation. Aucune mortalité n'est survenue dans le groupe contaminé avec la souche isolée en 1996. Vingt-cinq jours après l'intubation, tous les animaux survivants ont été sacrifiés et les lésions pulmonaires notées. Les souches 1988 et 1987 ont provoqué dans chaque lot la mort de trois des cinq animaux et un séquestre chez un des deux animaux survivants. La souche 1996 n'a pas provoqué de mortalité mais seulement des lésions chroniques chez trois des animaux intubés.

Bien que le nombre d'animaux dans chaque groupe soit faible, les différences entre ces trois souches sont notables, la souche isolée en 1996 ayant un pouvoir pathogène nettement plus faible que les deux autres. C'est donc une des souches les plus pathogènes (Touroua 1987) qui a été choisie pour la suite de l'expérimentation.

Suivi clinique

Animaux intubés

Les premiers symptômes respiratoires, principalement de la toux, ont été notés au bout d'une semaine et les premières mortalités sont apparues dès le 10^e jour après l'intubation. Vingt-sept animaux sont morts, ce qui représente un taux de mortalité de 67 p. 100, le pic de mortalité se situant au 20^e jour après l'inoculation (figure 1). Ces chiffres sont tout à fait comparables à ceux obtenus au cours du pré-essai, ce qui confirme le pouvoir pathogène de la souche utilisée et l'efficacité de la technique d'inoculation.

Animaux témoins

La première mortalité est apparue dans le groupe témoin 50 jours seulement après l'intubation du groupe « infectant ». La majorité des mortalités (n = 10) est survenue entre le 50^e et le 70^e jour, les suivantes sont apparues sporadiquement jusqu'à la fin de l'expérimentation. Au total 13 animaux sont morts dans le groupe témoin, soit un taux de mortalité de 40 p. 100. Ce taux important montre bien le caractère pathogène de la souche utilisée car les animaux ont été infectés par contact et ce mode d'infection est semblable à une infection naturelle. La seule différence tient ici à l'introduction d'un nombre élevé d'animaux « infectants », alors que les transmissions naturelles sont souvent réalisées par contact avec quelques animaux excréteurs.

Animaux vaccinés

Les premières mortalités sont apparues dans ce groupe au même moment que dans le groupe témoin, mais le nombre total de morts a été plus faible. Ici aussi les mortalités ont continué de façon sporadique jusqu'à la fin de l'expérimentation. Cela montre que la vaccination, même si elle induit une certaine protection, n'entraîne pas une augmentation du temps d'incubation chez les animaux encore sensibles.

Suivi des températures

Presque tous les animaux intubés ont présenté une phase fébrile dans les jours qui ont suivi l'opération. Cependant, elle était transitoire et la température est redevenue normale (< 39,5 °C), que l'animal ait survécu ou soit mort ensuite. Le suivi des animaux témoins a permis d'observer une évolution plus « naturelle ». Les animaux sans lésion n'ont pas présenté d'épisode fébrile (figure 2a), alors que sont apparus des pics de fièvre transitoire

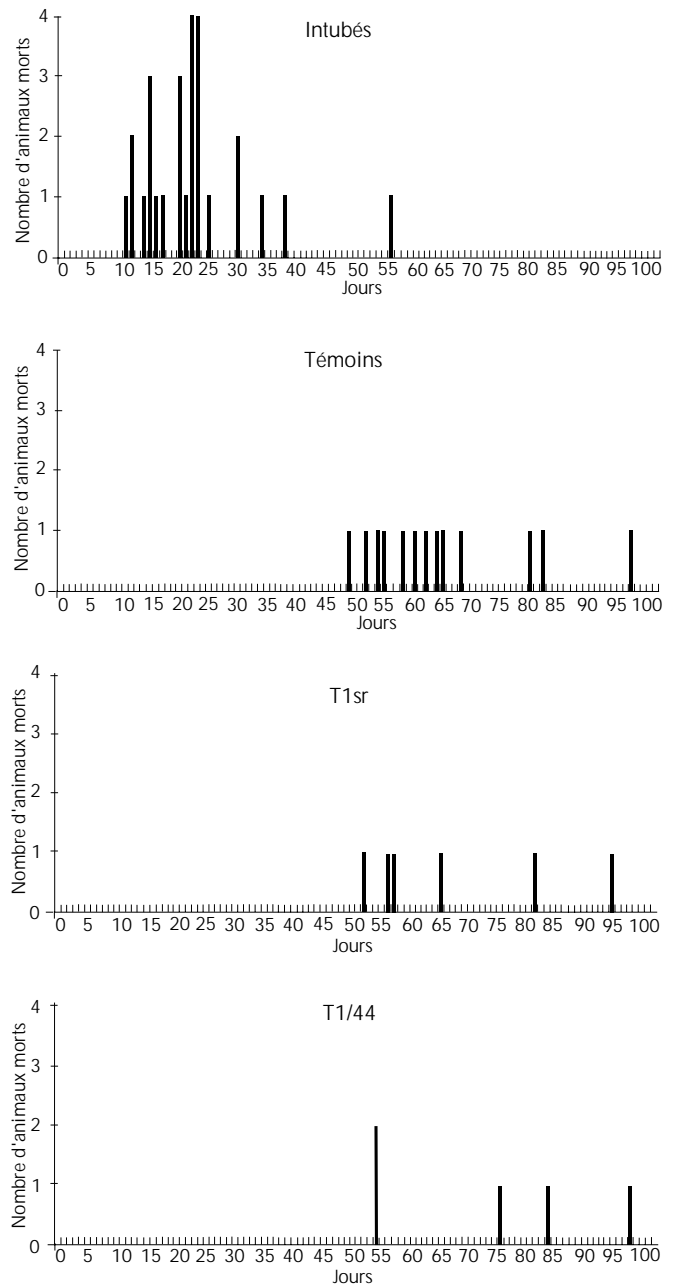


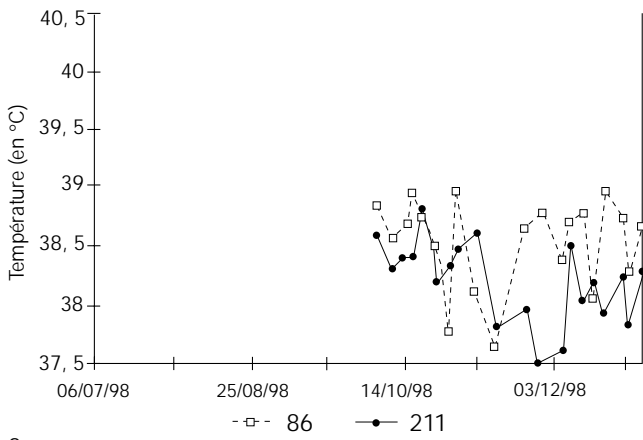
Figure 1 : histogrammes représentant le nombre d'animaux morts dans les différents groupes en fonction du temps.

chez les animaux développant des lésions aiguës (figure 2b) ou chroniques (figure 2c). Ces pics n'ont jamais atteint des valeurs très élevées.

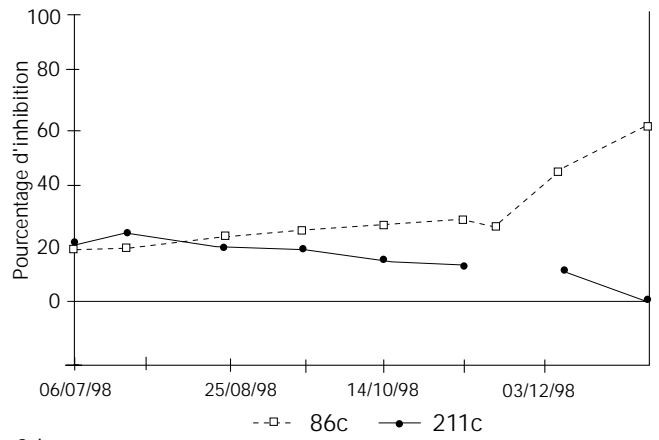
Il semble donc que la fièvre soit caractéristique du développement initial des lésions, car la température redevient normale ensuite quelle que soit l'évolution. L'apparition de ces pics de fièvre a d'ailleurs été concomitante du début de la séroconversion. Ainsi on a pu observer un pic de fièvre plus précoce chez l'animal 67 que chez l'animal 117 (figure 2b) et parallèlement une séroconversion plus précoce chez l'animal 67 (figure 2e). Les mêmes constatations ont pu être faites chez les animaux 152 et 191 (figures 2c et 2f), qui sont morts avant la fin de l'expérimentation avec des lésions aiguës intéressant la totalité du lobe pulmonaire gauche. Inversement, certains animaux qui ne présentaient ni pic de fièvre ni lésion pouvaient présenter des séroconversions.

Vaccine efficacy trial of T1/44 and T1sr against CBPP

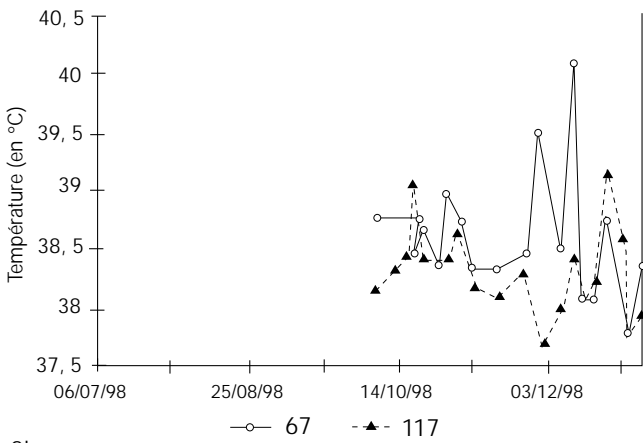
■ PATHOLOGIE INFECTIEUSE



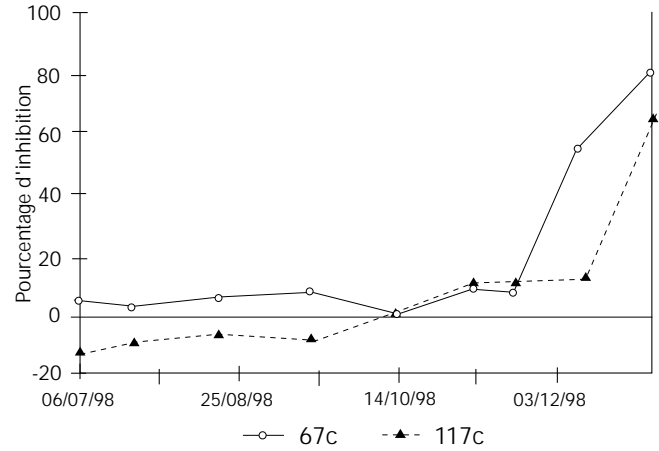
2a



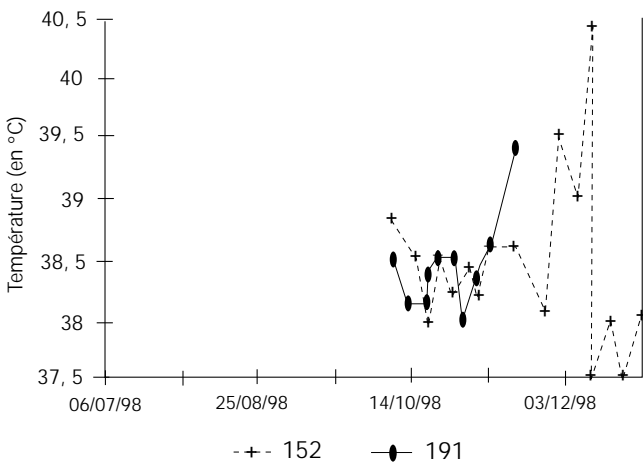
2d



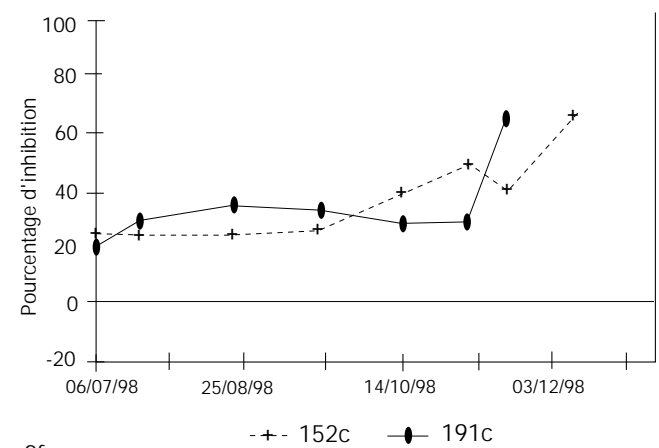
2b



2e



2c



2f

Figure 2 : courbes de température et courbes sérologiques obtenues en cElisa chez différents animaux :
a, d : animaux 86 et 211 n'ayant pas présenté de lésion macroscopique à l'autopsie ;
b, e : animaux 67 et 117 ayant présenté des séquestres à l'autopsie, de 15 et 5 cm de diamètre respectivement ;
c, f : animaux 152 et 191 morts de péripneumonie aiguë.

Lésions macroscopiques

Les lésions aiguës constatées dans les groupes d'animaux témoins ou vaccinés ont présenté les caractéristiques typiques de la Ppcb : accumulation de liquide pleural dans la cavité thoracique (figure 3), épaissement des travées interlobulaires (figure 4), lobules à des stades variés de pneumonie donnant un aspect marbré. Dans certains cas le liquide pleural était remplacé par de la fibrine coagulée donnant un aspect « d'omelette » collée au poumon et à la plèvre costale. Dans tous les cas il existait une pleurésie aigue. Les lésions étaient surtout unilatérales et touchaient indifféremment les poumons gauche ou droit. Il existait parfois des lésions bilatérales, en général l'un des deux poumon étant alors totalement hépatisé.

Des séquestres de taille variable ont pu être observés, de 1 cm à plus de 30 cm. Les stades de ces séquestres étaient également variables, certains ayant une capsule fine et un contenu solide où la structure pulmonaire pouvait encore être observée (figure 5), d'autres présentant des capsules fibreuses épaisses de 5 mm avec un contenu pâteux entièrement nécrosé (figure 6).



Figure 3 : accumulation de liquide pleural dans la cavité thoracique d'un animal atteint de péripneumonie contagieuse bovine dans sa forme aiguë.

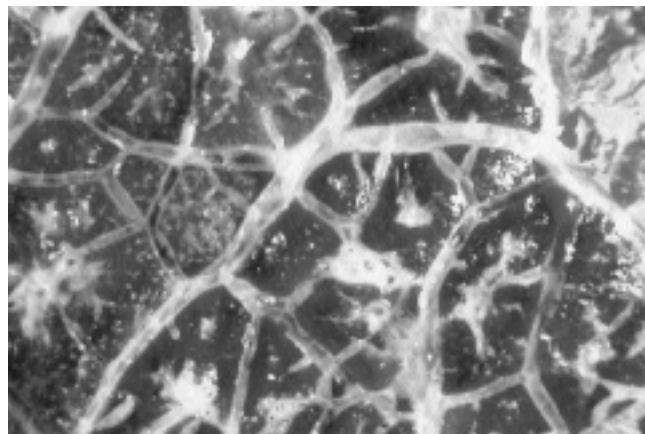


Figure 4 : section d'un poumon de bovin atteint de Ppcb dans sa forme aiguë ; les travées interlobulaires sont distendues et remplies de liquide d'exsudation, elles entourent du parenchyme pulmonaire hépatisé.

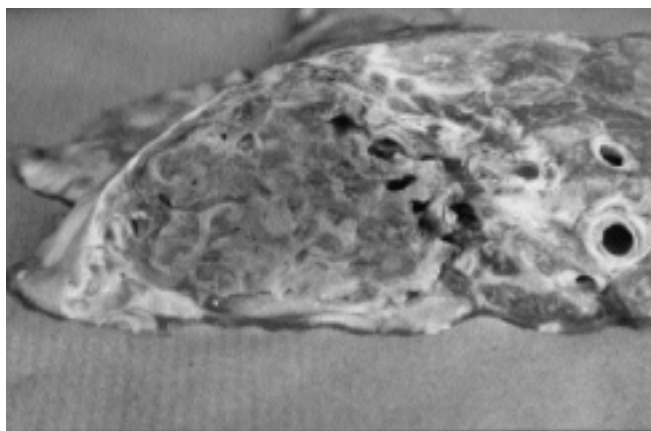


Figure 5 : coupe longitudinale d'un séquestre en voie de formation ; les tissus situés à la périphérie sont en voie de nécrose alors que la structure pulmonaire est encore visible au centre.

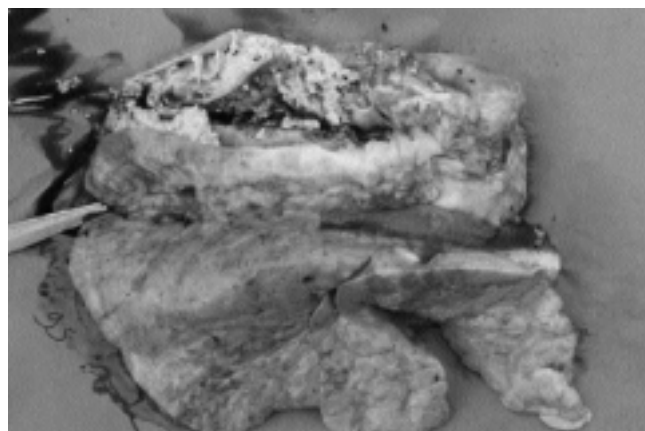
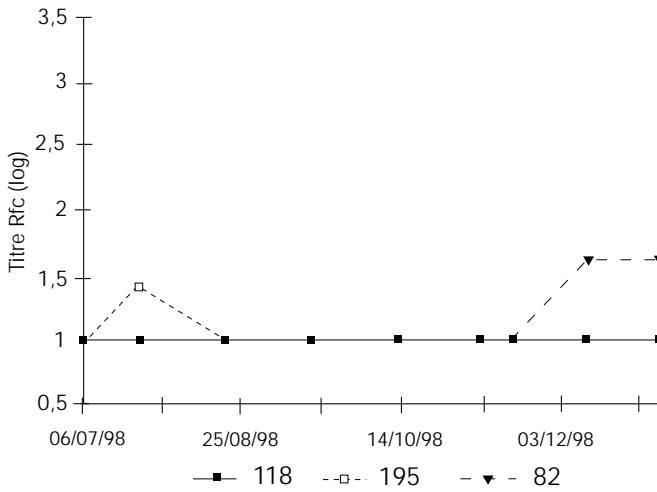


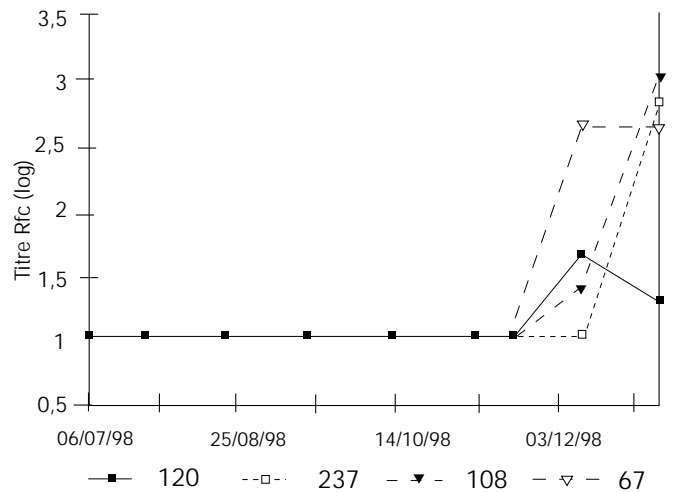
Figure 6 : coupe d'un séquestre dont l'intérieur a subi une nécrose complète ; les parois du séquestre ont une épaisseur d'environ 5 mm.

Vaccine efficacy trial of T1/44 and T1sr against CBPP

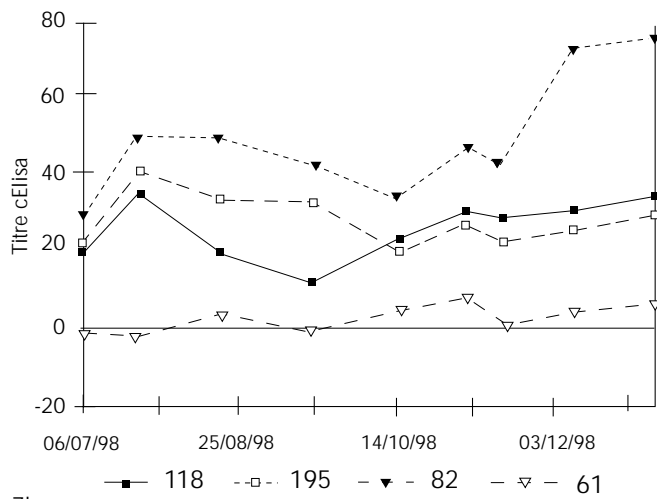
■ PATHOLOGIE INFECTIEUSE



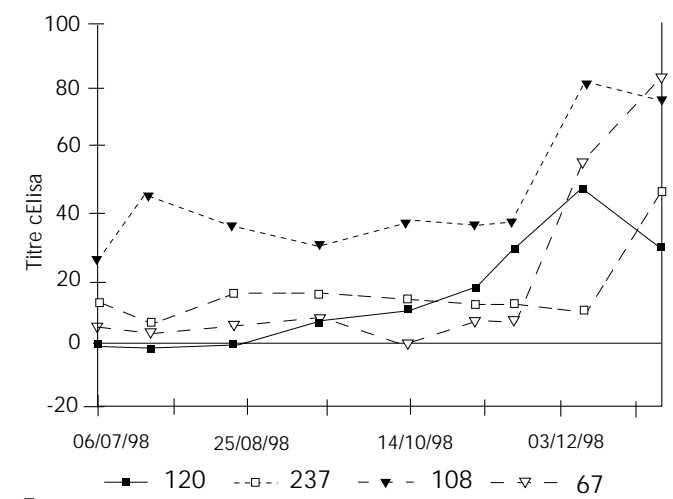
7a



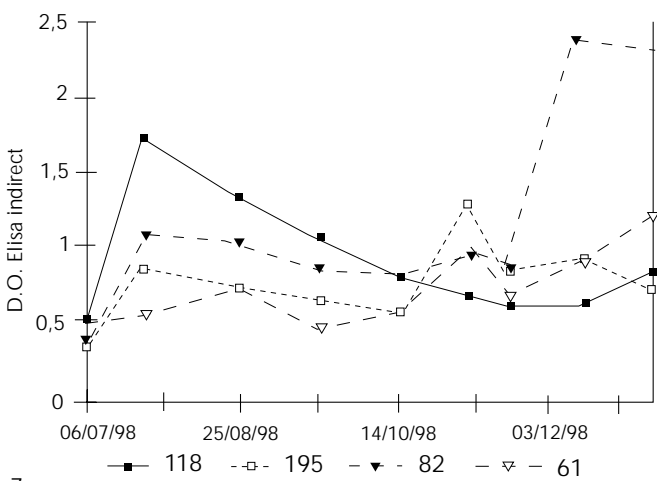
7d



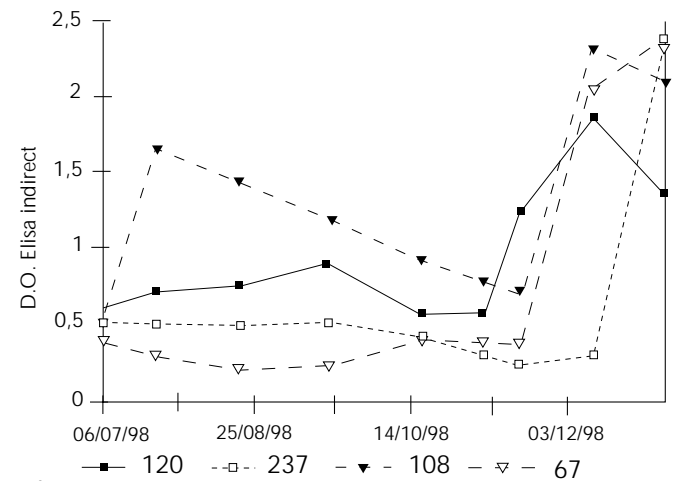
7b



7e



7c



7f

Figure 7 : résultats sérologiques obtenus avec les techniques Rfc (a, d), cElisa (b, e) et Elisa indirect (c, f) : a, b, c : 4 animaux ne présentant pas de lésion, 118 et 195 (vaccinés avec T1/44), 82 et 61 (vaccinés avec T1sr) ; d, e, f : 4 animaux présentant des lésions chroniques, 120 et 237 (vaccinés avec T1sr), 108 (vacciné avec T1/44) et 67 (animal témoin).

et ont présenté, en Rfc et cElisa, une séroconversion durable jusqu'à la date d'épreuve. Ces deux animaux avaient souffert d'un abcès au point d'injection du vaccin qui a pu jouer le rôle d'un immunostimulant. Sur le terrain, ce type de réaction pourrait éventuellement induire l'apparition de faux positifs même si les récoltes de sérums sont effectuées plus de trois mois après la vaccination. Nos résultats confirment, s'il en était encore besoin, qu'il n'est pas possible de réaliser un suivi sérologique pour contrôler les campagnes de vaccination.

Séroconversion après épreuve

■ Animaux sans lésion

Certains animaux n'ont présenté aucune séroconversion, quelle qu'ait été la technique employée (figure 7a, b, c, animal 61). Il peut s'agir d'animaux qui n'ont pas été en contact avec le mycoplasme mais cette probabilité est faible étant donné le nombre d'animaux infectants et la promiscuité qui régnait dans l'enclos. Plus probablement, il s'agit d'animaux qui n'étaient naturellement pas réceptifs à la péripneumonie, ou bien qui ont pu se débarrasser des mycoplasmes au stade initial de la maladie, dès le contact avec l'arbre respiratoire.

D'autres animaux ont présenté une séroconversion, surtout en Elisa indirect, un peu moins en cElisa et pratiquement jamais en Rfc. Chez l'un d'entre eux, MmmSC a pu être isolé à partir d'un ganglion médiastinal (figure 7a, b, c, animal 82). Ces réactions correspondent sans doute à une multiplication du mycoplasme, entraînant une stimulation du système immunitaire sans qu'aucune lésion macroscopique ne se développe.

■ Animaux avec lésions aiguës

Il existait un début de séroconversion chez tous ces animaux, quelle qu'ait été la technique utilisée, mais dans certains cas, la mort a pu survenir avant que les titres en cElisa n'aient atteint le seuil de positivité.

■ Animaux avec lésions chroniques

Tous ces animaux ont développé une séroconversion, la plupart ont eu des titres fortement positifs mais la durée de l'expérimentation n'a pas permis d'évaluer la persistance de ces anticorps avec les trois techniques (figure 7). Quelques animaux présentaient déjà une décroissance de leur titre, cette décroissance étant parallèle selon les trois techniques. Cela montre que l'immunodominance de l'épitope utilisé dans le test de compétition est équivalente à l'immunodominance globale des antigènes utilisés dans le test Elisa indirect.

Immunohistochimie

Des coupes de tissu ont été étudiées avec une technique d'immunohistochimie réalisée à l'aide d'un sérum hyperimmun. Tous les prélèvements récoltés chez les animaux présentant des lésions aiguës ou des séquestres ont donné des résultats positifs, notamment ceux réalisés à partir des ganglions régionaux.

Un animal vacciné avec la souche T1/44 et ne présentant pas de lésion macroscopique a pourtant provoqué un résultat positif à partir d'un ganglion. Cet animal était alors séropositif en Rfc et présentait également un début de séroconversion en cElisa.

Protection vaccinale

Le tableau I donne la distribution du nombre d'animaux observés dans chaque groupe comparé au nombre théorique qui aurait dû être observé s'il n'existait pas de différence entre les trois groupes. Le résultat du test du χ^2 sur ces distributions donne un risque de 5,4 p. 100 pour que ces deux distributions ne soient pas différentes. Cette valeur est très légèrement supérieure au risque de 5 p. 100 communément admis pour conclure qu'il existe une différence significative.

Si l'on ne considère que la mortalité, elle s'est élevée à 39,4 p. 100 (13/33) dans le lot de contrôle alors que chez les vaccinés elle s'élevait à 25 p. 100 (11/44). Cela correspond à une protection d'environ 37,5 p. 100 (théoriquement 17,6 animaux — 44 x 39,4 p. 100 — auraient du mourir, or seulement 11 sont morts ; on peut donc considérer que 6,6 animaux ont été protégés par le vaccin, soit un taux de protection de $6,6/17,6 = 37,5$ p. 100).

Ces résultats montrent que le nombre d'animaux utilisés était à peine suffisant pour pouvoir mettre en évidence, de façon statistiquement valide, une protection d'environ 40 p. 100. Cela illustre bien la difficulté d'étudier la péripneumonie en l'absence de tout modèle de laboratoire.

Il est cependant clair qu'aucune des deux souches vaccinales ne confère une protection satisfaisante dans les conditions décrites, à savoir en primovaccination et à la dose minimum requise. Il est probable que cette faible protection soit corrélée au pouvoir pathogène de la souche car, au cours d'une expérience parallèle faite au Kenya dans les mêmes conditions mais avec une souche d'épreuve moins pathogène, cette même souche vaccinale a permis de réduire fortement le taux de mortalité (17).

Tableau I

Distribution du nombre d'animaux observés dans chaque groupe et du nombre théorique qui aurait dû être observé avec trois groupes semblables

	Animaux morts	Animaux avec lésions	Animaux sans lésions	Total
Groupe témoin	13 (10,3)	14 (11,55)	6 (9,43)	33
Groupe vacciné avec T1/44	5 (6,86)	4 (7,7)	13 (7,43)	22
Groupe vacciné avec T1sr	6 (6,86)	9 (7,7)	7 (7,43)	22
Total	24	27	26	77

Les nombres entre parenthèses représentent les populations théoriques qui permettent de calculer un χ^2

■ CONCLUSION

Cette reproduction expérimentale de la Ppcb est la première depuis de nombreuses années à avoir été réalisée en Afrique. Le nombre d'animaux (plus de 130) ainsi que le mode de transmission par contact ont permis de valider un modèle expérimental déjà éprouvé dans le passé, mais cette fois avec des souches pathogènes locales et isolées récemment. Le tableau clinique obtenu est tout à fait typique de la Ppcb. En particulier, il est intéressant de noter que six animaux témoins sur 33 (20 p. 100) n'ont pas développé de lésion. Cela ne correspond pas à une absence de contact avec l'agent pathogène car quatre sur six ont présenté une séroconversion, mais plus certainement à une résistance naturelle. De même, il est frappant de constater que des animaux autopsiés moins de trois mois après le contact infectant avaient déjà développé des lésions de type séquestre avec un contenu dans un état de nécrose avancée. Le rôle de ces séquestres dans la persistance et la transmission, à long terme, de l'agent pathogène devrait éventuellement être rediscuté. La présence de mycoplasme dans les ganglions régionaux peut laisser présager sa persistance à long terme dans ces organes ou dans d'autres.

Cette étude a permis de valider de façon précise la nouvelle technique cElisa. Un point important était de vérifier la séroconversion post-vaccinale afin de voir s'il était toujours possible d'utiliser le test cElisa pour mettre en évidence des foyers de Ppcb dans des zones où est pratiquée la vaccination, à l'instar de ce qui est fait avec la Rfc. Ce point a pu être confirmé. Il était également important de pouvoir corréler le statut sérologique avec le statut réel des animaux. Certains animaux ont présenté des sérologies positives, sans aucune lésion macroscopique. La concomitance de ces séroconversions avec celles survenant chez des animaux cliniquement atteints montre bien qu'il ne s'agit pas de fausses positivités. De plus l'isolement du mycoplasme, ou la mise en évidence d'antigènes par immunocytochimie, montre bien qu'il y a eu stimulation du système immunitaire.

Il est difficile de comparer les résultats actuels de protection avec les résultats obtenus antérieurement par différents auteurs. En effet, dans un souci d'harmonisation des essais, la souche d'épreuve choisie était alors en général la souche Gladysdale, une souche pathogène isolée en Australie avant les années soixante. Or les techniques modernes de biologie moléculaire ont permis de montrer la variabilité qui existe au sein des souches de MmmSC et ont également mis en lumière les capacités d'adaptabilité des mycoplasmes ; il était donc impératif de tester l'efficacité des vaccins face à des souches récemment isolées. Une autre difficulté de comparaison tient aux doses vaccinales utilisées. La plupart des essais antérieurs étaient réalisés avec des doses variant de 10^8 à $10^{9.5}$ mycoplasmes par dose vaccinale, or ces doses ne sont pas conformes à la pratique réelle du terrain. En effet, la plupart des lots de vaccin Ppcb contrôlés par le Panvac possèdent des titres qui ne sont que marginalement supérieurs à la dose minimale requise (14) et il existe de nombreuses raisons pour que ces titres baissent avant qu'ils soient effectivement injectés.

Nos résultats montrent qu'une primovaccination avec un vaccin titrant 10^7 mycoplasmes par dose n'induit pas une bonne protection, quelle que soit la souche utilisée, T1/44 ou T1sr. Cela explique rétrospectivement l'échec qui a été enregistré au Botswana. Ces résultats confirment qu'une vaccination anti-péripneumonique ne fait que rehausser globalement le taux de résistance d'un troupeau et que des mesures d'urgences doivent aussi comprendre nécessairement un contrôle strict des mouvements d'animaux. Le choix de la souche vaccinale à utiliser se pose encore étant donné que la souche T1/44 n'a pas montré une supériorité flagrante. Ce choix résultera sans doute de considérations

particulières à la zone : sensibilité du cheptel local, acceptabilité d'un certain nombre de réactions post-vaccinales, utilisation d'un vaccin mixte dans les zones de cordon sanitaire...

La mise au point d'un vaccin contre la Ppcb plus efficace et à l'inocuité parfaite devient une priorité absolue dans le contexte d'une résurgence de cette maladie. Cette mise au point ne pourra se faire que de façon raisonnée, une fois que les mécanismes immunitaires aboutissant soit à la maladie, soit à la protection auront été élucidés. Des éléments préliminaires de réponse ont été obtenus au cours de cette expérimentation. Il faudra également identifier d'éventuels gènes liés au pouvoir pathogène des souches qui pourraient être la clé de la mise au point de nouveaux vaccins.

Dans l'attente de ces résultats, il devient urgent de préciser un certain nombre de points pratiques indispensables à la mise sur pied de stratégies cohérentes de lutte. Tout d'abord, il faut connaître la prévalence exacte de la Ppcb et les pertes réelles qu'elle occasionne. Il est nécessaire également de mieux déterminer la protection qui peut être attendue des vaccins disponibles actuellement. Dans ce cadre, il faudra déterminer plus précisément s'il existe un effet dose, si des vaccins ayant un titre plus élevé protègent mieux et si des vaccinations répétées sont indispensables à l'établissement d'une protection complète du cheptel. Enfin il faudra déterminer si les conditions de production ne peuvent pas induire une sélection de variants éventuellement moins immunogènes.

Remerciements

Nos remerciements vont tout d'abord au directeur du Lanavet de Garoua au Cameroun, dont l'aide a été précieuse pour la réalisation de cet essai, financé grâce au ministère français des Affaires étrangères, secrétariat à la Coopération (contrat n° 9700786300). Une partie des missions d'expert a également été financée par l'Union européenne, DG VIII, ce travail participant à un ensemble de recherches sur la péripneumonie (contrat n° 5100.35.94.917 - 5REG17).

REFERENCES

1. BLANCOU J., 1996. Les anciennes méthodes de surveillance et de contrôle de la péripneumonie contagieuse bovine. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **15** : 1241-1262.
2. CHENG X., NICOLET J., POUMARAT F., REGALLA J., THIAUCOURT F., FREY J., 1995. Insertion element IS 1296 in *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony identifies an European clonal line distinct from African and Australian strains. *Microbiol.*, **141** : 3221-3228.
3. CITTI C., ROSENGARTEN R., 1997. Mycoplasma genetic variation and its implication for pathogenesis. *Wiener klinische wochenschrift*, **109** : 562-568.
4. CURASSON G., 1942. Péripneumonie bovine. In : *Traité de pathologie exotique vétérinaire et comparée* (2^e éd.), **2** : 276-353. Paris, France, Vigot Frères.
5. GALTIER M. V., 1897. *Traité des maladies contagieuses et de la police sanitaire des animaux domestiques* (2^e éd.). Lyon, France, Le Beau Jeune Imprimeur.
6. LE GOFF C., THIAUCOURT F., 1998. A competitive ELISA for the specific diagnosis of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP). *Vet. Microbiol.*, **60** : 179-191.
7. LEGRAND D., SOLSONA M., ROSENGARTEN R., POUMARAT F., 1996. Adaptive surface antigen variation in *Mycoplasma bovis* to the host immune response. *FEMS Microbiol. Letters*, **144** : 267-275.
8. MASUPU K.V., MAJOK A.A., AMANFU W., MULLINS G.R., 1997. The resurgence of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) in Botswana in 1995: epidemiological considerations and interventions. *Epidemiol. santé anim.*, Proceedings of the 8th meeting of the ISVE, Paris, France, 8-11 juillet 1997, **31-32** : 02-04.

9. NEWTON L.G., 1992. Contagious bovine pleuropneumonia in Australia: some historic highlights from entry to eradication. *Aust. Vet. J.*, **69**: 306-317.
10. PROVOST A., 1969. Principes de production d'un vaccin mixte associé antibovipestique-antipéripleumonique inoculé en un seul temps. *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, **17** : 7-10.
11. PROVOST A., 1974. Prophylaxie et vaccination dans la péripleumonie bovine. Evolution des techniques et applications pratiques actuelles. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, **27** : 145-161.
12. PROVOST A., PERREAU P., BREARD A., LE GOFF C., MARTEL J., COTTEW G.S., 1987. Péripleumonie contagieuse bovine. *Rev. Sci. Techn. Off. int. Epiz.*, **6** : 565-624.
13. REGALLA J., LEFEVRE P.C., 1996. Contagious bovine pleuropneumonia. In: Manual of Standards for diagnostic tests and vaccines, chap. 2.1.6. Paris, France, OIE, 723 p.
14. SECK B.M., 1999. PANVAC progress report. In: Final report of the 9th annual OUA/IBAR/PARC East Africa Co-ordination meeting, Machakos, Kenya, 26-28 April 1999.
15. SHERIFF D., PIERCY S.E., 1952. Experiments with avianised strain of the organism of contagious bovine pleuropneumonia. *Vet. Rec.*, **64**: 615-621.
16. THIAUCOURT F., LORENZON S., DAVID A., TULASNE J.J., DOMENECH J., 1998. Vaccination against contagious bovine pleuropneumonia and the use of molecular epidemiology tools. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **849**: 146-151.
17. THIAUCOURT F., YAYA A., WESONGA H., HUEBSCHLE O.J.B., TULASNE J.J., PROVOST A., 1999. Contagious bovine pleuropneumonia: a reassessment of the efficacy of vaccines used in Africa. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, accepté pour publication.
18. WILLEMS L., 1852. Mémoire sur la pleuro-pneumonie épizootique du gros bétail. *Rec. méd. vét. prat.*, **9** : 401-434.

Reçu le 24.8.99, accepté le 12.1.00

Summary

Yaya A., Golsia R., Hamadou B., Amaro A., Thiaucourt F. Comparative efficacy trial of two strains of vaccines T1/44 and T1sr against contagious bovine pleuropneumonia

Contagious bovine pleuropneumonia is an infectious disease affecting cattle. It has acquired recently a growing importance in Africa. In the past, many countries had controlled the disease or even eradicated it thanks to the use of two strains of live vaccines, T1/44 and a streptomycino-resistant variant T1sr. Recent vaccinal failures with the T1sr strains had cast doubts on the identity and the efficacy of this vaccinal strain. Since then its identity has been confirmed. It was therefore necessary to verify the efficacy in controlled conditions. The two strains were used at the minimum required dose, 10^7 mycoplasmas by vaccinal dose. The experimental reproduction of the disease was obtained by endobronchial intubation of 40 animals that served as "donor" to infect vaccinated as well as control animals by contact. Transmission occurred readily and the mortality rate reached 40% among the control animals. Vaccinated animals died at a lower rate ($p = 0,054$) but the protection was only equal to 37% when considering the reduction of mortality. It is quite difficult to compare this result with older ones as many former trials were using vaccine doses with a higher content of mycoplasmas and were using a challenging strain isolated in Australia. The results obtained in this experiment pinpoint the partial protection that is afforded by a primovaccination at the minimum recommended dose. It calls for further research on more efficient vaccines and also for a better definition of the CBPP control strategies that should be urgently implemented.

Key words: Contagious bovine pleuropneumonia - Live vaccines - Efficiency - Cameroon.

Resumen

Yaya A., Golsia R., Hamadou B., Amaro A., Thiaucourt F. Estudio comparativo sobre la eficiencia de dos cepas de vacunación T1/44 y T1sr contra la perineumonía contagiosa bovina

La perineumonía es una enfermedad infecciosa que toca únicamente a los bóvidos y que presenta actualmente una recrudescencia en Africa. En el pasado, muchos países han podido controlar la enfermedad e incluso erradicarla, gracias a una profilaxis médica, basada en la utilización de dos cepas de vacunación: T1/44 y su variante resistente a la streptomycina T1sr. Fracasos recientes han puesto en duda la eficiencia y la identidad de la cepa T1sr. La identidad de la cepa ya ha sido confirmada. Era indispensable verificar la eficiencia bajo condiciones controladas. Las dos cepas fueron utilizadas en primovacunación, a las dosis mínimas recomendadas, o sea 10^7 micoplasmas por dosis de vacuna. La reproducción experimental de la enfermedad se realizó por intubación endobronquial de 40 cebúes del norte de Camerún, los cuales sirvieron para infectar por contacto a animales vacunados y a animales testigo. Todos los animales fueron seguidos clínica y serológicamente. La transmisión de la enfermedad fue un éxito y cerca de 40% de los animales testigo sucumbieron a la perineumonía. La mortalidad fue inferior en los animales vacunados, pero la diferencia se encuentra en el límite estadístico significativo ($p = 0,054$). Cualquiera que sea la cepa, la protección conferida por la vacuna, calculada sobre la reducción de la mortalidad, se únicamente avecina de 37%. La comparación de estos resultados con estudios anteriores se dificulta, debido a que prácticamente todos estos fueron realizados con dosis de vacunación mucho más elevadas y con una cepa de prueba aislada en Australia. Los resultados obtenidos subrayan el carácter parcial de la protección conferida por la vacunación practicada actualmente. Por un lado llaman a una mejor definición de las estrategias actuales de lucha contra la perineumonía y por otro al establecimiento de vacunas más eficientes.

Palabras clave: Peripneumonía contagiosa bovina - Vacuna viva - Eficacia - Camerún.