

ZV0000918

ok

d'un

atténué

ESSAI SUR LE TERRAIN DU VACCIN
(~~SOUCHE ATTENUÉE~~) CONTRE LA COWDRIOSE

A. GUEYE, F. JONGJAN, ^EG. UILENBERG, Mb. MBENGUE, A. DIOUF

INTRODUCTION

L'une des contraintes pathologiques majeures à l'introduction d'animaux à haute productivité dans certaines régions tropicales est la cowdriose. Cette maladie causée par une rickettsie *Cowdria ruminantium*, Cowdry 1928 est jusqu'à présent contrôlée, soit par une lutte systématique contre les tiques vectrices, soit par l'immunisation en faisant recours à la méthode de l'infection suivie du traitement. Cette dernière méthode bien qu'efficace comporte les risques d'un traitement tardif très souvent fatal (GUEYE et al., 1985) ; elle est par ailleurs assez astreignante, car nécessitant un suivi quotidien des animaux jusqu'à leur traitement par des antibiotiques appropriés en l'occurrence les tétracyclines (GUEYE et al., 1985, 1989).

3/

5/

La mise au point d'un vaccin atténué (JONGJAN, 1991) à partir d'une souche de *Cowdria ruminantium* isolée de la région des Niayes (GUEYE et al. 1982) ouvre de nouvelles perspectives de prophylaxie de cette infection. L'efficacité démontrée du vaccin ~~en station~~ contre le ^{stock} souche sauvage homologue (JONGJAN et al. 1993) est à confirmer cependant sur le terrain avant d'envisager son utilisation à grande échelle. Ce contrôle fait l'objet de la présente étude. Le site expérimental choisi est localisé dans la région des Niayes où sévit l'infection sous forme hyperenzootique (GUEYE et al., 1982, 1984, 1989) à cause de la présence d'une population importante de la tique vectrice en l'occurrence *Amblyomma variegatum* (FABRICIUS, 1794) et d'un taux de transmission élevé de l'infection (GUEYE et al. 1993). L'essai est réalisé durant la saison sèche à la période d'intense activité des nymphes qui débute au mois de décembre (GUEYE et al. 1986).

isolat

au laboratoire

.../...

Ref. UH PATHO MIN
Decembre 1985

MATERIEL ET METHODE

Le test est mené successivement en station et ^{du stock} sur le terrain. Au niveau de la station, les moutons reçoivent une inoculation ~~de la souche vaccinale~~ et font l'objet d'un suivi sérologique pour l'évaluation de la réponse immunitaire. Un prélèvement de sang est effectuée sur tous les moutons avant l'inoculation, puis aux 15^e et 21^e jours après la vaccination, afin de contrôler leur état immunitaire par la méthode de l'immunofluorescence indirecte. Au bout d'un mois, ces animaux sont transférés dans la zone des Niayes et exposés à l'infection naturelle en compagnie d'un lot de moutons témoins. Ils vont au pâturage durant la journée et une supplémentation alimentaire leur est distribuée à leur retour à l'enclos. Ils sont examinés quotidiennement. La température rectale est prise le matin.

En cas d'hyperthermie, un frottis de sang est réalisé pour observation au laboratoire. Sur les individus morts, un frottis de cortex cérébral est effectué afin de rechercher *Cowdria ruminantium* dans l'endothélium des vaisseaux.

Matériel animal

Les moutons Waralé (Touabir x Peulh) utilisés proviennent de la zone sahélienne où la tique *A. variegatum* est très rare et très localisée. Ces animaux tous adultes et des deux sexes sont en principe indemnes de coudriose. Deux lots d'une trentaine de bêtes sont constitués.

- Lot 1 : lot témoin
- Lot 2 : moutons vaccinés

Vaccin

Il consiste de corps élémentaires du stock "Sénégal,"
~~C'est la souche Sénégal OR 150 du 25.01.99~~ atténuée par passage ^F sur culture de cellules endothéliales. 1 ml de surnageant de culture est dilué dans 29 ml de tampon de sucrose phosphate glutamate pH 7,0. Chaque animal reçoit par voie intraveineuse 1 ml de la suspension ainsi constituée (JONGJAN et al., 1993).

bovines

.../...

du 21^e passage

Production d'antigène

Le même stock sénégalais

~~La souche sénégalaise~~ de *Cowdria ruminantium*, ~~originnaire de la zone des Niayes~~ et entretenue sur cultures cellulaires, est utilisée comme antigène. Cet antigène est conservé sous forme de corps élémentaires et de morula^e à -20°C en aliquots de 200 μ l.

*J. Martinet
Dal, 1990,*

Immunofluorescence indirecte

Après décongélation, la suspension d'antigène est diluée au 1/100 dans du PBS (pH = 7,4) et déposée sur des lames à immunofluorescence à raison de 10 μ l par spot. Les lames sont séchées puis fixées avec du méthanol et utilisées immédiatement. Sur chaque spot, on dépose 10 μ l de sérum dilué au 1/80 et on incube en atmosphère humide à la température du laboratoire pendant 30 mn. Chacune des lames porte un sérum négatif et un sérum positif, dilués au 1/80, servant de témoins de spécificité. Les lames sont ensuite lavées une fois avec du PBS puis trempées dans cette solution durant 10 mn. Du sérum anti-IgG bovines conjugué à la fluoresceine et dilué au 1/100 dans du PBS contenant 0,01 p. 100 de bleu Evans à 1 p. 100 est ajouté. Les lames sont remises en atmosphère humide pendant 30 mn puis lavées et trempées comme précédemment dans du PBS.

Les lames sont montées avec du glycérol et examinées au microscope à immunofluorescence.

RESULTATS

~~Essais de~~ Vaccination en station

L'analyse des sérums recueillis sur les moutons avant l'injection de la souche atténuée et aux 15^e et 21^e jours après cette inoculation donne par la technique de l'immunofluorescence indirecte les résultats suivants :

- pour le prélèvement pré vaccinal, les 30 animaux sont tous négatifs
- quant aux prélèvements des 15^e et 21^e jours, ils se sont révélés positifs pour l'ensemble des moutons.

Aucune mortalité n'est enregistrée au bout d'un mois de maintien de ces animaux en station.

Exposition à l'infection naturelle

Les tableaux 1 et 2 illustrent en détail le comportement des deux lots sur le terrain.

- Lot témoin (Tableau 1)

Sur 30 moutons, seuls 8 ont survécu après leur introduction dans la zone d'enzootie. Les 22 autres individus sont morts de cowdriose. Tous ces cas de mortalité sont survenus dans un délai de moins de 3 mois.

- Lot des moutons vaccinés (Tableau 2)

Sur les 30 animaux, 13 ont succombé à la suite de leur introduction dans la zone des Niayes. Au diagnostic, il est noté : 2 cas d'infection à *Cowdria ruminantium*, associés à *Ehrlichia ovina* (LESTOQUARD et DONATIEN, 1936) et à *Anaplasma ovis* ~~Lestoquard, 1924~~, 3 cas d'ehrlichiose ~~fatale~~ ainsi que 2 ~~individus morts~~ d'anaplasmoses. Pour les 6 autres moutons, aucun hémoparasite n'est décelé sur les frottis de sang, ni aucune *Cowdria* au niveau du cortex,

Di Domizio, 1919,

DISCUSSIONS

Malgré la pression pathologique endémique due à la cowdriose dans la région des Niayes, les animaux qui ont reçu la souche atténuée supportent ^{mieux} bien l'exposition à l'infection naturelle ^{que les} comparativement aux individus non vaccinés. L'issue fatale des deux cas d'infection à *Cowdria* observés ^{peut} résulter de l'interaction avec d'autres rickettsioses en l'occurrence l'ehrlichiose et l'anaplasmoses qui ont ^{pu} certainement réduire la capacité de résistance des moutons et favorisé ^{la} multiplication des *Cowdria*. Le même phénomène a été observé sur le site actuel lors de travaux antérieurs relatifs à des essais d'immunisation d'un lot de moutons en pratiquant la méthode de l'infection suivie de traitement (GUEYE et al., 1989) ; sur 17 animaux inoculés avec une souche virulente puis traités, 2 individus ayant contracté l'ehrlichiose ou l'anaplasmoses ont en effet présenté à leur mort des *Cowdria* dans le cortex cérébral.

TABLEAU 1 : LOT TEMOIN (Introduction dans la région des Niayes, 3 décembre 1992)

N°	DUREE DE VIE APRES INTRODUCTION (jours)										DIAGNOSTIC
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90 Fin	
M 841			↓								C
M 842											
M 843			↓								C
M 844			↓								C
M 845		↓									C
M 846			↓								C
M 847			↓								C
M 848			↓								C
M 849			↓								
M 850			↓								
M 851				↓							C
M 852		↓									C
M 853											
M 854			↓								C
M 855											
M 856											
M 857			↓								C
M 858			↓								C
M 859			↓								C
M 860											
M 861		↓									C
M 862			↓								C
M 863			↓								C
M 864											C
M 865											C + A
M 866											
M 867			↓								C
M 868											C
M 869											C
M 870			↓								C

C = cowdriose

A = anaplasnose

↓ début de l'hyperthermie

TABLEAU 2 : LOT 2 - MOUTONS VACCINES (Introduction dans la région des Niayes, 3 décembre 1992)

N°	DUREE DE VIE APRES INTRODUCTION (Jours)											DIAGNOSTIC
	0	1	20	3	40	50	60	70	80	90 Fin		
M 761												
M 762												A
M 763												EAC
M 764												E
M 765												
M 766												
M 767												
M 768												A
M 769												E
M 770												
M 771												A
M 772												
M 773												E
M 774												
M 775												A
M 776												EC
M 777												E
M 778												
M 779												
M 780												
M 781												
M 782												E
M 783												E
M 784												
M 785												
M 786												
M 787												
M 788												E
M 789												E
M 790												

A = anaplasnose

E = éhrlichiose

C = cowdriose

↓ = début hyperthermie

Les résultats de ces deux expériences d'immunisation montrent par ailleurs qu'une infection à *Ehrlichia ovina* ou à *Anaplasma ovis* bien que pathogène n'entraîne pas forcément la prolifération de *Cowdria* chez un animal immunisé soumis à la transmission naturelle de la rickettsie. L'infection à *Cowdria* est par contre beaucoup plus ~~mortelle, et cette létalité~~ ^{severe, de 99%} est bien illustrée dans le cas particulier du mouton M 776. Ce mouton présentant une hyperthermie pendant 4 jours et des *Ehrlichia* dans le sang est ramené à la station à des fins d'isolement de souche. Il meurt au bout de 3 jours. A l'autopsie, on note un hydrothorax important, une hydropéricardite, une légère ascite, des lésions hémorragiques très marquées, notamment au niveau des reins ; le frottis du cortex cérébral révèle de nombreux amas de *Cowdria ruminantium*. Le sang de cet animal est inoculé au mouton M 754 qui fait une hyperthermie au 12^e jour et meurt au 15^e jour sans que l'on puisse retrouver les *Ehrlichia* identifiés précédemment. Tout s'est passé chez le mouton M 776 comme si l'ehrlichiose a préparé le lit d'une nouvelle infection à *Cowdria* qui s'est imposée alors comme affection majeure, fatale pour l'hôte.

Des cas de mortalité dont l'étiologie reste imprécise sont en outre enregistrés lors d'introduction de moutons de la zone sahélienne dans la région des Niayes plus humide et plus froide (GUEYE et al., 1989). S'agit-il d'un problème d'adaptation au milieu ?

CONCLUSIONS

La souche atténuée de *Cowdria ruminantium* confère une immunité aux moutons. Cette protection est cependant à elle seule insuffisante pour assurer la survie des animaux dans des zones écologiques comparables à la zone des Niayes, où prolifèrent de nombreux vecteurs capables de transmettre diverses rickettsioses. La vaccination combinée à une réduction stratégique des tiques peut contribuer à consolider la stabilité enzootique vis-à-vis de la cowdriose en même temps que seront minimisées les pertes directement liées à l'infestation. *Par ailleurs, le vaccin atténué ne résout pas les problèmes posés par la diversité antigénique de C. ruminantium, comme l'ont montré Jongejans et al. (1993)*

BIBLIOGRAPHIE

- ✓ 1 - GUEYE (A.), MBENGUE (Mb.), KEBE (B.), DIOUF (A.)
Note épizootologique sur la cowdriose bovine dans les Niayes du Sénégal.
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1982, **35** (3) : 217-219.

- ✓ 2 - GUEYE (A.), MBENGUE (Mb.), DIOUF (A.)
Situation Bpizootologique actuelle de la cowdriose des petits ruminants dans les Niayes du Sénégal.
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1984, **37** (3) : 268-271.

- ✓ 3 - GUEYE (A.), VASSILIADES (G.)
Traitement et perspectives de chimioprophylaxie de la cowdriose ovine par une oxytétracycline à longue durée.
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1985, **38** (4) : 428-432.

- ✓ 4 - GUEYE (A.), MBENGUE (Mb.), DIOUF (A.), SEYE (M.)
Tiques et hémoparasitoses du bétail au Sénégal.
I - La région des Niayes.
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1986, **39** (3-4) : 381-393.

- ✓ 5 - GUEYE (A.), MBENGUE (Mb.), DIOUF (A.), VASSILIADES (G.)
Prophylaxie de la cowdriose et observation de la pathologie ovine dans la région des Niayes.
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1989, **42** (4) : 497-503.

- ✓ 6 - GUEYE (A.), MBENGUE (Mb.), DIOUF (A.)
Epidémiologie de la cowdriose au Sénégal.
I - Etude de la transmission et des taux d'infection d'*Amblyoma variegatum* (Fabricius, 1794) dans la région des Niayes.
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1993 (à paraître)

- ✓ 7 - JONGJAN (F.)
Protective immunity to heartwater (*Cowdria ruminantium* infection) is acquired after vaccination with in vitro attenuated rickettsiae, Infect. Immun., 1991, **59** : 729-731.

- ✓ 8 - JONGJAN (F.), VOGEL (S.W.), GUEYE (A.), and UILENBERG (G.)
Vaccination against heartwater using in vitro attenuated *Cowdria ruminantium* organisms.
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1993 (à paraître)

- ✓ 9 - Martinez, D., Swinkels, J., Camus, E., Jongjan, F.
Comparaison de trois antigènes...
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 1990, **43** (2) : 159-166

RESUME

Les auteurs rapportent les résultats d'un essai sur le terrain d'une souche sénégalaise de *Cowdria ruminantium* atténuée par passage sur culture cellulaire. 30 moutons vaccinés et 30 moutons témoins sont introduits dans la région des Niayes et font l'objet d'un suivi quotidien. Dans le lot témoin, 22 cas de mortalité dus à la cowdriose sont observés dont seul 1 cas est associé à l'anaplasmosse. Dans le lot vacciné, 13 animaux sont morts et des *Cowdria* n'ont été décelés que sur 2 moutons qui souffraient auparavant d'ehrlichiose ou d'anaplasmosse ; 3 cas d'ehrlichiose et 2 cas d'anaplasmosse ~~ont été~~ sont également enregistrés. Le problème de l'interaction pathologique semble être à l'origine de la baisse de la résistance chez les deux individus vaccinés qui présentent des *Cowdria* dans le cortex cérébral. Les autres animaux du lot n'ont pas présenté une infection à *Cowdria*