

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à la paratuberculose : interactions entre l'infection ou la vaccination et le dépistage de la tuberculose chez les ruminants

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 7 août 2012 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) pour la réalisation de l'expertise suivante : « Evaluation du risque lié à l'utilisation de certains vaccins contre la paratuberculose ».

L'intitulé de la saisine est reformulé de la façon suivante : « Paratuberculose : interactions entre l'infection ou la vaccination et le dépistage de la tuberculose chez les ruminants », de manière à mieux refléter le contenu des questions posées.

La saisine interroge en effet sur les points suivants :

1 – « *Quel est l'intérêt, en termes de protection, de vacciner contre la paratuberculose des bovins, ovins ou caprins de plus d'un mois ?* »

2 – « *Quel est actuellement l'impact de la paratuberculose sur le dépistage de la tuberculose par intradermotuberculination simple ou comparative ou par dosage de l'interféron gamma ?* » Le traitement de cette question est réalisé en répondant aux interrogations suivantes :

- Connaissances sur la situation actuelle de la paratuberculose : bovins, ovins et caprins,

- Eléments relatifs aux interférences entre paratuberculose et dépistage de la tuberculose selon la méthode utilisée intradermotuberculination simple ou comparative ou par dosage de l'interféron gamma.

3 – « *Comment la vaccination contre la paratuberculose interfère-t-elle avec le dépistage de la tuberculose chez les bovins, ovins et caprins ? (selon le type de vaccin, le protocole de vaccination, la méthode de dépistage) ?* »

4 – « *Compte tenu de l'épidémiologie de ces deux maladies, quels sont les bénéfices et les risques d'une vaccination des bovins, ovins et caprins contre la paratuberculose, en particulier vis-à-vis du dépistage de la tuberculose ?* »

L'avis répond aux différentes questions posées.

CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La paratuberculose des ruminants reste une maladie répandue dans les élevages français, aux conséquences bien connues et de maîtrise difficile, compte tenu des difficultés qu'engendre cette affection en matière de diagnostic et de dépistage, de vaccination (disponibilité des vaccins, risques d'interférence avec le dépistage de la tuberculose bovine, ...) et du manque de connaissances sur l'épidémiologie de la maladie.

L'Afssa avait publié un rapport d'expertise collective en 2009 sur la paratuberculose bovine qui soulignait ces difficultés et émettait un certain nombre de recommandations sur la nécessité de disposer d'un guide méthodologique pour la réalisation d'enquêtes épidémiologiques, sur l'importance d'un laboratoire de référence, sur le suivi des plans de lutte et sur les modalités de vaccination.

Certaines régions françaises sont particulièrement demandeuses d'une augmentation des moyens de lutte médicale et médico-sanitaire contre la paratuberculose. Des demandes d'autorisation de mise sur le marché (AMM) ou d'importations de vaccins contre la paratuberculose ont été adressées à l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV), les dossiers proposant de vacciner sans limite d'âge, alors que la réglementation nationale impose une vaccination avant l'âge d'un mois du fait, notamment, des interférences avec le dépistage de la tuberculose (cf. article 37 de l'arrêté du 15 septembre 2003 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovinés et caprins).

La problématique d'interférence entre la vaccination contre la paratuberculose et le dépistage de la tuberculose revêt une importance particulière aujourd'hui, car la France est confrontée à la présence de foyers résurgents (ou non) de tuberculose bovine et le dépistage de cette maladie est un point crucial de la maîtrise de son évolution sur le territoire national.

Jusqu'à présent, les données disponibles sur les vaccins contre la paratuberculose n'ont pas permis d'envisager une vaccination des animaux (bovins et caprins) au-delà d'un mois d'âge ; la vaccination actuelle à moins d'un mois imposant en outre une adaptation des modalités de dépistage :

- Intradermotuberculation comparative (IDC) sur animaux vaccinés, seulement à partir de l'âge de 2 ans ;
- IDC sur animaux non vaccinés dès 6 semaines d'âge.

L'Afssa, interrogée en 2009 sur la vaccination des caprins (saisine n° 2009-SA-0169) avait souligné le manque de données disponibles, notamment pour cette espèce.

Compte tenu des nouvelles demandes d'AMM ou d'importations de vaccins et des récents travaux qui ont pu être menés dans ce domaine, la saisine 2012-SA-0198 de la DGAL pose plusieurs questions relatives à la vaccination contre la paratuberculose des ruminants (bovins, ovins, caprins).

ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé « Santé animale » (CES SANT) sur la base d'un rapport initial établi par un groupe de rapporteurs issus de

son comité. Le rapport a été présenté en CES SANT le 12 décembre 2012 et validé en séance du 9 janvier 2013.

L'expertise effectuée s'est appuyée sur les éléments suivants :

- la lettre de saisine de la DGAL,
- l'avis de l'Afssa n°2009-SA-0169 relatif à des précisions concernant l'application de l'article 39 point II de l'arrêté ministériel du 15 septembre 2003 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovinés et des caprins,
- le rapport d'expertise collective sur la Paratuberculose des ruminants (Afssa, 2009),
- les documents transmis par l'ANMV,
- la consultation des rapports et des publications scientifiques cités en annexe, la recherche bibliographique ayant été réalisée à partir des sites Pub Med, Current contents, Web of Science,
- les réunions de travail entre les rapporteurs,
- les échanges entre les rapporteurs et le CES SANT.

ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

Préambule : historique de la vaccination contre la paratuberculose

- Prémunition

La vaccination contre la paratuberculose des ruminants a été largement utilisée pendant plusieurs décennies dans notre pays. Cette vaccination à l'aide d'un vaccin vivant reposait sur le principe de la prémunition qui consiste à inoculer une souche bactérienne vivante à un organisme afin de créer un état réfractaire à une surinfection. L'agent pathogène est administré avec un adjuvant capable de déclencher une forte réaction inflammatoire ayant pour objectifs de limiter la diffusion du germe dans l'organisme et de stimuler la réponse immunitaire. La protection conférée est supposée être maintenue tant que l'agent vaccinal vivant est présent dans l'organisme. On ne connaît pas avec précision les mécanismes immunitaires sur lesquels repose la prémunition. Il est toutefois probable que la réponse induite par les vaccins vivants soit différente de celle induite par les vaccins inactivés, le traitement par la chaleur dégradant les antigènes de nature protéique et libérant des antigènes à haute masse moléculaire absents des cultures bactériennes avirulentes.

C'est sur le principe de la prémunition que reposait la vaccination contre la paratuberculose des ruminants en France jusqu'en 2001 avec Néoparasec®, seul vaccin commercialisé à l'époque. Ce vaccin était composé de la souche 316F vivante atténuée et d'un adjuvant huileux minéral. Il était administré par voie sous cutanée dans le fanon chez les bovins, en arrière ou en avant de l'épaule chez les petits ruminants, en une seule injection effectuée le plus tôt possible après la naissance.

- Age à la vaccination :

Dans un cheptel infecté de paratuberculose, l'agent responsable (c'est-à-dire le bacille de Johne, ou *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* [Map]) est souvent présent en grande quantité dans l'environnement des animaux. Les jeunes ruminants sont les plus réceptifs à l'infection mais la mesure précise de la dose infectieuse minimale en fonction de l'âge n'est pas connue (Collins, 2003). La plus grande réceptivité des jeunes animaux serait liée au plus grand nombre de plaques de Peyer de l'iléon terminal, ce dernier

diminuant progressivement jusqu'à l'âge d'un an (Santema *et al.*, 2011). Il est admis que les veaux sont habituellement infectés avant l'âge de 6 mois (Windsor et Whittington, 2010). Toutefois, des animaux adultes peuvent aussi être infectés, par de fortes doses de Map (Collins, 2003 ; Windsor et Whittington, 2010). Dans une méta-analyse sur la réceptivité à Map en fonction de l'âge, représentant 8 groupes d'études et 140 bovins, la probabilité de développement de lésions après exposition à Map était estimée à 75% pour les veaux âgés de moins de 6 mois, à 50% pour ceux âgés de 6 à 12 mois et à 20% pour ceux dont l'âge est supérieur à 12 mois (Windsor et Whittington, 2010).

- Interférence avec le dépistage de la tuberculose

Avec un vaccin vivant capable de provoquer une prémunition, il apparaissait donc logique de vacciner préférentiellement les jeunes le plus rapidement possible après la naissance, avant qu'ils ne s'infectent. D'autre part, il a été démontré que la vaccination pratiquée avant l'âge d'un mois n'entraînait plus d'interférence avec le dépistage de la tuberculose chez des animaux de plus de 24 mois [intradermotuberculination comparative (IDC) ou simple (IDS)] (Saint Marc *et al.*, 1991). La vaccination a été pratiquée en France sur les bovins, ovins et caprins jusqu'en 2001, date d'arrêt de la commercialisation du vaccin Néoparasec®.

Ces différents éléments sont à la base des conditions réglementaires fixées pour la réalisation de la prophylaxie médicale de la paratuberculose bovine et caprine en France (*cf.* arrêté relatif à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovins et caprins¹).

- En résumé, dans son principe (puisque aucun vaccin n'est actuellement disponible sur le marché français), la vaccination contre la paratuberculose est autorisée dans les cheptels sous réserve de la démonstration de l'absence de tuberculose et de la présence de la paratuberculose. Elle doit être réalisée avant l'âge d'un mois et le maintien de la qualification officiellement indemne de tuberculose du cheptel est conditionné à l'obtention de résultats négatifs aux tests d'IDC pratiqués sur les animaux vaccinés de plus de deux ans ou de plus de 6 semaines pour les animaux non vaccinés.

La vaccination est le plus souvent accompagnée de la mise en place de mesures sanitaires visant à réduire les risques de contamination au sein de l'effectif :

- isolement et élimination des malades,
- dépistage et amélioration de la conduite d'élevage visant à éviter que les matières fécales des adultes ne contaminent l'alimentation et le logement des jeunes,
- élimination des animaux reconnus infectés par test sérologique ou reconnus excréteurs fécaux de Map par culture ou PCR,
- contrôle du parasitisme et maîtrise de l'équilibre alimentaire des bovins sevrés.

La vaccination contre la paratuberculose est techniquement possible au moyen de vaccins inactivés adjuvés ou de vaccins à germes vivants atténués. Actuellement, seule la première catégorie de vaccins est disponible dans les pays de l'Union Européenne (UE), le seul vaccin vivant (Neoparasec®) qui avait une autorisation de mise sur le marché n'étant plus commercialisé depuis octobre 2001. Deux vaccins inactivés sont actuellement disponibles dans certains pays de l'UE : il s'agit des vaccins Gudair® et Silirum®, dont l'utilisation est réservée aux espèces de petits ruminants et aux bovins respectivement. Ces vaccins auxquels on peut ajouter le Mycopar®, commercialisé aux Etats-Unis, sont

¹ Arrêté du 15 septembre 2003 fixant les mesures administratives et techniques relatives à la prophylaxie sanitaire des Bovins et des caprins (chapitre VII). Cet arrêté n'intégrait pas les ovins, du fait de la très faible fréquence de l'infection par *M. bovis* dans cette espèce.

composés de bactéries entières tuées par la chaleur, adjuvés notamment par des huiles végétales et/ou minérales en émulsion (Patton, 2011).

Les vaccins composés de fractions cellulaires, les vaccins recombinants ou les vaccins à ADN sont en cours d'évaluation (Bastida et Juste, 2011).

1. Réponse à la question 1 : « Quel est l'intérêt, en termes de protection, de vacciner contre la paratuberculose des bovins, ovins ou caprins de plus d'un mois ? »

La maîtrise de la paratuberculose s'appuie classiquement sur trois leviers :

- la réduction de la transmission par un changement dans les conduites d'élevage,
- une diminution des sources virulentes par un dépistage et une réforme des animaux en phase clinique de la maladie ou excréteurs,
- l'augmentation de la résistance à l'infection/maladie par la pratique de la vaccination (Bastida et Juste, 2011).

1.1. Efficacité globale des vaccins contre la paratuberculose

L'efficacité des vaccins contre la paratuberculose a été analysée dans le rapport d'expertise collective sur la paratuberculose des ruminants (Afssa, 2009) et dans des revues générales sur le sujet (Harris et Barletta, 2001 ; Collins, 2003 ; Windsor, 2006 ; Patton, 2011 ; Bastida et Juste, 2011 ; Juste et Perez, 2011). On distingue des effets sur l'expression clinique (cas cliniques, mortalités, réformes), des effets sur l'excrétion (fréquence et/ou intensité d'excrétion de Map) et des effets sur les aspects lésionnels (fréquence et intensité des lésions digestives).

• Une méta-analyse englobant 118 expérimentations (45 pour l'espèce bovine, 49 pour l'espèce ovine, 24 pour l'espèce caprine) regroupées en 63 rapports et provenant de 14 pays a été publiée récemment (Bastida et Juste, 2011). Ces études sont pour moitié des études de terrain avec des comparaisons avant/après vaccination et, pour l'autre moitié, des comparaisons entre lots vaccinés/non vaccinés qui peuvent biaiser l'estimation de l'effet de la vaccination dans un sens ou dans un autre (sous-estimation dans les comparaisons vaccinés/non vaccinés dans un même troupeau liée à l'amélioration du statut immunitaire global des animaux, surestimation lorsque d'autres mesures sont prises conjointement à la vaccination).

Dans le tableau 1 ci-dessous figurent les résultats moyens obtenus pour les trois espèces de ruminants et pour les trois catégories d'effets. Chaque résultat est un pourcentage de réduction calculé par le ratio fréquence témoin-fréquence vacciné/fréquence témoin ; ce calcul étant pondéré par la taille des effectifs impliqués dans les différentes études.

Tableau 1 : Pourcentages (moyens, minimaux, maximaux) de réduction de l'expression clinique, de l'excrétion ou des aspects lésionnels obtenus après vaccination contre la paratuberculose (Bastida et Juste, 2011)

Type d'effets	Expression clinique	Excrétion	Aspects lésionnels
Bovins	96,0% [35%, 100%]	72,6% [-36%, 99%]	57,5% [17%, 58%]
Ovins	67,5% [14%, 91%]	76,4% [-10%, 93%]	89,7% [-3%, 100%]
Caprins	45,1% [34%, 82%]	79,3% [-57%, 95%]	94,8% [-17%, 97%]

Comparaison avec la situation initiale avant vaccination ou comparaison avec des animaux témoins non vaccinés

Suite à cette méta-analyse, la plupart des études dans les trois espèces de ruminants montrent un effet positif de la vaccination. Les réserves suivantes peuvent cependant être émises :

- La vaccination ne prévient pas totalement les conséquences de la maladie (symptômes, mortalité, réforme), et les résultats sont variables notamment en raison des protocoles conduits,
- L'effet sur l'excrétion est souvent étudié sous l'angle qualitatif (prévalence des animaux excréteurs) tandis que l'aspect quantitatif (charge bactérienne), probablement le plus intéressant, est moins documenté. La plus grande variabilité des résultats est obtenue pour cette variable « excrétion » (cultures fécales notamment).
- De la même manière, les lésions intestinales sont rarement évaluées.

Un consensus bibliographique se dégage des résultats obtenus lors de la vaccination contre la paratuberculose chez les ruminants : cette vaccination confère globalement une protection partielle avec une réduction des cas cliniques, de l'excrétion et du nombre d'animaux porteurs de lésions ou infectés. Cette protection partielle est confirmée expérimentalement.

Les résultats ne semblent pas être différents entre vaccins à bactéries entières atténuées ou tuées, entre souches ou selon le mode d'inactivation (Juste et Perez, 2011). Le mécanisme de protection conféré par le vaccin n'est pas bien connu : il ne prévient pas complètement, ni n'élimine complètement l'infection par Map, les animaux vaccinés contrôlent partiellement le développement de l'infection et des lésions, aboutissant à une diminution des signes cliniques et de l'excrétion de Map (Juste et Perez, 2011). Pour ce dernier point, l'effet de la vaccination s'exercerait davantage sur la quantité de bacilles excrétés (réduction de l'excrétion) que sur la prévalence sensu stricto des animaux excréteurs (van Schaik *et al.*, 1996).

La vaccination apparaît ainsi comme un outil complémentaire aux mesures hygiéniques, permettant une maîtrise de la maladie, mais pas de l'infection (Bastida et Juste, 2011).

- Par modélisation (analyse de sensibilité), il a été montré que le contrôle de la transmission de Map et de la prévalence de l'infection au sein d'un troupeau nécessitait une approche globale intégrant vaccination, dépistage-élimination et amélioration de l'élevage des jeunes (Lu *et al.*, 2013). L'analyse coût-bénéfice de la vaccination paratuberculose dans les troupeaux ayant plus de 5% de cas cliniques annuels est très favorable (van Schaik *et al.*, 1996).

Un usage à large échelle de la vaccination systématique contre la paratuberculose, associé à des mesures défensives, a été signalé chez les caprins en Norvège (Saxegaard et Fodstad, 1985) et les ovins à Chypre (Crowther *et al.*, 1976), en Islande et en Australie (Reddacliff *et al.*, 2006) avec des résultats très significatifs aboutissant à une quasi-disparition des signes cliniques. De tels résultats ne semblent pas avoir été obtenus pour les bovins (Argenté, 1991, in Benedictus et Kalis, 2003) bien qu'un programme de vaccination bovine démarré en 1975 en Bretagne et poursuivi pendant 12 ans (vaccin vivant Neoparasec© administré sur les animaux de moins d'1 mois) ait permis de réduire notablement le nombre de cas cliniques et le pourcentage d'animaux excréteurs (cf. tableau 2).

Tableau 2 : Evolution du pourcentage d'excréteurs fécaux détectés par culture fécale sur des bovins, appartenant à des cheptels laitiers ayant été vaccinés ou non avec un vaccin vivant, avant l'âge d'un mois, durant la période d'application du plan de lutte. (Argenté, 1991)

	Bovins issus des cheptels non vaccinés	Bovins issus des cheptels vaccinés
1 ^{ère} année	6,5 %	1,2 %
2 ^{ème} année	5,7 %	1,7 %
3 ^{ème} année	2,7 %	0,7 %

(Culture fécale réalisée à partir de l'âge de deux ans - Différence significative entre les animaux vaccinés et les animaux non vaccinés pour la première et la deuxième année de résultats)

1.2. Efficacité des vaccins contre la paratuberculose lors d'administration à des animaux de plus d'un mois d'âge

Chez les caprins

Trois études seulement décrivent les résultats de la vaccination contre la paratuberculose chez des caprins âgés de plus d'un mois (2 études), ou chez des adultes (1 étude).

- L'étude de Corpa *et al.*, (2000a) porte sur la comparaison de la réponse immunitaire pendant une durée de 18 mois après la vaccination, avec le vaccin Gudair®, en fonction de l'âge de l'animal (caprin et ovin) au moment de la vaccination, (15 jours ou 5 mois). Une meilleure persistance du taux d'IFNg et des titres anticorps plus élevés et plus persistants pour les animaux vaccinés à 5 mois montrent que les animaux plus âgés ont une meilleure capacité de réponse. Les auteurs suggèrent qu'une maturation incomplète du système immunitaire des animaux âgés de 15 jours pourrait expliquer cette différence de résultats. Cependant, dans ce travail, il n'y a pas d'étude de l'effet sur l'expression clinique ou sur l'excrétion.

- Dans l'étude de Singh *et al.*, (2007), des chevreaux âgés de 4 à 6 mois sont vaccinés avec le vaccin Gudair® et éprouvés avec une dose orale de $3-5 \times 10^9$ cfu de Map à 75 jours et 275 jours post-vaccination. Le suivi est effectué durant 475 jours. Les résultats indiquent un nombre d'animaux excréteurs et une intensité d'excrétion plus faibles chez les chevreaux vaccinés. Les scores lésionnels (lésions focales ou diffuses) dans les nœuds lymphatiques et l'intestin sont également plus faibles.

- La seule étude concernant la vaccination de chèvres adultes est celle de Corpa *et al.* (2000b). Dans un troupeau de chèvres fortement atteint de paratuberculose clinique (taux de mortalité >15% par an imputé à la paratuberculose), la moitié des chèvres a été vaccinée avec le vaccin Gudair® (1 mL en sous cutané) et les réformes ont été enregistrées au cours des deux années suivantes. Chez les animaux vaccinés, le taux de réforme a été moindre (10,5 % versus 30,8%) de même que le nombre de cas cliniques (6 cas versus 17 cas). Dans le groupe vacciné, 4 cas parmi les 6 enregistrés au total sont apparus au cours des six premiers mois.

La quantité de données disponibles sur la vaccination des caprins de plus d'un mois contre la paratuberculose est très faible et mériterait d'être renforcée. Compte tenu de ces éléments, il apparaît que la vaccination est efficace pour induire une réponse immunitaire chez les caprins âgés de 5 mois. Cette réponse pourrait même être supérieure à celle obtenue après vaccination à l'âge de 15 jours.

Il n'y a qu'une seule étude sur la vaccination des chèvres adultes, celle-ci concluant à une réduction de l'expression clinique et du nombre de réformes dans le groupe des animaux vaccinés dans les deux ans suivant la vaccination.

Chez les ovins

Une large utilisation du vaccin contre la paratuberculose a été signalée chez les ovins en Australie, en Nouvelle-Zélande, en Espagne, au Royaume-Uni et à Chypre (Juste et Perez, 2011).

Il existe trois études importantes en termes d'effectif, en Islande, à Chypre et en Australie, dans lesquelles le vaccin contre la paratuberculose a été administré à des ovins âgés de plus d'un mois.

- En Islande : le vaccin constitué de 2 souches bovines tuées et adjuvées avec de l'huile d'olive et une huile minérale (Sigurdsson, 1960 in Stehman, 1996) a été administré aux agneaux âgés de 4 à 6 mois et a permis une réduction de la mortalité de 93% (étude dans 141 fermes sur 3 273 agneaux vaccinés et 3 184 agneaux non vaccinés).

A la suite de ces résultats, une vaccination obligatoire des ovins a été mise en place en Islande en 1966 dans les zones enzootiques suite à l'introduction de la paratuberculose en 1933. Les pertes de production liées à la paratuberculose ovine sont alors devenues minimales, et la maladie ne serait plus détectable dans certains districts (Fridriksdottir *et al.*, 2000).

- A Chypre, l'ensemble des ovins (jeunes et adultes) des troupeaux reproducteurs nationaux (3 000 animaux) a été vacciné (vaccin vivant atténué Weybridge) à la suite de pertes liées à la paratuberculose (taux de mortalité annuel de 4%). Cette vaccination a permis la maîtrise de la forme clinique de la paratuberculose ovine sur le territoire dès les premiers mois après la vaccination (Crowther *et al.*, 1976).

Aucun chiffre n'est cependant disponible dans la publication.

- En Australie, dans l'étude de Reddacliff *et al.* (2006), le protocole vaccinal prévoyait une injection du vaccin Gudair® à un âge de 1 à 3 mois. Les résultats de cette étude sont à l'origine de l'enregistrement du vaccin Gudair® en Australie (pour les ovins et les caprins). L'étude a été réalisée dans 3 fermes ovines présentant une incidence de la paratuberculose clinique de 5 à 15% par an. Par ferme, 200 agneaux ont été vaccinés et 200 conservés comme témoins. Pendant 4-5 ans, les animaux moribonds ont été autopsiés tous les 6 mois. Les principaux résultats de cette étude font apparaître pour les animaux vaccinés par rapport aux témoins :

- une mortalité plus tardive et avec une fréquence moindre (7 animaux morts versus 80, soit une réduction de près de 90%),
- un début d'excrétion plus tardif, une prévalence d'excrétion plus faible et une intensité d'excrétion également plus faible. La réduction des infections subcliniques a été estimée à 66%.

En revanche, les sept animaux morts dans le groupe vacciné correspondaient à de forts excréteurs et étaient porteurs de lésions multi-bacillaires et diffuses. Ce type d'animaux joue un rôle majeur dans la transmission.

Depuis 2004, le vaccin est un élément central du contrôle de la paratuberculose ovine en Australie (Windsor, 2006).

Deux autres études sont à signaler :

- Une étude sur la vaccination avec Gudair® de la quasi-totalité d'un troupeau ovin (8 000 têtes, 25% de mortalité annuelle ; petit groupe témoin correspondant à 7% des animaux) accompagnée d'importantes mesures sanitaires (réforme, diminution de la densité d'animaux, renouvellement accru) a permis de diminuer la mortalité annuelle de 24 à 3% en 4 ans. Cette amélioration est apparue à partir de la troisième année. Les prévalences d'excrétion étaient significativement différentes entre les groupes vaccinés et contrôles dès la première année post-vaccination (McGregor, 2004). La comparaison des

animaux vaccinés à 3 mois, 8 mois et 2 ans suggère une efficacité identique, et satisfaisante pour les 2 classes d'âge les plus jeunes seulement (Windsor, 2006).

- L'impact de la vaccination après infection expérimentale a été étudié par Gwozdz *et al.* (2000) avec un vaccin vivant atténué. Les ovins (2x14) ont été infectés oralement à l'âge d'1 mois et demi ($4,4 \times 10^8$ Map) puis vaccinés (1x14) à l'aide d'un vaccin vivant atténué 15 jours plus tard. Un an plus tard, en comparaison avec les non vaccinés, la proportion d'animaux cliniquement atteints est significativement moins grande (2/14 versus 7/14) et la prévalence d'infection significativement plus faible (PCR : 2/14 versus 8/14) chez les animaux vaccinés.

La très grande majorité de ces études sur l'efficacité de la vaccination chez les ovins âgés de plus d'un mois a été réalisée sur le terrain, dans des troupeaux présentant une forte prévalence de cas cliniques et comporte donc différents biais rendant l'interprétation difficile. En particulier, l'effet propre du vaccin dans les résultats par rapport aux autres mesures sanitaires est très difficile à évaluer. A l'inverse, l'échelle d'étude donne un poids particulier à ces études de terrain.

Globalement, la vaccination d'ovins âgés de 1 à 6 mois a permis un contrôle clinique de la paratuberculose à grande échelle (Islande, Australie) dans les troupeaux fortement infectés et ce, dans un délai variant de quelques mois à quelques années. Lorsque la prévalence d'excrétion a été mesurée, la vaccination a retardé et diminué l'excrétion mais une proportion d'animaux vaccinés ont été identifiés comme fort excréteurs. La réponse est comparable pour les animaux vaccinés à 3 ou à 8 mois. Enfin, chez des animaux préalablement infectés par Map 15 jours auparavant, la vaccination à 2 mois d'âge semble permettre une réduction de la prévalence d'infection et de l'expression clinique.

Chez les bovins

Trois études (4 publications) ont porté sur la vaccination de vaches adultes en conditions naturelles. Une étude expérimentale a porté sur la vaccination de veaux à l'âge de 2 mois suivie d'une épreuve virulente.

- Une étude aux Pays-Bas dans 8 fermes laitières (851 vaches) avec une forte incidence des cas cliniques a porté sur la vaccination de l'ensemble des animaux jeunes et adultes la première année, puis uniquement des jeunes les années suivantes, à l'aide d'un vaccin tué avec adjuvant huileux (vaccin Lelystad) (Benedictus *et al.*, 1988). L'examen des réformes pour cause de paratuberculose a montré une réduction de 13,9 à 1,8% des cas cliniques dès la fin de la seconde année de vaccination sans mesures hygiéniques associées.

Pour les auteurs, ces résultats montrent l'absence d'effets néfastes de la vaccination chez les adultes et une très nette amélioration de la maîtrise de la paratuberculose clinique. Cette étude s'est inscrite dans un programme plus large de vaccination en élevage laitier aux Pays-Bas avec vaccination des veaux ou de la totalité du troupeau.

Malgré des résultats favorables aux plans clinique et économique, ce programme a été abandonné dans les années 90 en raison de la persistance de l'infection dans les troupeaux vaccinés, voire d'un taux d'infection comparable entre troupeaux vaccinés et non vaccinés, et de l'interférence avec le dépistage de la tuberculose bovine (Benedictus *et al.*, 2000 ; Benedictus et Kalis, 2003 ; Santema *et al.*, 2011).

- Le travail de Garcia-Pariente *et al.* (2005) a été réalisé dans un troupeau de 468 vaches laitières présentant 12 % de cas cliniques annuels (Espagne). Dans cette étude, 75% du troupeau a été vacciné (toutes classes d'âge confondues) avec Silirum© (CZ Veterinaria ; vaccin inactivé par la chaleur avec adjuvant huileux) tandis que 25% de l'effectif ont été gardés comme témoin.

Le suivi durant 30 mois a montré un taux de réforme de 48% chez les témoins contre 39% chez les vaccinés. Chez les animaux réformés qui n'ont pas été vaccinés, 92% d'entre eux ont présenté des lésions de paratuberculose, dont 34,6% de type diffus, tandis que ces chiffres étaient respectivement de 56,6 et 15,1% pour les animaux réformés et vaccinés.

- L'étude de Juste *et al.* (2009) a été réalisée dans 6 troupeaux laitiers présentant une prévalence annuelle de 2 à 10% de paratuberculose clinique (Espagne, Pays Basque). Quatre troupeaux ont fait l'objet d'une vaccination de l'ensemble des animaux présents la première année et d'une vaccination des génisses de 1 à 2 mois les années suivantes (vaccin Silirum©), sans mesures hygiéniques associées. Deux troupeaux ont été gardés comme témoins avec des mesures sanitaires offensives (dépistage/élimination). Les variables mesurées étaient l'excrétion fécale (par PCR et culture) et la production laitière sur 3 ans.

Une réduction significative de la prévalence d'animaux excréteurs de Map dans la 2^{ème} année après la vaccination par rapport à la situation initiale a été mise en évidence. Celle-ci était comparable voire légèrement supérieure pour les troupeaux vaccinés par rapport aux troupeaux appliquant des mesures sanitaires (86 versus 60% en PCR, 68 versus 46% en culture). La réduction de l'intensité de l'excrétion (cfu/jour/100 vaches) a été plus marquée dans le troupeau non vacciné (76 versus 94% en culture). Un effet significatif positif de la vaccination a été mis en évidence pour la production laitière.

La publication de Alonso-Hearn *et al.* (2012) a poursuivi l'analyse de l'expérimentation précédente en comparant les réformes des troupeaux vaccinés (n=50) et non vaccinés (n=38) : les signes cliniques (28 versus 39%) et l'excrétion fécale de Map (64 versus 80%) ont été moindres chez les animaux vaccinés par rapport aux témoins tandis que leur âge de réforme moyen était supérieur d'une année.

Les auteurs des deux publications suggèrent une modification de l'évolution de l'infection suite à la vaccination.

- L'étude de Munoz *et al.* (2005) porte sur la vaccination de veaux à l'âge de 2 mois avec Silirum© suivie d'une épreuve virulente 2 mois plus tard.

La vaccination a réduit l'incidence des lésions digestives, celles-ci étant principalement de type tuberculoïde (granulome en régression, paucibacillaire). Toutefois 1 animal vacciné sur 5 a présenté des lésions diffuses.

Les trois études portant sur la vaccination de vaches laitières adultes vis-à-vis de la paratuberculose aboutissent à des conclusions similaires et favorables concernant une réduction des réformes et des cas cliniques. Pour deux études, une réduction relative des prévalences et/ou des excréctions de Map chez les animaux de réforme vaccinés est également notée. Dans une étude, la vaccination de l'ensemble du troupeau permet d'obtenir des résultats comparables en 2 ans à une prophylaxie sanitaire offensive de type dépistage/élimination.

Toutefois, ces études restent limitées en nombre, leur interprétation doit être effectuée avec prudence en raison des possibles biais méthodologiques évoqués plus haut et les résultats, en termes d'efficacité, sont relativement modestes.

2. Réponse à la question 2 : « Quel est actuellement l'impact de la paratuberculose sur le dépistage de la tuberculose par intradermotuberculation simple ou comparative ou par dosage de l'interféron gamma ? »

2.1 Epidémiologie de la paratuberculose en France

Chez les bovins-ovins : il n'existe pas de données chiffrées précises sur la prévalence de la paratuberculose en France pour les espèces bovines et ovines. Les informations disponibles au travers des plans de lutte des groupements de défense sanitaire (GDS), ou par les montants d'achat de vaccins (jusqu'en 2001) amènent à penser que cette maladie est présente dans la plupart des bassins de production. Dans une enquête réalisée en 1998 auprès des GDS, Direction des services vétérinaires (actuellement appelées Direction départementale de la protection des populations) et laboratoires d'analyses, les données collectées avaient montré que la maladie était considérée comme préoccupante dans 60 % des départements. En 1999-2000, 62% des GDS de France métropolitaine avaient mis en place des actions de lutte à l'échelle de leur département (plan de maîtrise de la maladie ou actions ponctuelles) (Jubert, 2002).

Chez les caprins : une enquête nationale a conclu à une séroprévalence apparente de 55,2 % des cheptels (45,3% à 64,5 %, IC 95%) en considérant toutefois un cheptel infecté à partir de la présence d'un seul animal séropositif (Mercier, *et al.*, 2010a).

2.2. Interférences entre l'infection paratuberculeuse et le dépistage de la tuberculose

Du fait de leur proximité phylogénétique, certaines espèces de mycobactéries comme *Mycobacterium bovis*, l'agent de la tuberculose bovine et *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map), l'agent de la paratuberculose, ont des protéines immunodominantes dont l'homologie de séquence est forte (Ewer *et al.*, 2006 et Santema *et al.*, 2009). Ces similitudes antigéniques sont responsables de réactions croisées des réponses immunitaires, qu'elles soient cellulaires ou médiées par les anticorps entre ces deux agents. Lorsque les ruminants sont immunisés vis-à-vis de Map, à la suite d'une infection naturelle ou de la vaccination, des réactions croisées apparaissent et sont susceptibles d'interférer avec le diagnostic de la tuberculose bovine.

Deux types de tests sont susceptibles d'être utilisés pour le diagnostic de la tuberculose quelle que soit l'espèce de ruminants (bovins, ovins ou caprins) :

- l'intradermotuberculation simple avec les extraits protéiques purifiés (Proteine Purified Derivative ou PPD bovine [PPDb]), ou comparative (le plus souvent PPDb/PPD aviaire [PPDa] ou parfois PPDb/johnine [PPDj]) ;
- le test interféron gamma (IFNg) avec une étape de stimulation des cellules sanguines avec les extraits antigéniques PPDb et/ou PPDa, ou des antigènes recombinants du complexe ESAT6/CFP10 par exemple ;

• Cas des cheptels uniquement infectés de paratuberculose (risque d'erreur par excès du dépistage de la tuberculose)

Remarque préliminaire : La plupart des études publiées portant sur l'utilisation de tests d'intradermotuberculation ou de dosage de l'IFNg sur des animaux paratuberculeux ne donne que très rarement le détail des résultats des tests (absence fréquente des valeurs chiffrées d'épaississement du pli de peau et/ou de densité optique). Les données

concernant la réaction à la tuberculine bovine sont généralement non disponibles, essentiellement parce que cette information ne présente pas d'intérêt particulier pour le dépistage de la paratuberculose. D'autre part, un certain nombre d'études reposent sur des reproductions expérimentales réalisées dans des conditions souvent très différentes (taille de l'inoculum, voies d'inoculation, nature des souches de Map employées et espèces cibles, âge des animaux inoculés, règles d'interprétation des tests, ...).

- IDS-IDC : en règle générale et quelle que soit l'espèce, la réaction à la tuberculine aviaire lors d'intradermotuberculation est régulièrement supérieure à celle constatée avec la tuberculine bovine (IDC en faveur d'une infection par le groupe *M. avium*) (Thorel *et al.*, 1992, Waters *et al.*, 2004, Barry *et al.*, 2011, Bezos *et al.*, 2012, Delgado *et al.*, 2012).

- Quelques études signalent cependant l'existence d'animaux avec une réaction tuberculinique marquée à la tuberculine bovine pouvant conduire à une interprétation en faveur d'une infection à mycobactérie du groupe *bovis/tuberculosis* (Barry *et al.*, 2011, Flores-Villalva *et al.*, 2012). Leur nombre est très limité (un par étude au maximum), la situation est souvent transitoire et les individus concernés sont, la plupart du temps, jeunes (3 à 5 mois).

- La tuberculation utilisant un mélange d'antigènes recombinants ESAT-6 et CFP-10 ne provoque pas de réaction chez des animaux infectés de paratuberculose (Flores Villalva *et al.*, 2012).

- IFNg : les constatations faites avec l'IDC sont transposables au test IFNg. Pour la majorité des auteurs, les réactions obtenues avec la PPDa sont supérieures à celles obtenues avec la PPDb (Stabel et Whitlock, 2001, Dunn *et al.*, 2005). Cependant un auteur a obtenu des résultats quasi identiques avec les deux tuberculines chez des animaux infectés de paratuberculose (Walravens *et al.*, 2002) et d'autres signalent l'existence d'animaux classés faussement positifs (par rapport à la tuberculose) : Il s'agit toujours d'individus jeunes, âgés de moins de 16 à 17 mois pour les bovins (Barry *et al.*, 2011, Collins et Zhao, 1994), de moins de 24 mois chez les caprins (Bezou *et al.*, 2012). Des variations dans l'intensité des réponses aux tuberculines bovine et aviaire peuvent être constatées en fonction de l'importance de l'inoculum de Map et une étude réalisée sur des cervidés (Mackintosh *et al.*, 2011) souligne l'intervention possible du génotype de l'animal sur l'intensité, la durée et la précocité de la réponse au test IFNg (cervidés) sans conséquences pour le diagnostic de la tuberculose.

- Concernant la nature des antigènes utilisés, différents travaux ont porté sur l'utilisation d'un mélange « ESAT-6 CFP-10 » (Waters *et al.*, 2004, Aagaard *et al.*, 2012, Barry *et al.*, 2011, Flores-Villalva *et al.*, 2012) et ont montré que l'infection paratuberculeuse n'interférait que de manière très minime sur ce test. Dans la mesure où les gènes codant ESAT-6 et CFP-10 ne sont pas présents chez Map, les rares erreurs par excès constatées pourraient être dues à une co-infection par des mycobactéries porteuses de ces gènes telles que *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* et *M. riyadhense* (van Ingen *et al.*, 2009).

Par ailleurs, un test IFNg a été mis au point avec un mélange d'antigènes de Map correspondant à des protéines de latence (LAMP 1, LAMP2 et LAMP3) et a donné des résultats encourageants pour le diagnostic de la paratuberculose (Mikkelsen *et al.*, 2011). Le gène codant LAMP 2 n'est pas présent dans le génome de *M. bovis* ce qui permettrait d'envisager son utilisation pour la détection de l'infection paratuberculeuse.

• Cas des cheptels co-infectés de tuberculose et de paratuberculose (risque d'erreurs par défaut du dépistage de la tuberculose)

Ce point a été largement abordé dans l'avis de l'Afssa n°2009-SA-0169 et très peu d'études portant sur ce sujet ont été publiées depuis. D'une manière générale et aussi bien pour les bovins que les caprins, la sensibilité des tests s'avère meilleure chez les animaux infectés de tuberculose par rapport aux animaux tuberculeux et paratuberculeux. Le test IFNg apparait toutefois moins influencé par la co-infection par l'agent de la paratuberculose que le test cutané.

Certains animaux infectés de tuberculose peuvent être considérés comme « négatifs » indépendamment des lésions tuberculeuses qu'ils présentent :

- soit en raison de fortes réactions à la PPDa du fait de l'infection paratuberculeuse ;
- soit parce qu'ils sont en phase clinique de paratuberculose et donc à un stade d'anergie en relation avec cette affection.

La sensibilité d'un test à l'échelle du troupeau est nettement supérieure à sa sensibilité individuelle, lorsque les cheptels comprennent plusieurs animaux infectés. Ainsi, la détection de cheptels faiblement infectés risque d'être influencée négativement par la présence de la paratuberculose (en particulier dans les élevages avec un grand nombre de cas cliniques), alors que les troupeaux fortement infectés de tuberculose ont une probabilité supérieure d'être correctement détectés, même en cas de co-infection.

La paratuberculose est responsable de certaines erreurs par excès lors du dépistage de la tuberculose. Toutefois, dans la très grande majorité des cas, le doute quant au statut de l'animal peut être levé par l'emploi d'une IDC ou d'un test IFNg réalisé avec les tuberculines bovine et aviaire ou avec des antigènes spécifiques de la tuberculose (ESAT-6/CFP10).

L'infection par le bacille paratuberculeux peut également entraîner une diminution de la sensibilité des tests de dépistage de la tuberculose (risque d'erreurs par défaut), notamment à l'échelle individuelle.

3. Réponse à la question 3 : « *Comment la vaccination contre la paratuberculose interfère-t-elle avec le dépistage de la tuberculose chez les bovins, ovins et caprins ? (selon le type de vaccin, le protocole de vaccination, la méthode de dépistage)* »

L'impact de la vaccination contre la paratuberculose sur le diagnostic de la tuberculose dans les élevages caprins a été évalué et communiqué dans l'avis de l'Afssa n°2009-SA-0169.

Remarque préliminaire :

Compte tenu de l'absence ou du faible nombre d'études disponibles, et du petit nombre d'animaux testés, il n'est pas possible d'évaluer l'effet du type de vaccin (atténué versus inactivé), ni celui du protocole de vaccination, en particulier l'effet d'un ou de plusieurs rappels.

Seuls l'âge à la primo-vaccination avec un vaccin inactivé, la méthode de dépistage (intradermotuberculation simple ou comparative, test de dosage de l'IFNg) et l'âge auquel le test est réalisé, ainsi que l'effet de la dose vaccinale ont pu être partiellement évalués à l'aide des quelques études disponibles.

3.1. Rappel des conclusions de l'avis relatif à la saisine 2009-SA-0169

En 2009, l'avis de l'Afssa faisait déjà le constat du peu d'informations disponibles sur l'interférence de la vaccination avec le dépistage de la tuberculose chez les ruminants, en particulier pour évaluer l'impact potentiel du vaccin Gudair® sur le dépistage de la tuberculose chez la chèvre.

Avec les données disponibles à cette date, il était possible de conclure :

- qu'il existait une interférence de la vaccination contre la paratuberculose avec le test d'intradermotuberculation pour le dépistage de la tuberculose pour une période minimale de 24 mois dans cette espèce,
- que des tests de dépistage de la tuberculose de type comparatif devaient être utilisés.

En outre, des différences entre espèces avaient été constatées, et ces différences ne permettaient pas d'extrapoler les résultats avec le vaccin Gudair® d'une espèce de ruminant à une autre. Enfin, l'intensité de la réponse à la tuberculine bovine semblait dépendre de la souche utilisée dans la préparation du vaccin.

3.2. Nouvelles données disponibles depuis 2009

Il n'y a aucune donnée publiée pour l'espèce ovine, probablement en raison de la très faible fréquence de l'infection par *M. bovis* dans cette espèce. Cette analyse est donc restreinte aux espèces bovine et caprine.

3.2.1. Chez les caprins :

Trois nouvelles études ont été publiées pour l'espèce caprine (Chartier *et al.*, 2012 ; Perez de Val *et al.*, 2012 ; et Bezos *et al.*, 2012)

- Dans l'étude de Chartier *et al.*, la moitié des chevrettes de renouvellement dans un élevage où la paratuberculose était enzootique, a été vaccinée avec le vaccin Gudair® avant l'âge de 1 mois.

Les résultats de l'IDS et de l'IDC ont été évalués chez des animaux âgés de 8, 20 mois et 3,5 ans en considérant la réponse à chaque tuberculine (PPDa et PPDb) indépendamment, et en utilisant le seuil de l'OIE (>4 mm) ou un seuil strict (>2 mm) pour l'interprétation.

Chez les animaux âgés de 3,5 ans, la réaction à la PPDb n'est pas différente entre les groupes vacciné et contrôle, alors que la réaction à la PPDa est significativement plus forte chez les animaux vaccinés ($p < 0,05$). Il n'y a pas de réponses faussement positives à l'IDC.

En utilisant les seuils d'interprétation de l'OIE, les animaux vaccinés sont négatifs avec l'IDS alors que 2,7% de cette catégorie sont faussement positifs lorsqu'un seuil plus strict est utilisé. Les animaux non vaccinés sont négatifs quelles que soient les règles d'interprétation.

Chez les caprins âgés de 8 à 20 mois, la réponse à l'IDS et à l'IDC évolue avec l'âge des animaux. Elle était significativement plus grande aux PPDa et PPDb chez les animaux des groupes âgés de 8 et 20 mois, chez qui la proportion d'animaux faussement positifs en IDS était respectivement de 23,7 et 2,5% avec la règle d'interprétation OIE, et 50 et 15% avec un seuil plus strict. En revanche, tous les résultats de l'IDC sont négatifs, à l'exception de celui d'un animal de 8 mois.

Avec le test IFNg après stimulation avec les deux tuberculines PPDa et PPDb, tous les animaux âgés de 3,5 ans sont négatifs dans le groupe non vacciné alors que quelques résultats sont positifs dans le groupe vacciné.

La vaccination des caprins avant l'âge d'un mois contre la paratuberculose induit un résultat faussement positif à l'IDS chez 23,7-50% (en fonction du seuil retenu) des animaux âgés de 8 mois, et cette proportion diminue avec l'âge.

Toutes les IDC sont négatives à partir de 20 mois d'âge.

Par contre, la spécificité du test IFNg avec les tuberculines PPDa et PPDb est inférieure à 100%.

- Dans l'étude de Perez de Val *et al.* (2012), les résultats des tests de dépistage de la tuberculose bovine (IDC, et test IFNg) ont été comparés entre un groupe de chèvres (n=10) vaccinées à l'âge de 2-3 mois avec le vaccin Silirum® et un groupe non vacciné. Les animaux sont issus d'élevages indemnes de paratuberculose et de tuberculose.

Après 14 semaines, une intradermotuberculination comparative (IDC) a été réalisée sur quatre chèvres vaccinées. Lorsque seule la réaction à la tuberculine bovine est considérée (IDS), le résultat du test pour le dépistage de la tuberculose est faussement positif, confirmant que la spécificité de l'IDS est fortement compromise par la vaccination contre la paratuberculose. En revanche, si les résultats vis-à-vis de la tuberculine aviaire sont pris en compte, tous les animaux sont négatifs à l'IDC. Les deux groupes de chèvres ont ensuite été infectés expérimentalement avec *Mycobacterium caprae*. Douze semaines après l'infection expérimentale (26 semaines après la vaccination), l'IDC est positive chez 9/10 chèvres dans le groupe vacciné, alors que 10/10 chèvres sont positives dans le groupe contrôle.

Des différences de l'épaisseur du pli cutané sont significatives entre les deux groupes. La réaction à la tuberculine aviaire (PPDa) est en moyenne de 14,4 mm ([11,9-17], IC 95%) dans le groupe vacciné contre 10,8 mm ([8,8-11,9], IC 95%) dans le groupe contrôle (p<0,05). La différence de réactivité vis-à-vis des deux tuberculines PPDa et PPDb est également significative ; elle est plus faible chez les animaux vaccinés (5,2 mm, [2,9-7,5] IC 95%) que chez ceux du groupe non vacciné (10,3 ; [8,8-11,9], IC 95%) (p<0,005).

Avec le test IFNg, la réponse à la PPDa est détectée deux semaines après la vaccination (2/10) et tous les animaux sont positifs après 10 semaines. Parmi les 10 chèvres vaccinées, six sont positives avec la PPDb après 14 semaines. Quatre semaines après l'infection avec *M. caprae*, 9/10 chèvres réagissent à la PPDb, et tous les animaux sont positifs après six semaines.

Avec les antigènes recombinants ESAT6/CFP10 et Rv3615c, le résultat du test est négatif chez tous les animaux vaccinés après 14 et 16 semaines (2 semaines après infection). Le test est positif chez tous les animaux vaccinés et non vaccinés, après 20 semaines avec Rv3615c et après 24 semaines avec ESAT6/CFP10. Le test IFNg est donc positif un peu plus précocement que l'IDC quel que soit l'antigène recombinant utilisé pour le diagnostic de la tuberculose.

En conséquence, ces données montrent une forte diminution de la spécificité de l'IDS à la suite de la vaccination à 2-3 mois d'âge contre Map. Cette interférence peut être résolue en réalisant une IDC.

Le test IFNg avec la PPDb semble plus robuste en termes de spécificité pour le dépistage de la tuberculose. Cependant, lorsque le test a été réalisé sur des animaux entre 12 et 16 semaines après la vaccination, des résultats faussement positifs ont été constatés dans une proportion très élevée (60%) de ces animaux. En revanche, dans les mêmes conditions, la spécificité a été meilleure avec les antigènes recombinants ESAT6/CFP10 et Rv3615c, car aucun résultat positif n'a été observé. En outre le test IFNg avec les deux antigènes recombinants a une sensibilité équivalente à l'IDS.

- L'étude de Bezos *et al.* (2012) a comparé les résultats de l'IDC (ou de l'IDS) et du test IFNg dans différentes situations épidémiologiques chez la chèvre, en comparant les réponses à ces tests dans un troupeau vacciné contre la paratuberculose, à celles mesurées dans des troupeaux non vaccinés. Les animaux avaient été vaccinés avec le vaccin Gudair® avant l'âge de six mois.

Bien que l'effectif évalué soit faible, le nombre de chèvres réagissant à l'IDS (et à la tuberculine PPDa), et au test IFNg est significativement plus élevé dans le troupeau vacciné comparativement aux troupeaux non vaccinés ($p < 0,05$). Les réactions positives sont principalement observées chez les animaux âgés de moins de 24 mois (8/10), et il existe une corrélation négative significative entre l'âge des animaux testés et l'intensité de la réponse ($p < 0,05$).

3.2.2. Chez les bovins

- Une seule étude a analysé l'impact de la vaccination contre Map sur le résultat des tests de diagnostic de la tuberculose dans l'espèce bovine depuis 2009 (Stabel *et al.*, 2011). Des veaux ($n=5$) âgés de quelques jours ont été vaccinés avec Mycopar® et leurs réponses vis-à-vis de différents antigènes tels que la PPDj (ou johnine), la PPDb, un extrait mycobactérien total obtenu après sonication de la souche de Map de référence séquencée K-10 (MPS), et les antigènes recombinants ESAT6/CFP10 ont été évaluées à 1 et 12 mois après la vaccination. Une forte production d'IFNg a été mesurée vis-à-vis des antigènes PPDj et des antigènes de Map (MPS), à partir de 7 jours et pendant 12 mois chez tous les animaux vaccinés, à l'inverse de ce qui est mesuré chez les veaux du groupe contrôle. La réponse à la stimulation par la PPDj, au MPS et à la PPDb est significativement différente entre les deux groupes à 1 et 12 mois après la vaccination, à l'inverse de la réponse vis-à-vis d'ESAT6/CFP10 qui n'est pas différente entre les groupes. La réalisation d'une IDC à l'âge de 6 mois a permis de mettre en évidence une forte réactivité vis-à-vis des deux tuberculines pour les veaux vaccinés. Le résultat de l'IDC est positif pour 1/5 veaux vaccinés.

- Concernant l'effet de la dose d'antigène utilisée pour la vaccination, une seule étude dans l'espèce bovine a comparé la réponse à la PPDa induite par deux doses d'antigène différentes correspondant à la moitié ou à un quart de la dose commerciale du vaccin inactivé Mycopar® (Stabel *et al.*, 2011). La réponse a été évaluée avec la johnine (PPDj) à l'aide d'une intradermotuberculation après 6 mois, ou un test IFNg à 2, 4 et 9 mois après la vaccination.

La vaccination a provoqué une réponse mesurable par l'un des tests pré-cités. Les auteurs ont constaté l'absence de relation linéaire entre la dose antigénique et la réponse à l'un des tests : en effet, les réponses ne sont pas significativement différentes entre les groupes vaccinés avec la dose complète, la moitié, ou un quart de la dose vaccinale.

Par ailleurs, Muskens *et al.* (2002) a décrit l'évolution de la décroissance des réponses vis-à-vis des tuberculines PPDa et PPDb dans le test IFNg, après vaccination avec un vaccin inactivé chez des bovins adultes, et a montré qu'elles évoluaient de façon parallèle. On peut donc considérer qu'il existe une relation de proportionnalité entre les réponses à la PPDb et à la PPDj.

Ainsi, si les réponses induites dans les deux études sont de nature et d'intensité similaires, et qu'elles évoluent de la même façon chez le jeune et chez l'adulte, il est probable que la diminution de la dose antigénique ne provoque pas de différence significative de la réponse à la PPDb après vaccination avec une fraction de la dose vaccinale.

En conséquence, les données collectées dans les espèces caprine et bovine montrent une forte diminution de la spécificité de l'IDS à la suite de la vaccination contre Map avant l'âge de 6 mois. Cette interférence est généralement résolue en réalisant une IDC chez des animaux âgés de plus de 24 mois. La spécificité du test IFNg avec la PPDb est meilleure, et elle est encore améliorée par l'utilisation des antigènes recombinants ESAT6/CFP10. En outre, le test IFNg avec ces antigènes recombinants a une sensibilité au moins égale à celle de l'IDC pour le dépistage de la tuberculose chez des animaux préalablement vaccinés contre la paratuberculose.

4. Réponse à la question 4 : « Compte tenu de l'épidémiologie de ces deux maladies, quels sont les bénéfices et les risques d'une vaccination des bovins, ovins et caprins contre la paratuberculose en particulier vis-à-vis du dépistage de la tuberculose ? »

4.1. Bénéfices de la vaccination contre la paratuberculose des ruminants

- Efficacité

L'analyse bibliographique réalisée pour répondre aux premières questions de cette saisine, bien qu'elle repose plus sur des observations de terrain que sur des études expérimentales, met en évidence que la vaccination des ruminants contre la paratuberculose avec un vaccin inactivé présente une certaine efficacité en termes de réduction des signes cliniques, de réduction de l'excrétion et de la diminution des lésions observées.

Cette efficacité est constatée dans les trois espèces cibles (bovins, ovins, caprins). La diminution du nombre d'animaux présentant des signes cliniques de paratuberculose et celle de l'excrétion sont deux éléments particulièrement importants dans les troupeaux fortement infectés et enregistrant donc des fortes pertes. Ainsi, deux années après la mise en œuvre d'une vaccination, le nombre de cas cliniques et les réformes pour paratuberculose diminuent fortement et l'état corporel des animaux semble également meilleur. En outre, la réduction de l'excrétion de Map dans l'environnement (réduction du nombre d'animaux excréteurs et de l'intensité d'excrétion), est favorable pour diminuer la pression d'infection et la transmission de type féco-oral.

Cependant l'ensemble des auteurs s'accorde à reconnaître que la vaccination est une mesure complémentaire des mesures sanitaires devant être mises en place dans les troupeaux. Ces mesures sanitaires qui permettent de limiter les risques de contamination, notamment des jeunes animaux (séparation jeunes/mères, diminution de la pression infectieuse en dépistant et en éliminant les animaux les plus excréteurs et mesures de gestion des déjections), ne peuvent pas être appliquées de la même manière quel que soit le système de production. Les raisons sont soit zootechniques (impossibilité de séparer les jeunes des mères dans les productions allaitantes), soit économiques (coût élevé de la détection des animaux infectés dans les troupeaux de petits ruminants en raison du grand effectif). Dans ces contextes (élevages allaitants et élevages de petits ruminants), le vaccin reste le seul outil aisément utilisable et son importance devient donc particulière. Certains essais à grande échelle sur des ovins (Islande, Australie) ont pu ainsi montrer qu'une vaccination systématique des jeunes pouvait, à elle seule, permettre de réduire de manière importante les cas de paratuberculose clinique et les pertes associées.

Dans certaines études de terrain, et dans des contextes de forte prévalence de cas cliniques, il a également été mis en évidence que la vaccination généralisée **de l'ensemble du troupeau** semblait permettre d'obtenir des effets bénéfiques rapidement : la diminution du nombre de nouveaux cas cliniques serait comparable voire plus rapide que la seule application des mesures sanitaires.

- Avantage économique de la vaccination

Dans une publication récente (Cho *et al.*, 2012) grâce à un modèle épidémiologique, les auteurs ont montré que la vaccination possédait un rapport coût/ bénéfice supérieur aux autres mesures de lutte, particulièrement si le vaccin pouvait réduire la réceptivité à l'infection ou s'il diminuait l'excrétion de manière forte au sein du troupeau, réduisant ainsi les risques d'infection des autres animaux. Cependant, pour des troupeaux laitiers avec une forte prévalence de l'infection, la vaccination ne semble pas économiquement aussi rentable qu'une stratégie de contrôle sanitaire. D'autres auteurs ne partagent pas ce point de vue (van Schaik *et al.*, 1996).

- Diminution de l'interférence avec le dépistage de la tuberculose

L'existence de la paratuberculose dans les élevages de bovins français conduit à une interférence avec le diagnostic de la tuberculose dans la mesure où le dépistage est effectué par intradermotuberculation simple (IDS) avec une PPD_b peu spécifique et peut donc conduire à une réaction non négative chez les animaux infectés par d'autres mycobactéries, *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) notamment. Ceci conduit à des mesures réglementaires de blocage du troupeau au minimum pendant 6 semaines, dans l'attente de la réalisation d'une intradermotuberculation double comparative (IDC), permettant de comparer la réaction allergique produite par un antigène de *M. bovis* et celle produite par un antigène de *M. avium*, et ainsi de distinguer la plupart des troupeaux infectés par une mycobactérie tuberculeuse (*M. bovis* et *M. tuberculosis*) des troupeaux infectés par Map ou une autre mycobactérie non tuberculeuse (*xenopi*, *avium avium*, *sylvaticum*, etc.).

Cette interférence et les mesures réglementaires qui en résultent sont lourdes de conséquences en termes économiques en raison du blocage commercial des troupeaux et également en termes de démotivation des acteurs de terrain les subissant. Le risque de l'interférence avec Map est d'autant plus grand que l'infection paratuberculeuse est fréquente. La vaccination contre la paratuberculose des bovins, en permettant de diminuer notablement l'incidence clinique ainsi que l'excrétion des animaux infectés par Map, réduit la pression infectieuse et pourrait donc limiter, à terme, ce risque d'interférence avec le diagnostic, sans le supprimer complètement non plus dans la mesure où il est de toute façon très difficile d'éradiquer l'infection paratuberculeuse d'un élevage.

4.2. Limites et risques de la vaccination contre la paratuberculose des ruminants

La vaccination des ruminants avec un vaccin contre la paratuberculose comprend également quelques limites et risques.

- Limites de l'efficacité vaccinale

Bien que la vaccination avec des vaccins inactivés soit globalement efficace pour maîtriser la paratuberculose clinique et réduire l'excrétion à l'échelle d'un troupeau de ruminants, elle ne permet en aucun cas, lorsqu'elle est utilisée comme seul moyen de lutte, d'aboutir à l'éradication de l'infection dans un élevage.

Par ailleurs, il faut rappeler qu'au plan individuel, la persistance d'animaux fortement excréteurs malgré cette vaccination est possible et régulièrement signalée, ce qui conduit à un risque de dissémination intercheptels, notamment à l'occasion des transactions commerciales.

- Interférence négative avec le dépistage de la tuberculose bovine

Bien qu'il soit difficile de tirer des conclusions précises des quelques études bibliographiques sur ce point, il apparaît cependant que la vaccination contre la paratuberculose avec un vaccin inactivé interfère avec le diagnostic de la tuberculose.

Les animaux vaccinés peuvent en effet présenter des réactions positives aux tests explorant l'immunité cellulaire utilisés pour le dépistage de la tuberculose (intradermotuberculation ou IFNg), un certain nombre de mois après leur vaccination.

Il n'existe pas suffisamment de données bibliographiques pour déterminer précisément combien de mois après la vaccination, cette interférence peut encore être détectable, mais les quelques études disponibles montrent que les animaux vaccinés jeunes (soit avant l'âge d'un mois d'âge) présentent cette interférence environ deux ans après la vaccination, sans qu'il soit véritablement possible de savoir si l'âge à la vaccination est ou non un facteur intervenant intrinsèquement dans cette interférence. Quoi qu'il en soit, il semble

illusoire de vouloir vacciner des bovins adultes si l'on souhaite les soumettre au dépistage de la tuberculose par IDS ultérieurement.

- Interférence avec le dépistage de la paratuberculose bovine

La vaccination contre la paratuberculose interfère également avec le diagnostic sérologique de la paratuberculose chez les bovins avec un vaccin vivant (Vialard, 1994) ou chez les caprins avec un vaccin inactivé (Mercier *et al.*, 2010b). En effet, chez les animaux vaccinés jeunes (avant l'âge d'un mois) contre la paratuberculose, une séropositivité peut être observée pendant plusieurs mois après la vaccination : entre 18 et 24 mois.

Par ailleurs, en réduisant l'excrétion des animaux infectés, la vaccination diminue également la probabilité de détection de cette excrétion lors des opérations de dépistage par culture fécale ou PCR.

Ainsi, la vaccination contre la paratuberculose, tout en participant à la lutte, diminue cependant l'efficacité de certaines mesures sanitaires (détection et élimination d'animaux excréteurs).

- Risque de démotivation des acteurs de terrain vis-à-vis des mesures sanitaires

Les mesures de lutte sanitaire contre la paratuberculose sont complexes à mettre en œuvre dans les élevages. Elles nécessitent des investissements financiers importants (dépistage et réforme des animaux) et génèrent des contraintes lourdes en termes de conduite des élevages (isolement de tout animal présentant une diarrhée, séparation immédiate avant la buvée de colostrum des jeunes de leur mère, comblement des mares, gestion des effluents, *etc.*) (Afssa 2009). Les éleveurs doivent donc être fortement motivés pour mettre en œuvre ces mesures et surtout les maintenir pendant plusieurs années avant de percevoir des améliorations, sans la garantie du succès à terme.

L'utilisation de la vaccination est habituellement perçue par les éleveurs comme une solution de gestion plus facile et plus efficace que la modification de la conduite d'élevage. Dans le contexte particulièrement contraignant de la lutte contre la paratuberculose, la disponibilité d'un vaccin peut faire craindre une certaine démobilisation des acteurs pour la mise en œuvre des mesures sanitaires, pourtant nécessaires à la maîtrise de l'infection paratuberculeuse dans les élevages et utiles pour certaines maladies qui relèvent de l'hygiène générale (diarrhées néonatales, salmonellose *etc.*).

5. Conclusion du comité d'experts spécialisé « Santé animale »

Cette dernière partie reprend synthétiquement les quatre questions posées et la réponse apportée par les experts.

Réponse à la question 1 – « *Quel est l'intérêt en termes de protection de vacciner contre la paratuberculose des bovins, ovins ou caprins de plus d'un mois ?* »

La recommandation habituelle est de vacciner les animaux à un très jeune âge (le plus souvent inférieur à un mois) afin de les immuniser le plus possible avant une infection naturelle et également pour limiter le plus possible les interférences avec le dépistage de la tuberculose. Toutefois, certains auteurs suggèrent une réponse immunitaire moins bonne chez les très jeunes animaux (Corpa *et al.*, 2000a). Par ailleurs, au niveau du troupeau, la vaccination à un âge inférieur à 1 mois s'accompagne d'un délai important avant d'obtenir des résultats ; le contrôle des signes cliniques est obtenu en 3 à 4 ans en moyenne (Wilesmith 1982 in Benedictus *et al.*, 2000 ; Cranwell, 1993).

La vaccination d'animaux de plus d'un mois donne des résultats plutôt favorables y compris lors de la vaccination des adultes chez les caprins et les bovins. Chez les ovins, Windsor (2006) a proposé un âge limite de vaccination d'environ 8 mois.

Les quelques travaux réalisés sur la vaccination contre la paratuberculose de ruminants âgés de plus d'un mois permettent de tirer les conclusions suivantes :

- la réponse vaccinale est équivalente voire supérieure sur des caprins âgés de 5 mois par rapport à des caprins vaccinés à l'âge de 15 jours en raison probablement d'une plus grande maturité du système immunitaire ; aucun travail expérimental ou de terrain n'est cependant disponible pour confirmer ce point en termes de protection vis-à-vis de l'infection ;
- les études réalisées à grande échelle sur les ovins montrent que la vaccination d'animaux jusqu'à 8 mois d'âge permet un contrôle clinique de la maladie à l'échelle du troupeau dans un délai allant de quelques mois à quelques années avec une réduction concomitante de l'excrétion de Map ; l'effet de la vaccination sur des ovins préalablement infectés par Map est confirmé expérimentalement (clinique, excrétion) ;
- la vaccination d'animaux adultes (chèvres, vaches laitières) est documentée à travers 4 études dont les résultats convergent : on observe une réduction des cas cliniques ou des réformes dans les troupeaux ou lots d'animaux vaccinés dans les deux années suivant la vaccination. Des effets plus modérés sont notés concernant l'excrétion de Map.

Il faut souligner des points communs à l'ensemble de ces études, qui s'appliquent également à la vaccination d'animaux de moins d'un mois :

- elles ont été réalisées dans un contexte de très forte pression d'infection ;
- l'interprétation des résultats n'est pas toujours validée au plan statistique et ne permet pas toujours de discerner les effets relevant du vaccin de ceux liés aux mesures sanitaires ;
- les effets mesurés sont toujours partiels et parfois relativement modestes, bien que comparables voire supérieurs à ceux des mesures sanitaires seules ;
- malgré la vaccination, certains animaux peuvent excréter de grandes quantités de bacilles.

Réponse à la question 2 – « *Quel est actuellement l'impact de la paratuberculose sur le dépistage de la tuberculose par intradermotuberculation simple ou comparative ou par dosage de l'interféron gamma ? Le traitement de cette question sera réalisé en répondant aux interrogations suivantes :*

- *Connaissances sur la situation actuelle de la paratuberculose : bovins, ovins et caprins*
- *Éléments relatifs aux interférences entre paratuberculose et dépistage de la tuberculose selon méthode utilisée (IDS, IDC, IFNg) »*

Sans que l'on dispose de données quantitatives précises, on peut considérer que la paratuberculose est actuellement largement présente sur l'ensemble du territoire français et qu'elle concerne, à des degrés probablement différents, tous les bassins de production aussi bien pour les bovins que pour les petits ruminants.

L'infection par la paratuberculose est susceptible d'être à l'origine de réponses faussement positives au test IDS mais le recours à un test IDC permet dans la très grande majorité des cas de lever le doute. Ces défauts de spécificité sont principalement observés chez des animaux jeunes, de moins de 24 mois ayant été infectés par Map récemment, quelle que soit l'espèce de ruminant concernée.

Les mêmes constatations peuvent être faites avec le test IFNg. Pour ce dernier, l'existence d'antigènes recombinants spécifiques de *M. bovis*/*M. tuberculosis* (ESAT-6 et

CFP 10) offre en outre des possibilités supplémentaires de vérification du statut réel de l'animal.

Dans les cheptels bovins et caprins tuberculeux, l'infection par la paratuberculose entraîne une réduction de la sensibilité individuelle de l'IDC et du test IFNg. En effet, l'infection paratuberculeuse peut être à l'origine de fortes réactions à la tuberculination aviaire ou être responsable d'un état d'anergie par épuisement de l'organisme (stade clinique). La détection de cheptels faiblement infectés de tuberculose risque donc d'être influencée négativement par la présence de la paratuberculose (en particulier dans les élevages avec un grand nombre de cas cliniques de paratuberculose), mais les troupeaux fortement infectés de tuberculose ont une probabilité élevée d'être correctement détectés en cas de co-infection (la sensibilité à l'échelle du troupeau étant supérieure à la sensibilité individuelle).

Réponse à la question 3 – « *Comment la vaccination contre la paratuberculose interfère-t-elle avec le dépistage de la tuberculose chez les bovins, ovins et caprins ? (selon le type de vaccin, le protocole de vaccination, la méthode de dépistage) »*

Considérant les données antérieures disponibles (avis Afssa 2009-SA-0169, rapport d'expertise collective Afssa « Paratuberculose des ruminants » publié en 2009) et après analyse des données publiées à ce jour ; compte tenu du faible nombre d'études disponibles et du petit nombre d'animaux évalués, seuls les éléments suivants peuvent être avancés :

- les données disponibles ne permettent pas d'évaluer correctement l'interférence de la vaccination contre la paratuberculose avec le dépistage de la tuberculose en relation avec l'âge à la vaccination, l'existence de rappels, la dose ou le type de vaccin utilisé pour cette vaccination. Cependant, si l'animal est vacciné à un âge supérieur à un mois et, à plus fortes raisons, supérieur à 6 mois, la réponse au vaccin étant plus importante, l'interférence de la vaccination contre la paratuberculose avec le dépistage de la tuberculose va persister pour une durée probablement supérieure à 2 ans ;
- il existe une interférence partielle de la vaccination contre la paratuberculose avec un vaccin inactivé sur le diagnostic de la tuberculose bovine à l'aide de l'IDS ou – dans une moindre mesure- du test IFNg utilisant la PPDb. Lorsque les animaux ont été vaccinés avant l'âge de six mois, cette interférence est d'autant plus marquée que le test est réalisé sur des animaux jeunes ; chez certains animaux des espèces caprine et bovine, elle persiste jusqu'à l'âge de 24 mois. à partir de données établies uniquement à l'aide de vaccins inactivés, cette interférence est très réduite si le mélange ESAT6/CFP10 est utilisé comme antigène pour le test IFNg, chez des animaux vaccinés avant l'âge de 6 mois.

Réponse à la question n°4 – « *Compte tenu de l'épidémiologie de ces deux maladies, quels sont les bénéfices et les risques d'une vaccination des bovins, ovins et caprins contre la paratuberculose, en particulier vis-à-vis du dépistage de la tuberculose ? »*

Balance bénéfice/risque

- Pour les ovins et bovins allaitants

Dans les élevages allaitants (bovins et ovins), la vaccination est un outil utile car les mesures sanitaires y sont soit très difficiles, soit impossibles à mettre en œuvre avec rigueur (notamment difficulté à séparer les adultes des jeunes). Elle reste donc un outil

précieux pour diminuer la pression infectieuse et les pertes liées à la paratuberculose clinique dans ces élevages.

- Pour les ovins, le dépistage de la tuberculose n'étant ni nécessaire, ni réglementaire, l'interférence générée par la vaccination paratuberculeuse ne constitue pas un frein à l'usage de cette vaccination, y compris sur des animaux adultes.

- En revanche, compte tenu de la situation sanitaire vis-à-vis de la tuberculose actuellement en France, en particulier dans les élevages de bovins allaitants, il est indispensable que le dépistage de la tuberculose puisse être conduit dans ce type de troupeau en limitant au maximum les interférences. De ce point de vue, la lutte contre la paratuberculose dans les élevages bovins allaitants est souhaitable afin de diminuer la pression infectieuse en mycobactéries susceptibles d'interférer avec le dépistage de *M. bovis*. Pour rester compatible avec un dépistage de la tuberculose, le vaccin contre la paratuberculose devrait donc être utilisé sur des animaux âgés de moins de 6 mois (de préférence à une vaccination pratiquée avant 1 mois, pour s'assurer d'une meilleure maturité immunitaire) mais au risque de voir l'interférence avec le dépistage de la tuberculose se prolonger au delà de 24 mois. Dans ce cas, le dépistage de la tuberculose pourrait être réalisé par IDC sur les animaux de plus de deux ans dans ces troupeaux ce qui permettrait de limiter au maximum les interférences entre vaccination contre la paratuberculose et dépistage de la tuberculose.

- Si la vaccination était pratiquée plus tardivement (voire chez des adultes), les animaux risqueraient de fournir des résultats positifs persistant après l'âge de deux ans aux tests de dépistage de la tuberculose (IDS et IDC) ce qui compliquerait le dépistage de la tuberculose et nécessiterait alors d'utiliser dans ces élevages des tests IFNg avec des antigènes recombinants plus spécifiques mais également plus coûteux. Par ailleurs, il conviendrait alors de pouvoir tracer parfaitement cette vaccination dans les documents d'accompagnement des bovins, afin d'éviter les difficultés lors des transactions commerciales.

- Pour les bovins laitiers

Les mesures sanitaires sont en théorie plus faciles à appliquer mais, néanmoins, l'aide vaccinale est nécessaire. Elle permet d'obtenir plus précocement (de quelques mois) une diminution de pertes liées à la maladie en élevage et pourrait, à ce titre, être utilisée avec les mêmes contraintes que celles décrites pour les bovins allaitants. Pour ces élevages, des mesures particulières de maintien de la sensibilisation des éleveurs à l'importance des mesures sanitaires (exposées dans l'argumentaire) mériteraient alors d'être mises en place.

- Pour les caprins

Quand, dans certains élevages infectés par Map, les mesures sanitaires sont difficiles à appliquer, le recours à une vaccination des jeunes animaux, voire des adultes (les interférences avec le dépistage de la tuberculose ont moins de conséquence car celui-ci est actuellement limité aux caprins des élevages mixtes bovins/caprins non officiellement indemnes de tuberculose), peut s'avérer un outil indispensable pour limiter l'importance des cas cliniques.

Recommandations :

Au bilan, la vaccination contre la paratuberculose apparaît, en complément des mesures de lutte sanitaire contre cette maladie, comme un outil utile, voire nécessaire quand la mise en œuvre de ces mesures est rendue difficile par le contexte de l'élevage (élevages allaitants, très forte prévalence de cas cliniques).

En production ovine, cette vaccination est utilisable chez tous les animaux quel que soit leur âge car la question de l'interférence avec le dépistage de la tuberculose ne se pose pas.

Pour les bovins (allaitants et laitiers) et les chèvres, les risques d'interférence avec le dépistage de la tuberculose devraient conduire à recommander de :

- réserver la vaccination aux seuls animaux jeunes, avant l'âge de 6 mois et, idéalement entre 1 et 3 mois d'âge pour respecter le meilleur compromis entre l'acquisition d'une immunité correcte et une interférence minimale avec le dépistage ultérieur de la tuberculose ;
- assurer la traçabilité des vaccinations dans les troupeaux où elles sont mises en œuvre, afin de conduire un dépistage de la tuberculose bovine à l'aide d'une IDC ;
- réaliser un test IFNg avec antigènes recombinants sur les animaux vaccinés de plus de 24 mois, à réponse non négative à ce contrôle IDC.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du comité d'experts spécialisé « Santé Animale ».

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Paratuberculose, vaccination, interférence, tuberculose, ruminants

BIBLIOGRAPHIE

Aagaard C., Govaerts M., Meikle V., Guttierrez-Pabello J.A., MacNair J., Andersen P., Suarez-Güemes F., Pollock J., Espitia C., Cataldi A. (2012). Detection of bovine tuberculosis in herds with different disease prevalence and influence of paratuberculosis infection on PPDB and ESAT-6 CFP10 specificity. *Preventive Veterinary Medicine*, 96: 161-169.

Afssa (2009). Paratuberculose des ruminants. Rapport d'expertise collective. 107 pages - <http://www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-Paratuberculose.pdf>

Alonso-Hearn M., Molina E., Geijo M., Vazquez P., Sevilla I.A., Garrido J.M., Juste R.A. (2012). Immunization of adult dairy cattle with a new heat-killed vaccine is associated with longer productive life prior to cows being sent to slaughter with suspected paratuberculosis. *Journal of Dairy Science*, 95: 618-629.

Argenté G. (1991). Efficiency of vaccination and other control measures estimated by fecal culturing in a regional program in 'Proceedings of the third international colloquium on paratuberculosis'. 2015 Linden Drive, Madison WI 53706-1102, USA. (Eds. R.J. Chiodini, J. Kreeger) pp. 495-498. International Association for Paratuberculosis.

Barry C., Corbett D., Bakker D., Andersen P., McNair J., Strain S. (2011). The effect of *Mycobacterium avium* complex infections on routine *Mycobacterium bovis* diagnostic tests. *Veterinary medicine International*, Article ID 145092, doi:10.4061/2011/145092.

Bastida F., Juste RA. (2011). Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination. *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines*. 9:8. doi: 10.1186/1476-8518-9-8.

Benedictus G., Dimkla E.T.B., Wentink G.H. (1988). Preliminary results of vaccination against paratuberculosis in adult dairy cattle. In: Proceedings of the 2nd International Colloquium, Maisons-Alfort, 136-140.

Benedictus G., Kalis C.J. (2003). Paratuberculosis: eradication, control and diagnostic methods. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44: 231-241.

Benedictus G., Verhoeff J., Schukken Y.H., Hesselink J.W. (2000). Dutch paratuberculosis programme history, principles and development. *Veterinary Microbiology*, 77: 399-413.

Bezoz J., Casal C., Domínguez L., Marqués S., Martín O., Mateos A., Mínguez O., Pieltain C., Rodríguez S., Romero B., Vigo V., Alvarez J., de Juan L. (2012). Evaluation of specificity of tuberculosis diagnostic assays in caprine flocks under different epidemiological situations. *Research in veterinary science*, 93: 636-640.

Chartier C., Mercier P., Pellet M. P., Vialard J. (2012). Effect of an inactivated paratuberculosis vaccine on the intradermal testing of goats for tuberculosis. *Veterinary Journal*, 191: 360-363.

- Cho J., Tauer L. W., Schukken Y. H., Gómez M. I., Smith R. L., Lu Z., and Grohn Y. T. (2012). Economic analysis of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* vaccines in dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 95: 1855-1872.
- Collins M.T. (2003). Paratuberculosis: review of present knowledge. *Veterinaria Scandinavica*, 44: 217-221.
- Collins M.T. Zhao B.Y. (1994). Comparison of the commercial serum antibody ELISA, g interferon tests kit and radiometric fecal culture for early diagnosis of paratuberculosis in experimentally infected holstein calves. In 'Proceedings of the fourth international colloquium on paratuberculosis', 2015 Linden Drive, Madison WI 53706-1102, USA.. (Eds Chiodini R.J., Collins M.T., Bassey E.O.E.). pp. 67-76 .International Association for Paratuberculosis.
- Corpa J.M., Pérez V., García Marín J.F. (2000a). Differences in the immune responses in lambs and kids vaccinated against paratuberculosis, according to the age of vaccination. *Veterinary Microbiology*, 77: 475-485.
- Corpa J.M., Pérez V., Sánchez M.A., Marín J.F. (2000b). Control of paratuberculosis (Johne's disease) in goats by vaccination of adult animals. *Veterinary Record*, 46: 195-196.
- Cranwell M.P. (1993). Control of Johne's disease in a flock of sheep by vaccination. *Veterinary Record*, 133: 219-220.
- Crowther R.W., Polydorou K., Nitti S., Phyrilla A. (1976). Johne's disease in sheep in Cyprus. *Veterinary Record*, 98: 463.
- Delgado L., Juste R.A., Munoz M., Morales S., Benavides J., Ferreras C., Garcia marin J.F., Perez V. (2012). Differences in the peripheral immune response between lambs and adult ewes experimentally infected with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Veterinary immunology and immunopathology*, 145: 23-31.
- Dunn J.R., Kaneene J.B., Grooms D.L., Bolin S.R., Bolin C.A., Bruning-Fann C.S. (2005). Effects of positive results for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* as determined by microbial culture of feces or antibody ELISA on results of caudal fold tuberculinb test and interferon gamma assay for tuberculosis in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226: 429-435.
- Ewer K., Cockle P., Gordon S., Mansoor H., Govaerts M., Walravens K., Marché S., Hewinson G., Vordermeier M. (2006). Antigen mining with *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Clinical and vaccine immunology*, 13: 90-97.
- Flores-Villalva S., Suarez-Güemes F., Espita C., Whelan A.O., Vordermeier M., Guttierrez-Pabello J.A. (2012). Specificity of the tuberculin test is modified by use of a protein cocktail containing ESAT-6 and CFP-10 in cattle naturally infected with *Mycobacterium bovis*. *Clinical and vaccine immunology*, 19: 793-803.
- Fridriksdottir V., Gunnarsson E., Sigurdarson S., Gudmundsdottir K.B. (2000). Paratuberculosis in Iceland: epidemiology and control measures, past and present. *Veterinary Microbiology*, 77: 263-267.
- Garcia-Pariente C. Perez V., Geijo M.V., Moreno O., Munoz M., Fuertes M., Puentes E., Doce J., Ferreras M.C., Garcia Marin J.F. (2005). The efficacy of a killed vaccine against paratuberculosis (SILIRUM®) in cattle. A field study. Proceedings of 8 ICP.
- Gwozdz J.M., Thompson K.G., Manktelow B.W., Murray A., West D.M. (2000). Vaccination against paratuberculosis of lambs already infected experimentally with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Australian Veterinary Journal*, 78: 560-566.
- Harris N.B., Barletta R.G. (2001). *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Veterinary Medicine. *Clinical Microbiology Reviews*, 14: 489-512.

- van Ingen J., De Zwaan R., Dekhuijzen R., Boeree M., Van Soolingen D. (2009). Region of difference 1 in non tuberculosis *Mycobacterium* species adds a phylogenetic and taxonomical character. *Journal of Bacteriology*, 191: 5865–5867.
- Jubert G. (2002). Les plans de lute des Groupements de Défense Sanitaire (GDS) contre la paratuberculose bovine. Hors série – Paratuberculose des ruminants. *Bulletin des GTV*, 37–41.
- Juste R.A., Alonso-Hearn M., Molina E., Geijo M., Vazquez P., Sevilla I.A., Garrido J.M. (2009). Significant reduction in bacterial shedding and improvement in milk production in dairy farms after the use of a new inactivated paratuberculosis vaccine in a field trial. *BioMedCentral Research Notes*, 2: 233.
- Juste R.A., Perez V. (2011). Control of paratuberculosis in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 27: 127-138.
- Lu Z., Schukken Y.H., Smith R.L., Mitchell R.M., Gröhn Y.T. (2013). Impact of imperfect *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* vaccines in dairy herds: A mathematical modeling approach. *Preventive Veterinary Medicine*, 108: 148-58.
- Mackintosh C.G., Clark R.G., Tolentino B., De Lisle G.W., Liggett S., Griffin J.F.T. (2011). Immunological and pathological responses of red deer resistant or susceptible genotypes to experimental challenge with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Veterinary immunology and immunopathology*, 143: 131-142
- McGregor H. (2004). A longitudinal study of ovine Johne's disease and the effects of whole flock vaccination with Gudair©. In : OJD An update of Australian Research. Meat and Livestock Australia Limited, March, 2-4.
- Mercier P., Baudry C., Beaudeau F., Seegers H., Malher X. (2010a). Estimated prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in herds of dairy goats in France. *Veterinary Record*, 167: 412-415.
- Mercier P., Pellet M.P., Laroucau K., Bertin C., Boschioli M.L. (2010b). Paratuberculose des caprins. Données actuelles. *Bulletin des GTV*, 56: 61-67.
- Mikkelsen H., Aagaard C., Nielsen S.S., Jungersen G. (2011). Novel antigens for detection of cell mediated immune response to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in cattle. *Veterinary immunology and immunopathology*, 143: 46-54.
- Munoz M., Garcia Marin J.F., Garcia-Pariente C., Reyes L.E., Verna A., Moreno O., Fuertes M., Doce J., Puentes E., Garrido J., Perez V. (2005). Efficacy of a killed vaccine (SILIRUM®) in calves challenged with MAP. *Proceedings of 8ICP*, 208-217.
- Muskens J., van Zijderveld F., Eger A., Bakker D. (2002). Evaluation of the long-term immune response in cattle after vaccination against paratuberculosis in two Dutch dairy herds. *Veterinary Microbiology*, 86: 269-278.
- Patton E.A. (2011). Paratuberculosis vaccination. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 27: 573-580.
- Pérez de Val B.P., Nofrarías M., López-Soria S., Garrido J.M., Vordermeier H.M., Villarreal-Ramos B., Martín M., Puentes E., Juste R.A., Domingo M. (2012). Effects of vaccination against paratuberculosis on tuberculosis in goats: diagnostic interferences and cross-protection. *BMC Veterinary Research*, 8: 191.
- Reddacliff L., Eppleston J., Windsor P., Whittington R., Jones S. (2006). Efficacy of a killed vaccine for the control of paratuberculosis in Australian sheep flocks. *Veterinary microbiology*, 115: 77-90.
- Saint Marc B., Gullemain F., Milward F., Reynaud G., Lacoste F. Brun A. (1991). Vaccination against paratuberculosis : New perspectives. in 'Proceedings of the third international colloquium on paratuberculosis'. 2015 Linden Drive, Madison WI 53706-1102,

- USA. (Eds. R.J. Chiodini, J. Kreeger) pp. 469-474. International Association for Paratuberculosis.
- Santema W., Overdijk M., Barends J., Krijgsveld J. Rutten V., Koets A. (2009). Searching for proteins of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* with diagnostic potential by comparative qualitative proteomic analysis of mycobacterial tuberculin. *Veterinary Microbiology*, 138: 191-196.
- Santema W., Rutten V., Koets A. (2011). Bovine paratuberculosis: recent advances in vaccine development. *The Veterinary quarterly*, 31: 183-191.
- Saxegaard F., Fodstad F.H. (1985). Control of paratuberculosis (Johne's disease) in goats by vaccination. *Veterinary Record*, 116: 439-441.
- van Schaik G., Kalis C.H., Benedictus G., Dijkhuizen A.A., Huirne R.B. (1996). Cost-benefit analysis of vaccination against paratuberculosis in dairy cattle. *Veterinary Record*, 139: 624-627.
- Singh S.V., Singh P.K., Singh A.V., Sohal J.S., Gupta V.K., Vihan V.S. (2007). Comparative efficacy of an indigenous 'inactivated vaccine' using highly pathogenic field strain of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* 'Bison type' with a commercial vaccine for the control of Capri-paratuberculosis in India. *Vaccine*, 25: 7102-7110.
- Stabel J.R., Whitlock R.H. (2001). An evaluation of a modified interferon gamma assay for the detection of paratuberculosis in dairy herds. *Veterinary immunology and immunopathology*, 79: 69-81.
- Stabel J.R., Waters W.R., Bannantine J.P., Lyashchenko K. (2011). Mediation of host immune responses after immunization of neonatal calves with a heat-killed *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* vaccine. *Clinical and Vaccine Immunology*, 18: 2079-2089.
- Stehman S.M. (1996). Paratuberculosis in small ruminants, deer, and South American camelids. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 12: 441-455.
- Thorel M.F., Vialard J., Manfroni F., Bernardot J., Ostyn A., Vandeveld J. (1992). Experimental paratuberculosis in sheep after intravenous or oral inoculation: pathogenicity and biologic diagnosis. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 23: 105-115.
- Vialard J. (1994). Paratuberculose des ruminants : Epidémiologie, diagnostic et prophylaxie - Thèse de doctorat d'université en Ecologie microbienne – Université Claude Bernard Lyon I. 181 pages.
- Walravens K., Marché S., Rosseels V., Wellemans V., Boelaert F., Huygen K., Godfroid J. (2002). IFN γ diagnostic tests in the context of bovine mycobacterial infections in Belgium. *Veterinary immunology and immunopathology*, 87: 401-406.
- Waters W.R., Nonnecke B.J., Palmer M.V., Robbe-Austermann S., Bannantine J.P., Stabel J.R., Wipple D.L., Payeur J.B., Estes D.M., Pitzer J.E., Minion F.C. (2004). Use of recombinant ESAT – 6 / CFP-10 fusion protein for differentiation of infections of cattle by *M. bovis* and by *Mycobacterium avium* subspecies *avium* and *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 11: 729-735.
- Windsor P. (2006). Research into vaccination against ovine Johne's disease in Australia. *Small Ruminants Research*, 62: 139-142.
- Windsor P.A., Whittington R.J. (2010). Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. *Veterinary Journal*, 184: 37-44.