



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

Afssa – Saisine n° 2010-SA-0105

Saisine liée n° 2009-SA-0156

Maisons-Alfort, le 30 juin 2010

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la vaccination contre l'agalactie contagieuse

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

#### RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 07 avril 2010 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'avis relatif à la vaccination contre l'agalactie contagieuse des petits ruminants.

#### CONTEXTE

Dans son avis 2009-SA-0156, l'Afssa soulignait qu'en l'état actuel des connaissances, il n'était pas possible de statuer sur l'efficacité des vaccins commercialisés en Espagne, en termes de prévention des symptômes et encore moins en termes d'effet sur l'excrétion. Dans ces conditions, il convenait :

- **dans un premier temps**, de recueillir, auprès des producteurs et de l'agence du médicament vétérinaire espagnole, le maximum d'informations sur ces vaccins (souches vaccinales utilisées, mode d'inactivation, nature des adjuvants, résultats des tests d'efficacité...),
- **dans un deuxième temps**, de programmer la réalisation d'essais vaccinaux rigoureusement encadrés.

Dans ce contexte, le pétitionnaire pose trois questions :

1/ « *Quels vaccins pourraient compléter efficacement et de façon sécurisée le programme de lutte départemental contre l'agalactie contagieuse dans les Pyrénées-Atlantiques ?* »

2/ *Si les données bibliographiques que vous pourrez recueillir s'avèrent insuffisantes pour répondre à la première question, quelles seraient les conditions pratiques de production de ces informations, en s'appuyant au besoin sur la réalisation d'essais vaccinaux rigoureusement encadrés tels que mentionnés dans la réponse à la saisine n° 2009-SA-0156 et dans quels délais ?* »

3/ *Quelles stratégies vaccinales (défensives ou offensives) pourraient être préconisées, avec quel vaccin, et comment pourraient-elles s'articuler avec le programme de lutte actuel notamment en termes de dépistage? La réponse à cette question pourrait se faire en deux temps : d'abord à partir des données bibliographiques recueillies si celles-ci le permettent, puis à partir des données produites par essais vaccinaux lorsque celles-ci seront disponibles. »*

27-31, avenue  
du Général Leclerc  
94701

Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 50  
Fax 01 49 77 26 13  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

**METHODE D'EXPERTISE**

L'expertise collective a été réalisée par le Groupe de travail « Agalactie contagieuse en Pyrénées-Atlantiques » (GT AC), réuni les 23 avril, 10 mai et 7 juin 2010. Le GT AC a élaboré un rapport qui a été présenté et discuté en séance du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » (CES SA) le 2 juin 2010. Le rapport a été complété par le GT AC puis validé par voie télématique le 9 juin 2010 par le GT AC, et le 15 juin 2010 par le CES SA.

L'expertise effectuée s'est appuyée sur :

- le document de saisine transmis par la DGAI,
- l'audition de la responsable du département chargé de l'autorisation de mise sur le marché de l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV),
- l'analyse des informations disponibles sur les vaccins espagnols : résumés des caractéristiques des produits transmis par l'Agence espagnole des médicaments et produits sanitaires (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios), et les notices correspondantes,
- les publications scientifiques et rapports cités dans cet avis,
- les échanges entre les experts membres du GT AC et les membres du CES SA.

**ARGUMENTAIRE**

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'avis du CES SA dont les éléments sont présentés ci-dessous :

**1. « Bilan des connaissances sur la prophylaxie médicale de l'agalactie contagieuse »****1.1. Propriétés antigéniques de *M. agalactiae* et conséquences sur la conception d'un vaccin**

*L'élaboration d'un vaccin contre l'agalactie contagieuse (AC) présente des difficultés qui tiennent aux particularités des bactéries du genre Mycoplasma mais aussi à certaines caractéristiques plus spécifiques de *M. agalactiae*. Les expériences acquises en termes de vaccination contre des affections mycoplasmiques dans certaines filières de productions animales ne doivent pas être transposées au cas de l'agalactie contagieuse :*

- *soit il s'agit de vaccins inactivés ou sous-unitaires comme pour *M. hyopneumoniae* chez le porc, mycoplasme qui, par exception, semble très homogène antigéniquement quelle que soit la souche, tandis que *M. agalactiae* présente une forte variabilité,*
- *soit il s'agit de vaccins vivants atténués pour les volailles ou pour les bovins (cas de la péripneumonie contagieuse bovine due à un mycoplasme présentant une bonne stabilité antigénique), alors que les vaccins disponibles en Europe contre l'AC sont presque tous inactivés.*

*Une seule souche de *M. agalactiae* semble circuler actuellement en Pyrénées-Atlantiques (PA), (Nouvel, 2009), ce qui devrait théoriquement faciliter la fabrication d'un vaccin. Il faut cependant prendre en compte la complexité antigénique de *M. agalactiae*, et notamment la présence à la surface de cette bactérie de protéines membranaires hypervariables (Glew et al. 2000). Ces protéines constituent un système antigénique dont les modifications constantes, rapides et réversibles multiplient les configurations antigéniques de surface permettant au mycoplasme d'échapper à la réaction immunitaire spécifique de l'hôte (Nouvel et al. 2009). L'animal est donc ainsi théoriquement incapable de se débarrasser de son infection, devenant alors porteur chronique et source potentielle de contamination. Cette hypervariabilité antigénique de *M. agalactiae* a aussi des conséquences directes sur la conception d'un vaccin et probablement sur l'efficacité de la vaccination. S'agissant de vaccin inactivé, la protection conférée risque d'être limitée à une seule configuration antigénique (celle présente dans le vaccin) parmi l'ensemble des motifs antigéniques potentiels de la souche. Par ailleurs, cette variabilité antigénique peut être à l'origine de différences*

entre les lots de production de vaccin, dans la mesure où il est techniquement impossible de stabiliser sur le plan antigénique la souche cultivée et donc d'assurer le maintien d'une configuration antigénique identique d'un lot de production à l'autre. La variabilité antigénique de *M. agalactiae* expliquerait en partie les résultats souvent contradictoires des essais vaccinaux effectués jusqu'à présent (cf. 1.2.) et constitue un handicap important pour la conception même d'un vaccin. *M. agalactiae* est un véritable « caméléon antigénique » et ses protéines hypervariables, présentes en quantité très importante à la surface de la bactérie, pourraient constituer un leurre qui monopolise le système immunitaire au détriment de la réponse protectrice. Pourtant, un animal infecté est capable de développer une immunité naturelle comme en témoignent les observations réalisées sur le terrain. Les rechutes chez des brebis ayant déjà présenté un épisode clinique apparaissent en effet rares. Il est donc très probable qu'à côté de ces protéines membranaires hypervariables, d'autres constituants du mycoplasme, plus stables sur le plan antigénique, sont susceptibles d'induire une réponse immunitaire protégeant l'animal au moins sur le plan clinique. Parmi ces antigènes se trouvent certainement des facteurs de pathogénicité jouant par exemple un rôle dans les propriétés d'adhésion du mycoplasme aux cellules ou dans sa capacité invasive (passage dans le sang). Ces facteurs de virulence ne sont pas connus à l'heure actuelle. La réponse immunitaire de type cellulaire pourrait également jouer un rôle important dans la protection vis-à-vis de l'infection par *M. agalactiae*, mais cette composante de la réponse immunitaire n'a fait l'objet d'aucune étude à ce jour.

**En conclusion**, il existe de nombreuses inconnues, aussi bien sur l'agent pathogène et ses facteurs d'agression de l'hôte, que sur les réponses immunitaires protectrices que ce dernier peut mettre en jeu. Compte tenu des éléments exposés ci-dessus, il apparaît très peu probable qu'un vaccin contre *M. agalactiae* produit par les technologies actuelles (vaccin complet inactivé) soit capable de conférer une immunité protectrice susceptible de prévenir toute infection par le mycoplasme ainsi que son excrétion. Toutefois, il n'est pas exclu que, par des mécanismes qui ne sont pas encore bien identifiés, ce type de vaccin puisse limiter l'expression clinique de la maladie.

## 1.2. Données bibliographiques disponibles sur l'efficacité des vaccins contre l'agalactie contagieuse

Les vaccins étudiés dans les différentes publications consultées présentent des caractéristiques très variées :

- La nature de la souche de *M. agalactiae* utilisée n'est pas toujours indiquée,
- les cultures utilisées pour la préparation des vaccins expérimentaux titrent entre  $5 \times 10^8$  et  $2 \times 10^9$  CFU/mL,
- divers modes d'inactivation sont employés : le formol, le phénol, la saponine, l'hypochlorite, la chaleur (Tola et al. 1999), ou encore la bêta-propiolactone (Buonavoglia et al. 2008, 2009). Le plus utilisé est le formol. La qualité de l'inactivation est meilleure avec le phénol ou la saponine qu'avec le formol, l'hypochlorite ou la chaleur (Tola et al. 1999),
- la nature de l'adjuvant (type et/ou proportions des différents constituants) semble être une des clefs de l'efficacité des vaccins (Vermout et al. 2003, Buonavoglia et al. 2008). L'hydroxyde d'aluminium et des excipients huileux complexes ont été utilisés dans les différentes études. Les résultats sont généralement meilleurs avec des adjuvants complexes qu'avec l'hydroxyde d'aluminium,
- les protocoles vaccinaux expérimentaux décrivent une primo-vaccination comprenant deux injections séparées d'un intervalle de durée variable (deux semaines, trois semaines, un mois, trois mois voire quatre mois). Des rappels annuels sont parfois évoqués. Les injections sont en général réalisées par voie sous-cutanée, et peuvent provoquer des réactions inflammatoires parfois importantes (sans doute liées à la nature de l'adjuvant). L'administration au pli caudal a été utilisée par une équipe (Buonavoglia et al. 2008, 2009). Le choix de ce lieu d'administration repose probablement sur la facilité de réalisation de l'injection ; les auteurs indiquent qu'aucune réaction locale n'a été constatée en procédant selon cette modalité.

Dans une démarche d'évaluation d'un vaccin, il est important de distinguer l'efficacité protectrice (impact sur la clinique et éventuellement sur l'excrétion), de l'immunogénicité (capacité à

déclencher une réponse immunitaire de type humoral et/ou cellulaire). L'immunogénicité est, dans la majorité des cas, évaluée par dosage d'anticorps. Pour autant, les anticorps mis en évidence par les tests sérologiques ne jouent pas nécessairement un rôle protecteur et leur présence ne peut donc pas constituer une preuve formelle d'efficacité vaccinale. L'existence d'une séroconversion ainsi que la persistance du marquage sérologique post-vaccinal varient selon la nature de l'adjuvant vaccinal et en fonction de la dose de vaccin administrée. Sauf cas particuliers (vaccins sous-unitaires), ces anticorps vaccinaux ne peuvent être distingués des anticorps post-infectieux. Tout animal séropositif, vacciné ou non, doit être considéré comme potentiellement infecté.

Les études réalisées sur les vaccins contre l'agalactie contagieuse reposent :

- sur le suivi clinique de cheptels vaccinés (Pérez et al. 1990, Vizcaino et al. 1995, Gil et al. 1998, Mellado et al. 2009),
- sur des épreuves virulentes (infection expérimentale d'animaux vaccinés) menées en station expérimentale (Sarris et Papadopoulos, 1985, Tola et al. 1999, Pépin et al. 2001, Buonavoglia et al. 2008 et 2009),
- ou sur l'évaluation de la réponse immunitaire par dosage des anticorps sériques (Buonavoglia et al. 1998, Guijarro, 2006, Mellado et al. 2009), sans que soit apportée la preuve que les anticorps détectés ont un effet protecteur.

L'évaluation de la protection conférée par le vaccin testé est appréciée par l'apparition ou non de signes cliniques et/ou par la recherche de *M. agalactiae* dans le lait ou les sécrétions nasales et, parfois, dans les nœuds lymphatiques (cf. annexe 1). Les résultats vont de l'absence d'efficacité, tant du point de vue clinique que de celui de l'excrétion dans le lait (Sarris et Papadopoulos, 1985, Vizcaino et al. 1995, Pépin et al. 2001) à l'existence d'un effet protecteur vis-à-vis de la clinique avec absence d'excrétion sur l'ensemble des animaux soumis à l'épreuve (Buonavoglia et al. 2009). Toutefois, dans ce dernier travail, il convient de souligner que la souche d'épreuve est identique à la souche vaccinale (système «homologue»), ce qui constitue la situation la plus favorable pour mettre en évidence l'efficacité d'un vaccin, mais ne préjuge pas de son efficacité vis-à-vis d'autres souches (c'est-à-dire en système «hétérologue»).

**En résumé**, les protocoles d'essais vaccinaux présentent de grandes variations en termes de préparation des vaccins et d'évaluation de leur efficacité, qui rendent difficiles (sinon impossibles) les comparaisons, et traduisent surtout une absence de standardisation. Cette revue bibliographique indique que les vaccins permettent au mieux une réduction de la fréquence et de la gravité des symptômes, mais qu'ils sont globalement très peu efficaces (sinon inefficaces) en termes de réduction de l'excrétion de *M. agalactiae* et, en conséquence, de maîtrise de sa diffusion.

### **1.3. Analyse des caractéristiques et des conditions d'utilisation des vaccins actuellement disponibles contre l'agalactie contagieuse**

#### **1.3.1. Etude des caractéristiques des vaccins présents sur le marché européen**

Les vaccins vivants (cf. annexe 2) éventuellement disponibles dans certains pays européens ont été d'emblée écartés de cette étude. Leur utilisation est très vivement déconseillée (Nicholas et al. 2009), en raison des risques de diffusion de la souche vaccinale, ce qui pourrait avoir pour conséquence l'introduction d'une nouvelle souche de *M. agalactiae* en PA. Seuls ont été retenus les vaccins disposant d'une Autorisation de mise sur le marché (AMM) en Espagne, pour des raisons évidentes de commodité d'approvisionnement et d'une éventuelle plus grande proximité antigénique entre la souche vaccinale et la souche circulant en PA.

L'analyse a porté sur les informations figurant dans les notices publiques (consultation en décembre 2009) et dans les résumés des caractéristiques du produit (RCP) fournies par certains laboratoires espagnols à la demande de l'ANMV (avril 2010) (cf. annexe 3).

On peut noter en particulier :

- L'absence de données précises sur la nature de la souche de *M. agalactiae* employée, son origine géographique et animale ainsi que sur le mode d'inactivation utilisé (indiqué seulement pour deux vaccins -emploi du formol-). Les souches de *M. agalactiae* utilisées sont la souche N84 pour Agalax® et Agalax-S®, la souche 784 pour Agalaxipra® et la souche N262 pour Algontex® (CZ Veterinaria) et Galazel® (Schering-Plough). Le RCP

d'Algontex® indique que « la souche N262 est une souche virulente isolée de cas cliniques d'agalactie contagieuse, qui a été caractérisée et identifiée par le Centre National de Référence des Mycoplasmes ». Rien ne permet d'établir une comparaison avec la souche circulant en PA.

- Les imprécisions dans les notices d'emploi quant à la nature de l'excipient ("suspension huileuse", "adjuvant huileux", "microémulsion multiple" voire "adjuvant approprié"). Toutefois, des compléments d'information figurent dans les RCP : l'hydroxyde d'aluminium est utilisé dans Agalax®, Agalax-S® et Agalaxipra® alors que Algontex® et Galazel® font appel à un mélange d'huile minérale légère, de monooléate de mannide et de polysorbate 80.
- La principale voie d'administration est la voie sous-cutanée, deux vaccins pouvant également être administrés par voie intramusculaire.
- La primo-vaccination peut être réalisée, selon les fabricants, dès l'âge de un ou de trois mois ; elle comporte deux injections à deux, trois ou quatre semaines d'intervalle. Le rappel doit avoir lieu tous les six mois chez les mâles et un à deux mois avant la mise-bas chez les femelles. Il est parfois conseillé de revacciner toutes les semaines ou tous les 15 jours à proximité d'un foyer.
- Les effets indésirables sont essentiellement des réactions d'hypersensibilité ou d'anaphylaxie (trois notices), l'apparition de nodules au site d'injection (trois notices), de l'anorexie et de la prostration (une notice) et une baisse temporaire de production laitière (une notice).
- L'examen des RCP permet de constater que les AMM datent au mieux de 20 ans et, d'après les descriptifs fournis, l'Algontex® et le Galazel® pourraient bien n'être qu'un seul et même vaccin commercialisé sous deux noms différents.

**En résumé**, on retiendra l'impossibilité de vérifier, sur la base des informations disponibles, la proximité antigénique des souches vaccinales avec celle circulant en Pyrénées-Atlantiques. On peut également souligner la diversité des modes de préparation et de composition des vaccins, liée à l'absence de procédures standardisées de fabrication. Les informations complémentaires obtenues auprès des laboratoires espagnols ne permettent pas de se faire une opinion sur l'efficacité de ces vaccins titulaires d'AMM délivrées à une époque où les lignes directrices étaient vraisemblablement absentes. Aujourd'hui, les recommandations de l'EMA (European Medicines Agency, Agence européenne des médicaments) (Guideline on data requirements for immunological veterinary medicinal products intended for minor use or minor species / limited markets) devraient s'appliquer.

### **1.3.2. Conditions réglementaires d'utilisation des vaccins commercialisés en Europe**

D'une manière générale, l'utilisation d'un médicament sur le territoire français n'est possible que s'il dispose d'une AMM délivrée par l'ANMV à la suite d'une procédure nationale ou conduite au niveau européen (c'est-à-dire valable en France et dans tout ou partie de l'Union Européenne [UE]). Quand un tel médicament n'existe pas, le recours à la procédure d'importation est possible dans le cadre du principe de la cascade (3° b de l'article L5143-4 du Code de la Santé Publique). Cette procédure est celle suivie en première intention, car elle privilégie l'AMM délivrée par un autre pays membre de l'UE et donc l'évaluation faite par celui-ci.

L'autorisation d'importation est une procédure administrative qui relève de l'Afssa-ANMV et qui implique les éléments suivants :

- le médicament dispose d'une AMM dans un autre Etat membre de l'UE,
- la demande est faite au cas par cas par le vétérinaire prescripteur et doit être argumentée,
- il n'y a pas de nouvelle évaluation scientifique de la part de l'ANMV (pas de réexamen du dossier d'AMM), le principe étant de s'appuyer sur l'AMM délivrée par un autre Etat membre. Les documents demandés par l'ANMV sont essentiellement le RCP et le rapport public d'évaluation, s'il existe. Ce dernier est une synthèse du rapport d'évaluation et ne contient pas de données confidentielles. Cette autorisation d'importation ne préjuge pas d'éventuelles contre-indications d'ordre réglementaire en vigueur localement.



Pour les médicaments autorisés dans d'autres Etats membres de l'UE mais pas en France, d'autres procédures peuvent être envisagées pour les rendre accessibles au marché français :

- l'AMM sous circonstances exceptionnelles : elle implique la constitution d'un dossier d'AMM qui ne contient pas toutes les données d'un dossier complet et pour lequel l'autorisation, si elle est accordée, est assortie d'un échéancier sur plusieurs années ; elle est réévaluée annuellement et les éléments manquants sont fournis selon l'échéancier prévu, impliquant des essais, des coûts, etc.
- la procédure de reconnaissance mutuelle : il s'agit, à partir d'un dossier et d'une autorisation existant dans un des Etats membres, d'étendre cette autorisation à tout ou partie des autres Etats membres après une procédure d'évaluation menée en commun.

Pour les médicaments n'existant que dans les pays hors UE, la seule procédure d'introduction en France est l'Autorisation temporaire d'utilisation (ATU) qui n'est applicable que lors d'urgence sanitaire et d'absence de disponibilité sur le marché français (article L.5141-10 du Code de la santé publique).

**En conclusion**, il est possible, sur le plan réglementaire, compte tenu de l'absence de vaccin commercialisé en France, de se procurer des vaccins en Europe sous couvert d'une procédure d'autorisation d'importation et à la condition que ces produits disposent d'une AMM.

La demande d'autorisation d'importation est formulée par le vétérinaire de l'exploitation auprès de la Direction départementale de la protection des populations (DDPP) (cf. annexe 4). Toutefois, il est important de rappeler le manque de données sur l'efficacité réelle des vaccins disponibles. Il apparaît donc nécessaire que leurs performances soient évaluées grâce à des essais vaccinaux encadrés.

## **2. Intérêt, objectifs et conditions de réalisation des essais vaccinaux**

La mise en place de ces essais vaccinaux répond aux recommandations formulées par l'EMEA dans le « Guideline on data requirements for immunological veterinary medicinal products (IVMP) intended for minor use or minor species / limited markets ». Dans le paragraphe 4.2., l'EMEA indique que si les informations ne sont pas disponibles, il est souhaitable que l'efficacité d'un produit soit évaluée par des études appropriées en nature et en nombre suffisant pour apporter les données manquantes (« Should adequate documentation not exist in the literature, the efficacy of the product should be demonstrated in appropriately designed studies. The type and number of studies to be conducted will depend on the deficiencies in available data. »). Il n'est pas raisonnable d'envisager de tester tous les vaccins disponibles sur le marché européen ; il faut donc restreindre le choix à un, voire deux candidats-vaccins, sur la base de critères clairement définis.

### **2.1. Critères de choix du ou des vaccin(s) candidat(s)**

**Le critère le plus important à prendre en compte est la proximité antigénique de la souche vaccinale avec celle circulant actuellement en PA**, ce qui est plus probablement le cas avec les vaccins espagnols qu'avec les vaccins italiens ou roumains. Toutefois, il est important de noter que le simple respect de cette proximité antigénique ne peut constituer, à elle seule, la garantie d'une efficacité vaccinale, qui dépend de nombreux autres facteurs et justifie la réalisation d'un essai vaccinal.

**Afin d'évaluer la proximité antigénique des souches** présentes dans les vaccins espagnols avec la souche circulant actuellement en PA, plusieurs méthodes peuvent être proposées, réalisables soit sur la souche vaccinale, soit avec le vaccin lui-même.

- Les études effectuées sur les souches vaccinales (avec comparaison avec la souche PA) peuvent consister :
  - en un séquençage du génome et d'une partie du protéome,
  - ou en une analyse protéomique sur un extrait bactérien total, et en particulier une caractérisation des Vpmas (Variable protein membrane antigens) exprimées.

Ces études constitueraient l'approche la plus complète et la plus solide au plan scientifique, mais :

- elles impliquent que les firmes productrices de vaccins fournissent les souches bactériennes vivantes,
- elles ne peuvent être conduites que dans des laboratoires spécialisés,
- elles nécessitent au minimum un an de travail.

Par ailleurs, si elles conduisent à une comparaison rigoureuse des séquences génomiques et protéiques des différentes souches de mycoplasmes étudiées, elles ne fournissent cependant pas la preuve d'une protection croisée (sauf en cas d'identité des séquences).

- Une autre approche, plus pragmatique, pourrait être envisagée, qui serait réalisable directement avec les vaccins, sans disposer des souches vivantes. Elle consisterait en une identification, par la technique d'immunoblotting, du spectre des antigènes de la souche PA reconnus par les anticorps fabriqués par des ovins ayant été vaccinés avec chacun des vaccins disponibles. La comparaison de ces spectres pourrait permettre d'identifier la souche vaccinale qui est la plus proche sur le plan antigénique de la souche PA. Il n'est pas garanti que des souches vaccinales qui apparaîtraient antigéniquement proches de la souche PA au vu des résultats de cette technique, soient capables de protéger efficacement contre cette souche, mais cette technique devrait permettre d'orienter le choix d'un vaccin à tester en priorité. Le temps nécessaire pour la réalisation de ce travail est estimé à environ six mois.

Une étude reposant sur le même principe mais effectuée chez le lapin, pourrait permettre d'apporter des informations intéressantes pour un coût plus modéré. On ne peut exclure la possibilité que des variations de la réaction immunitaire vis-à-vis des différents antigènes de *M. agalactiae* soient liées au modèle animal utilisé (lapin versus mouton). Cette éventualité ne constitue cependant pas un handicap majeur, dans la mesure où le test a essentiellement pour but de comparer entre elles les différentes souches vaccinales et d'évaluer leur degré de proximité antigénique avec la souche circulante en PA, et non de comparer la réponse immunitaire de différents hôtes vis-à-vis de tel ou tel antigène mycoplasmique.

Le coût de ces différentes études est variable, dix fois plus élevé pour un séquençage du génome que pour la réalisation d'un test sur lapin.

**L'inactivation des vaccins est un critère également essentiel** pour le choix du ou des vaccins à tester. Les concentrations bactériennes dans les vaccins espagnols sont élevées à très élevées (de  $5 \times 10^8$  à plus de  $5 \times 10^9$  CFU/mL). La qualité de l'inactivation est donc essentielle. La nature du processus utilisé n'étant pas toujours indiquée par le fabricant du vaccin et, bien qu'il y ait un dossier d'AMM, les experts considèrent qu'il n'est pas inutile qu'un contrôle d'inactivation soit effectué, en particulier dans l'optique d'essais sur le terrain. Ce contrôle devra être réalisé dans un laboratoire agréé pour ce type de travail.

**La nature de l'adjuvant** peut être le troisième critère à prendre en compte pour le choix du ou des candidats vaccins. Les travaux récents de Buonavoglia et al. (2008) ont en effet mis en évidence une différence de performance des vaccins liée à la nature des adjuvants utilisés, de meilleurs résultats ayant été obtenus avec les adjuvants huileux par rapport à l'hydroxyde d'aluminium. Le GT AC considère toutefois qu'il est plus important de tenir compte de la proximité antigénique que de la nature de l'adjuvant, sans négliger pour autant l'impact que peut avoir cet adjuvant sur la qualité de l'immunité conférée.

## 2.2. Conditions et modalités de réalisation d'un essai en station

C'est la modalité d'évaluation d'un vaccin qui doit être privilégiée en première intention. Généralement réalisé sur un nombre assez restreint d'animaux, ce type d'essai permet de maîtriser l'ensemble des conditions expérimentales et d'assurer un suivi rigoureux des animaux. Les inconvénients majeurs d'un tel test sont sa lourdeur et son coût. Il a pour objectif d'évaluer l'efficacité d'un vaccin en termes de réponse immunitaire, notamment humorale (production d'anticorps), de protection contre la maladie clinique (symptômes, gravité) et d'excrétion de *M. agalactiae* (lait, autres voies).

Les conditions générales de réalisation qui peuvent être proposées dans le cas présent sont les suivantes :

- brebis primipares de race Manech tête rousse (principale destinataire de la vaccination future) issues de troupeaux indemnes d'AC situés en zone indemne et présentant des résultats d'examens sérologiques individuels négatifs,
- animaux répartis en un lot témoin et un lot par vaccin, à raison de dix animaux minimum par lot,
- administration vaccinale sur brebis non gravide selon le protocole recommandé par le fabricant du vaccin,
- épreuve virulente effectuée trois à quatre semaines après mise bas, suivant un modèle validé.

Le suivi sérologique devrait être mis en place dès l'administration vaccinale avec une prise de sang hebdomadaire. Le suivi clinique des animaux devrait débuter une semaine avant l'épreuve virulente et comprendre un examen clinique journalier avec prise de température et, a minima tous les trois jours, un examen qualitatif et quantitatif de la production lactée de chaque demi-mamelle, avec une recherche bactériologique classique et mycoplasmique (PCR avec quantification) ainsi qu'un dénombrement des cellules somatiques. Ce suivi devrait être réalisé pendant au moins un mois après l'administration de l'épreuve virulente.

### 2.3. Conditions et modalités de réalisation d'un essai sur le terrain

Un « essai terrain » est une étude menée directement dans des exploitations, ce qui permet de tester le vaccin sur un nombre important d'animaux, placés en conditions habituelles d'élevage et soumis à une infection « naturelle » (voie de contamination, dose infectante ...). Le caractère aléatoire de la contamination des cheptels et les difficultés d'assurer un suivi rigoureux de l'ensemble des effectifs soumis à l'essai sont les inconvénients majeurs d'une expérimentation de cette nature. Pour des raisons pratiques évidentes, la standardisation d'un essai sur le terrain est toujours plus délicate que dans le cas d'un essai en station. Ce manque de standardisation est le point le plus souvent critiquable de ce type d'étude, mais elle reflète mieux la réalité du terrain qu'un essai en station.

En toute logique, un essai sur le terrain ne peut être envisagé que si une évaluation en station a été **préalablement** réalisée et s'est révélée concluante (démonstration d'une efficacité sur l'expression clinique et/ou sur l'excrétion). Toutefois dans certaines situations d'urgence, des essais menés en élevage parallèlement à des essais en station peuvent s'avérer utiles, en apportant des données complémentaires intéressantes (test à large échelle) ou en constituant une source alternative d'informations dans le cas, toujours possible, d'un échec de la reproduction expérimentale de la maladie. Les décisionnaires doivent être conscients que **la mise en place d'essais en élevage, sans garantie préalable d'une efficacité minimale du vaccin, peut conduire à des investissements importants à fonds perdus. De plus, en cas d'échec, la crédibilité de la vaccination peut être durablement affectée.**

Tous les vaccins contre l'AC disponibles en 2010 sur le marché (notamment espagnols) entraînent l'apparition d'anticorps qui ne peuvent être différenciés de ceux induits par une infection. La durée de ce marquage n'est pas connue avec précision et est susceptible de constituer un handicap sérieux pour l'établissement du statut d'un cheptel vacciné et donc pour :

- la délivrance d'autorisations de transhumance,
- le commerce des animaux,
- la fourniture d'animaux à la filière de sélection,
- la mise en œuvre d'une procédure d'assainissement progressif.

Les participants à l'« essai terrain » doivent être informés très clairement de toutes ces conséquences négatives.

L'« essai terrain » peut permettre d'évaluer en conditions naturelles l'impact de la vaccination sur l'expression clinique ainsi que son effet sur la réduction de l'excrétion des animaux. En revanche, l'évaluation des conséquences de la vaccination sur la dynamique inter-troupeaux de l'infection



mycoplasmique nécessiterait un nombre très élevé de cheptels participants et ne doit donc être programmée que si des résultats favorables sur l'excrétion ont été préalablement démontrés par un essai en station. Selon l'objectif ciblé (réduction de l'expression clinique et/ou réduction de l'excrétion), les modalités pratiques de réalisation d'un « essai-terrain » vont différer, conditionnant sa faisabilité et son coût. Les conditions de réalisation doivent être scrupuleusement respectées, sous peine de non validation des résultats obtenus. Compte tenu du caractère aléatoire de la contamination, il serait souhaitable de pouvoir intégrer au minimum une dizaine de cheptels dans ce type d'essai.

Les conditions générales qu'il est souhaitable de remplir pour cet essai sont les suivantes :

1. Réalisation dans des cheptels :

- indemnes d'AC (absence de signes cliniques, PCR sur lait de tank négatives et sérologies négatives). Les contrôles doivent avoir été réalisés au maximum dans les huit jours précédant la vaccination et doivent concerner l'ensemble de l'effectif (agnelles, brebis),
- présentant une forte probabilité d'être infectés (situation au cœur d'une zone infectée, avec des troupeaux voisins infectés récemment si possible ; existence de nombreux facteurs de risque de contamination peu ou pas maîtrisés, comme, par exemple, de multiples contacts potentiels en pâture, des parcours communs empruntés quotidiennement ...),
- disposant d'une identification individuelle des animaux.

2. Vaccination effectuée :

- seulement sur une partie du cheptel (70 % maximum des animaux de chaque tranche d'âge – agnelles, antenaises et adultes). Le nombre d'animaux témoins (non vaccinés) est limité à 30% (versus un idéal de 50%) afin de diminuer la proportion d'animaux susceptibles de développer des signes cliniques et de ne pas rendre la participation à l'essai trop pénalisante pour l'éleveur,
- en double aveugle avec respect strict du protocole du fabricant et administration d'un placebo aux animaux témoins. Le placebo peut être constitué par du sérum physiologique, seul ou avec l'adjuvant présent dans le vaccin contre l'AC testé ou par un vaccin commercial (non dirigé contre l'AC) utilisant le même adjuvant que le vaccin contre l'AC testé.

3. Mise en place d'une surveillance régulière des cheptels en vue de la détection d'une éventuelle infection :

- sur le plan clinique, avec recherche systématique de *M. agalactiae* en cas de constat de modifications qualitative ou quantitative de la production lactée, de troubles articulaires ou de problèmes oculaires,
- par la réalisation de tests sérologiques sur l'ensemble des animaux (agnelles et brebis) a minima à J0, J45 et J90 post-vaccination (test ELISA p48),
- par PCR sur lait de tank
  - selon le rythme prévu pour la campagne si l'objectif de l'essai est de tester l'efficacité du vaccin vis-à-vis de l'expression clinique,
  - tous les 15 jours minimum si l'objectif de l'essai est également de tester l'efficacité du vaccin vis-à-vis de l'excrétion (identification des cas d'infections asymptomatiques).

4. Renforcement du suivi du cheptel dès repérage de l'infection :

- par examen clinique hebdomadaire individuel de tous les animaux du cheptel effectué par le vétérinaire de l'exploitation et/ou par toute personne formée et mandatée par le responsable de l'essai (examens mammaire, articulaire et oculaire),
- par enregistrement quotidien de toute modification qualitative ou quantitative de la production laitière,
- par réalisation d'une PCR sur prélèvement de lait individuel (mélange des deux demi-mamelles) tous les huit jours sur les femelles en lactation, si l'objectif est d'évaluer l'efficacité de la vaccination sur l'excrétion.

*En conclusion, la réalisation d'essais en station et/ou en élevages apparaît indispensable afin d'apporter la preuve d'une efficacité des vaccins espagnols sur le plan de la maîtrise de la clinique et éventuellement de l'excrétion. Ces essais devraient également être mis à profit pour constituer une sérothèque, qui serait utile ultérieurement pour l'évaluation de nouveaux tests sérologiques. Il est souhaitable que la mise en place de ces essais fasse l'objet d'un appel d'offres. Un comité de pilotage devrait être constitué et chargé d'examiner la pertinence des dossiers remis par les pétitionnaires ainsi que les résultats obtenus. L'objectif de la démarche est de définir le meilleur vaccin parmi ceux utilisables à l'heure actuelle en attendant de disposer des vaccins de deuxième génération. Ces derniers, en cours de mise au point, seront, du fait de leurs modalités de conception, les seuls compatibles avec un objectif de contrôle de l'infection reposant sur une prophylaxie de type médico-sanitaire.*

### **3. Place de la vaccination dans la gestion de l'agalactie contagieuse en Pyrénées-Atlantiques**

#### **3.1. Présentation des différentes orientations stratégiques possibles incluant l'outil vaccinal**

*De façon générale, il est rappelé que la vaccination peut être employée pour lutter contre une maladie infectieuse, dans un objectif d'assainissement (baisse de la pression d'infection) voire d'éradication (objectif toutefois difficilement atteint avec la vaccination seule). Cependant, le plus souvent, elle est d'abord utilisée pour réduire l'impact économique d'une maladie en limitant le nombre de cas cliniques. Un vaccin qui n'a pas clairement démontré au minimum un effet sur la réduction de l'expression clinique ne devrait jamais être employé sur le terrain.*

***Si le choix stratégique s'oriente vers l'assainissement, voire l'éradication à terme, il est nécessaire de disposer de vaccins capables de réduire, voire de supprimer l'excrétion.** Une prophylaxie médicale visant à réduire la pression infectieuse sur le terrain est cependant envisageable, pendant une période transitoire, avec un vaccin qui ne serait efficace que sur l'expression clinique (les animaux malades étant généralement des individus fortement excréteurs). Il faut toutefois que cette prophylaxie médicale corresponde bien à une démarche collective, c'est-à-dire une vaccination obligatoirement encadrée, mise en place dans des élevages définis en fonction de leur exposition au risque et dans un secteur géographique plus ou moins étendu. Habituellement, le recours à cette solution est envisagé pour une infection responsable de pertes économiques importantes, dont les capacités de diffusion rendent les mesures sanitaires classiques inopérantes et pour laquelle les vaccins disponibles présentent des garanties d'efficacité. Dans un deuxième temps, le relais peut être pris par des vaccins plus efficaces sur la réduction de l'excrétion, dès que ceux-ci sont disponibles. La prophylaxie médicale doit être alors maintenue jusqu'à démonstration de l'arrêt de la circulation de l'agent pathogène (objectivé par l'absence de séroconversion sur des animaux sentinelles ou par test sérologique permettant de dépister l'infection chez l'animal vacciné). Une période de prophylaxie médico-sanitaire suivie d'une phase de prophylaxie sanitaire stricte permet d'achever l'assainissement qui, avec ce type de démarche, est forcément différé dans le temps.*

***Si le choix stratégique s'oriente vers la seule réduction du nombre de cas cliniques** afin de limiter les pertes économiques (sans prétendre à terme à une maîtrise de l'infection ou à une éradication de la maladie), il est alors possible de recourir aux vaccins ayant démontré une réelle efficacité sur la réduction de la clinique. Cependant, la vaccination n'empêchant probablement pas l'infection, un certain nombre d'animaux vaccinés pourraient devenir porteurs et excréteurs chroniques, entretenant ainsi la pérennité de l'infection à l'échelle des cheptels. Si ce choix de « vivre avec la maladie » est fait, il est alors logique que la démarche de vaccination redevienne individuelle, chaque éleveur prenant la décision ou non de vacciner son cheptel et assumant toutes les conséquences de ce choix (restrictions de circulation des animaux, impossibilité d'accès à certains circuits commerciaux ...).*

### **3.2. Utilisation potentielle de la vaccination dans le plan de lutte actuel vis-à-vis de l'agalactie contagieuse dans les Pyrénées-Atlantiques**

**Il est indispensable que les éleveurs se prononcent clairement sur leur volonté d'aboutir ou non à l'assainissement, voire à l'éradication de l'AC dans les PA.** C'est en effet la condition sine qua non pour pouvoir définir la stratégie à mettre en place pour les prochaines années et dont les grandes lignes doivent tenir compte :

- de la menace qui pèse sur un certain nombre d'élevages et indirectement sur la filière,
- des performances des outils de prévention et de dépistage actuellement disponibles ainsi que de leur amélioration probable dans un avenir proche,
- de la situation épidémiologique actuelle,
- des efforts et investissements consentis jusqu'à présent par la collectivité et qui ont abouti à l'assainissement apparent, puis au maintien du statut indemne d'une grande partie du département.

#### **Remarques importantes :**

**Les propositions formulées dans ce paragraphe impliquent a minima que l'efficacité vis-à-vis de la clinique des vaccins utilisés ait été démontrée par des études appropriées (cf. 2.) et que, par ailleurs, les responsables sanitaires des PA se soient prononcés en faveur d'une politique de lutte collective contre l'AC dans le département.**

**Enfin, le schéma vaccinal proposé devra être révisé en fonction de l'évolution des performances des vaccins disponibles. On peut espérer que les vaccins de deuxième génération seront mieux adaptés à une démarche d'assainissement mais ils ne seront pas disponibles, a priori, avant un minimum de quatre à cinq ans.**

La concentration des foyers d'AC dans les PA est un élément particulièrement important à prendre en compte, car elle permet d'envisager une adaptation de la stratégie vaccinale par secteur géographique, ce qui ne peut qu'en faciliter la mise en place et le suivi.

- **En zones infectées** (zones à risque et périmètres de surveillance renforcée), la vaccination devrait être utilisée en priorité dans un objectif défensif. Les cheptels concernés sont principalement ceux qui présentent un risque particulièrement élevé de contamination en raison d'un voisinage majoritairement infecté et de l'existence de nombreux facteurs de risque de contamination (parcours communs...). La vaccination serait alors particulièrement justifiée dans les troupeaux qui n'ont encore jamais déclaré l'AC, et qui sont, de ce fait, les plus susceptibles de présenter des formes cliniques graves, très pénalisantes sur le plan économique. Tous les ovins du troupeau devraient être vaccinés, y compris les mâles et le protocole devrait être rigoureusement respecté. Il n'est pas possible de déterminer pendant combien de temps cette vaccination devrait être maintenue, et l'on peut s'interroger sur l'observance à long terme d'un protocole vaccinal très lourd. Ainsi, le plan « Ilovet », proposé par Farco Veterinaria en Espagne, préconise l'administration du vaccin Algontex® aux agnelles à l'âge de 45, 70 et 100 jours, puis deux rappels annuels chez les adultes. En complément, un traitement antibiotique est prévu chez les primipares 15 jours avant l'agnelage puis au tarissement chez les adultes.  
L'emploi de la vaccination dans un but offensif, c'est-à-dire dans un cheptel déjà infecté, est envisageable, mais rien ne permet d'affirmer qu'une telle démarche présente un intérêt particulier. Enfin, l'efficacité d'une vaccination d'urgence (dès l'apparition des premiers cas), dépend de la vitesse de diffusion de l'infection au sein du cheptel, elle-même fonction de nombreux facteurs tels que les modalités de conduite du troupeau, le moment de la contamination par rapport au stade de lactation... Le délai moyen de contamination de la totalité d'un cheptel par l'AC est d'environ trois à quatre semaines, ce qui correspond au temps habituellement nécessaire à l'installation d'une immunité protectrice avec des vaccins inactivés. Le bénéfice d'une vaccination d'urgence n'est donc pas garanti.

- **En zone indemne**, la vaccination ne serait envisageable que dans les cheptels en lien épidémiologique avec un foyer, et sa mise en place ne devrait se faire qu'après analyse approfondie de la situation (décision au cas par cas). En effet, il convient de prendre en compte :
  - l'existence d'une contamination des cheptels voisins,
  - l'importance des facteurs de risque de contamination par les cheptels voisins,
  - et l'ensemble des contraintes générées par la vaccination (cf. infra).

La vaccination dans un foyer ne peut en aucun cas constituer une garantie pour les cheptels mitoyens.

### 3.3. Contraintes liées à la mise en place d'une prophylaxie médicale avec les vaccins actuellement disponibles

Quels que soient sa localisation géographique, son statut infectieux initial et le vaccin utilisé, **un cheptel vacciné doit être considéré comme potentiellement contagieux**, même si les résultats de la surveillance par bactériologie sur le lait sont favorables (possibilité d'excrétion intermittente). En effet, seule la sérologie est capable de révéler une circulation mycoplasmique chez les femelles hors lactation, chez les jeunes ou dans un cheptel allaitant. La circulation de ces animaux (vente, transhumance estivale ou hivernale) doit rester soumise à des résultats négatifs aux tests sérologiques.

Aucun vaccin disponible actuellement ne permettant de distinguer un animal infecté d'un animal vacciné, il en résulte pour les cheptels vaccinés :

- une interdiction de transhumer ou une limitation de la transhumance à des estives accessibles seulement à des animaux issus de cheptels de statut équivalent, et bien séparées géographiquement des estives fréquentées par les cheptels indemnes,
- une autorisation de vente d'animaux reproducteurs uniquement à destination de cheptels de statut équivalent,
- la mise en place de dispositions particulières pour la filière de sélection. A l'heure actuelle, afin de pouvoir disposer d'un nombre suffisant de jeunes béliers en particulier de race Manech, un protocole spécifique est prévu pour le recrutement de jeunes béliers issus d'élevages indemnes situés dans la zone à risque. Ce protocole prévoit de les rassembler dans une station de quarantaine et de les soumettre à plusieurs tests sérologiques individuels, avant leur admission en centre d'évaluation génétique. En raison de la persistance probable des anticorps colostraux pendant environ trois mois, ce protocole devra être adapté pour les jeunes béliers issus de mères vaccinées.

Toutes ces contraintes devraient être très clairement indiquées par écrit à l'éleveur qui déciderait de recourir à la vaccination.

Afin de pouvoir évaluer l'impact de la prophylaxie médicale sur la dynamique de l'infection, et pour faciliter l'éventuelle transition ultérieure vers une prophylaxie sanitaire ou médico-sanitaire avec un vaccin permettant la différenciation vacciné/infecté, il est indispensable que la vaccination fasse l'objet d'un suivi rigoureux grâce à une action conjointe de la DDPP et du Groupement de défense sanitaire (GDS). Dans la perspective désormais proche de la mise en place d'une traçabilité individuelle pour les petits ruminants, la constitution d'un fichier des animaux vaccinés (avec suivi des injections vaccinales) apparaît indispensable. Une étude permettant de définir la persistance du marquage sérologique post-vaccinal devra également être programmée. Afin d'inciter à la déclaration de la vaccination, diverses mesures peuvent être mises en place telles que, par exemple, des aides pour compenser les conséquences des contraintes occasionnées par la vaccination, la réalisation de sérologies aléatoires de contrôle à la discrétion des gestionnaires départementaux, etc.

#### **4. Conclusion et proposition d'avis du CES SA**

Considérant :

- *l'incertitude concernant l'efficacité des vaccins actuellement commercialisés en Espagne sur l'expression clinique et/ou sur l'excrétion,*
- *les difficultés de mise en application des mesures de prophylaxie sanitaire dans certains secteurs du département, du fait de l'imbrication étroite des élevages,*
- *la menace très forte de contamination qui pèse sur certains élevages indemnes situés en zones infectées,*
- *les pertes économiques qui peuvent résulter d'un épisode clinique dans un élevage ainsi que les difficultés qui découlent de l'apparition de nombreux foyers pour la filière de transformation,*
- *la variabilité de l'incidence et de la prévalence de l'AC au sein du département des PA,*
- *le marquage sérologique des animaux vaccinés probablement à long terme, et ne permettant pas, pour l'instant, la distinction entre animaux vaccinés et infectés,*
- *que le test sérologique reste le seul moyen de définir le statut sanitaire d'un cheptel lorsque les animaux sont hors lactation,*
- *que le choix de la stratégie vis-à-vis de l'AC dans les PA dépend de l'objectif visé par les éleveurs, qui peut être de maîtriser voire d'éradiquer l'infection à terme, ou bien d'accepter de vivre avec la maladie,*
- *que ce choix conditionne la lutte qui peut être conduite soit de manière collective soit de manière individuelle,*
- *que les nouveaux outils vaccinaux mieux adaptés à une prophylaxie médico-sanitaire ne seront pas disponibles avant, au minimum, quatre à cinq ans,*

*le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » recommande que les professionnels de la filière engagent rapidement une réflexion sur les objectifs à moyen et long terme visés par la lutte contre l'AC dans les PA, et décident :*

- *de la poursuite d'une prophylaxie de type collectif, si la volonté est de parvenir à un assainissement, voire à une éradication de l'AC,*
- *ou d'une orientation vers une prophylaxie individuelle, ce qui signifie la persistance de l'AC dans le département,*

*et, dans l'hypothèse où un objectif d'assainissement, voire d'éradication à terme de la maladie, serait poursuivi, le CES SA recommande :*

- *de procéder à des appels d'offres pour la réalisation d'études d'évaluation des performances des vaccins espagnols, en station et sur le terrain, conformément aux lignes directrices développées dans cet avis,*
- *de limiter l'emploi des vaccins commercialisés en Espagne aux élevages soumis à un risque de contamination élevé, évalué par une enquête épidémiologique approfondie,*
- *de considérer tout cheptel vacciné comme potentiellement contagieux et de soumettre les animaux de ce troupeau à des restrictions de circulation spécifiques,*
- *de réserver l'octroi d'aides aux exploitants dont le cheptel aura été vacciné après réalisation d'une démarche d'évaluation des risques,*
- *de mettre en place un fichier des animaux vaccinés, afin de faciliter la gestion sanitaire des effectifs vaccinés,*
- *de constituer un comité de pilotage, composé de responsables locaux et de personnalités scientifiques externes et chargé spécifiquement du dossier « vaccination »,*
- *de reconsidérer le plan de lutte à la faveur de l'évolution des connaissances et des moyens de lutte (vaccin en particulier) disponibles. »*



## **CONCLUSION**

Tels sont les éléments d'analyse que l'Afssa est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la DGAI concernant une demande d'avis relatif à la vaccination contre l'agalactie contagieuse des petits ruminants.

**Le directeur général**

**Marc MORTUREUX**

## **MOTS-CLES**

**Mots clés** : agalactie contagieuse, Pyrénées-Atlantiques, vaccins, mesures de lutte, ovins, mycoplasme

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Arrêté ministériel du 2 décembre 2003 portant interdiction de la préparation, la mise sur le marché, la prescription, la délivrance, l'administration, l'importation, et l'exportation des autovaccins à usage vétérinaire destinés aux bovins, ovins ou caprins, à base de produits d'origine bovine, ovine ou caprine. JO du 13 janvier 2004, page 1000.

Buonavoglia D, Fasanella A, Sagazio P, Tempesta M, Iovane G, Buonavoglia C (1998). Persistence of antibodies to *Mycoplasma agalactiae* in vaccinated sheep. *New Microbiol* 21, 209-212.

Buonavoglia D, Greco G, Quaranta V, Corrente M, Martella V, Decaro N (2008). An oil-emulsion vaccine induces full-protection against *Mycoplasma agalactiae* infection in sheep. *New Microbiol* 31, 117-123.

Buonavoglia D, Greco G, Corrente ML, Greco MF, D'Abramo M, Latronico F, Fasanella A, Decaro N (2009). Long-term immunogenicity and protection against *Mycoplasma agalactiae* induced by an oil adjuvant vaccine in sheep. *Res Vet Sci* article sous presse.

European Medicines Agency (EMA) - Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP) (2008) Guideline on data requirements for immunological veterinary medicinal products intended for minor use or minor species/limited markets. 16 pages. <http://www.emea.europa.eu>

Foggie A, Etheridge JR, Erdag O, Arisoy F (1970a) Contagious agalactia of sheep and goats. Preliminary studies on vaccines. *J Comp Path* 80, 345-358.

Foggie A, Etheridge JR, Erdag O, Arisoy F (1970b). Contagious agalactia of sheep and goats. The serial passage in goats of an attenuated strain of *Mycoplasma agalactiae* AIK40. *Res Vet Sci* 11, 477-479.

Foggie A, Etheridge JR, Erdag O, Arisoy F (1971a). Contagious agalactia of sheep and goats. Studies on live and dead vaccines in lactating ewes. *J Comp Path* 81, 165-172.

Foggie A, Etheridge JR, Erdag O, Arisoy F (1971b). Contagious agalactia of sheep and goats. Immunity of lactating ewes vaccinated before mating with live or dead vaccines. *J Comp Path* 81, 393-400.

Gil MC, Hermoso de Mendoza M, Rey JM, Alonso JM, Hermoso de Mendoza J (1998). Agalaxia contagiosa caprina por *M. agalactiae* : índices sanitarios e influencia que sobre ellos ejercen los antecedentes y vacunación específica. XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC), 317-320.

Glew MD, Papazisi L, Poumarat F, Bergonier D, Rosengarten R, Citti C (2000). Characterization of a multigene family undergoing high-frequency DNA rearrangements and coding for abundant variable surface proteins in *Mycoplasma agalactiae*. *Infect Immun* 68, 4539-4548.

Guijarro R (2006) Vaccination against contagious agalaxia in sheep and goats. Evaluation of the immune response. *Albeitar* 100, 54-55.

Lambert M (1985). Assessment of a live attenuated vaccine against *Mycoplasma agalactiae*. In Contagious agalactia and other mycoplasmal diseases of small ruminants, Proceedings International Workshop, Jones GE ed, Nice, 19-20 septembre. CEC, Luxembourg, report EUR 10984 EN, 71-76.

Mellado JM, Marcos FJ, Sánchez JM, Esnal A, Marco JC (2009). Agalaxia contagiosa - Seroperfiles y microbiología en un rebaño de ovejas bajo un protocolo de vacunación con Algontex®. In XXXIV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC), Barbastro (Huesca), España, 16-19 de septiembre de 2009, 184-189.

Nicholas RAJ, Ayling RD and McAuliffe L (2009). Vaccines for Mycoplasma Diseases in Animals and Man. J Comp Path 140, 85-96.

Nouvel LX (2009). Etude de la diversité génétique de *Mycoplasma agalactiae* : plasticité des génomes, mobilome et dynamique de surface. Thèse de doctorat d'Université, Toulouse, 261 pages.

Nouvel LX, Marena M, Sirand-Pugnet P, Sagné E, Glew M, Mangenot S, Barbe V, Barré A, Claverol S, Citti C (2009). Occurrence, plasticity, and evolution of the Vpma gene family, a genetic system devoted to high-frequency surface variation in *Mycoplasma agalactiae*. J Bacteriol 191, 4111-4121.

Pépin M, Sanchis R, Abadie G, Lambert M, Dufour P, Guibert JM (2001). Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using an inactivated vaccine. In *Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 5, JB Poveda, A Fernandez, J Frey and KE Johansson, Eds, European Commission, Brussels, 162-165.

Pérez I, Solanes M, Alvarez J, Marco J, Feced J (1990). Eficacia en el control de un foco de galaxia contagiosa de una vacuna a base de *Mycoplasma agalactiae* inactivado presentado en doble emulsion (Galazel) en un rebaño ovino/caprino en Medinaceli (Soria). In XV jornadas científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, Cordoba. Vera A y Herrera M eds, Zaragoza 151-152.

Sarris K, Papadopoulos O (1985) Quality control of a contagious agalactia vaccine in sheep. Contagious agalactia and other mycoplasmal diseases of small ruminants, Proceedings International Workshop, Jones GE ed, Nice, 19-20 septembre. CEC, Luxembourg, report EUR 10984 EN, 29-34.

Tola S, Manunta D, Rocca S, Rocchigiani AM, Idini G, Angioi PP, Leori G (1999). Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using different inactivated vaccines. Vaccine 17, 2764-2768.

Vermout S, Denis M, Losson B, Mignon B (2003). Choix d'un adjuvant lors d'essais de vaccination. Ann Méd Vét 147, 393-401.

Vizcaino LL, Garrido Abellan F, Cubero Pablo MJ, Perales A (1995). Immunoprophylaxis of caprine contagious agalactia due to *Mycoplasma agalactiae* with an inactivated vaccine. Vet Rec 137, 266-269.

ANNEXE 1 : TABLEAU RECAPITULATIF DES ESSAIS DE VACCINS CONTRE L'AGALACTIE CONTAGIEUSE

Références bibliographiques	Espèce	Caractéristiques du vaccin testé	Protocole vaccinal	Modalités d'évaluation de l'efficacité du vaccin	Résultats
Sarris et Papadopoulos, 1985	Ovine	Vaccin commercial, inactivé (formol) Adjuvant : hydroxyde d'aluminium Témoins	2 injections à 15 jours d'intervalle Témoins	Epreuve virulente avec suivi clinique et bactériologique (14 jours après l'épreuve virulente)	Excrétion 1 brebis sur 7 Excrétion 3 brebis sur 6
Vizcaino <i>et al.</i> , 1995	Caprine	Isolat du terrain inactivé (formol) Adjuvant : huile minérale	2 ou 3 injections / an : 2 et 1 mois avant et 3 mois après mise bas, rappel annuel ou 1 mois avant et 3 mois après	Exposition à l'infection naturelle avec suivi du cheptel pendant 6 ans + Epreuve virulente (en fin de phase d'observation)	Faible efficacité vaccinale en termes de protection et d'excrétion Bonne protection des animaux guéris
Gil <i>et al.</i> , 1998	Caprine	Non précisées	Non précisé	Exposition à l'infection naturelle, suivi clinique des cheptels vaccinés (Comparaison prévalence clinique et létalité entre cheptels par une enquête rétrospective)	Prévalence clinique plus faible dans les troupeaux avec antécédents d'AC ou ayant été vaccinés
Buonavoglia <i>et al.</i> , 1998	Ovine	Souche Ag/ Fg1 inactivée (formol) Adjuvant : hydroxyde d'aluminium	2 injections à 25 jours d'intervalle	Suivi sérologique PV* (11 mois)	Anticorps détectables pendant 3 mois
		Souche Ag/ Fg1 inactivée (formol) Adjuvant huileux	2 injections à 25 jours d'intervalle	Suivi sérologique PV* (11 mois)	Anticorps détectables pendant 11 mois
Tola <i>et al.</i> , 1999	Ovine	Souche NU 658 inactivée (phénol) Adjuvant : hydroxyde d'aluminium	2 injections avant gestation + 1 injection pendant la gestation	Epreuve virulente (Inoculation intra mammaire d'un mélange de 3 isolats terrain à 2 brebis témoins, puis traite des autres brebis par les mains des trayeurs volontairement contaminées par le lait des brebis inocuées)	0 clinique sur 6
		Souche inactivée (formol)			3 cliniques sur 6
		Souche inactivée (chaleur)			5 cliniques sur 6
		Souche inactivée (hypochlorite)			4 cliniques sur 6
		Souche NU 658 inactivée (saponine) Non adjuvée			0 cliniques sur 6

Références bibliographiques	Espèce	Caractéristiques du vaccin testé	Protocole	Modalités d'évaluation de l'efficacité du vaccin	Résultats
Pepin, <i>et al.</i> 2001	Ovine	Vaccin espagnol NP inactivé Adjuvant : hydroxyde d'aluminium.	2 injections à 2 semaines d'intervalle pendant la gestation	Suivi sérologique PV* et épreuve virulente (isolat PA par voie sous-cutanée)	Anticorps décelables 22 semaines PV*, pas d'effet sur l'excrétion
Guijarro, 2006	Ovine	Galazel ®	2 injections à 15 jours d'intervalle	Suivi sérologique PV* (6 semaines)	Production d'anticorps ++
	Caprine		2 injections à 15 jours d'intervalle	Suivi sérologique PV* (6 semaines)	Production d'anticorps ++
	Caprine		2 injections (double dose) à 15 jours d'intervalle	Suivi sérologique PV* (6 semaines)	Production d'anticorps +++++
Buonavoglia <i>et al.</i> 2008	Ovine	Souche Ma Ba/2, inactivée ( $\beta$ propriolactone) + 1 adjuvant	2 injections à 30 jours d'intervalle	Epreuve virulente (souche vaccinale inoculée par voie nasale)	Morbidité nulle, excrétion +++
		Souche MaBa/2, inactivée ( $\beta$ propriolactone) + 3 adjuvants	2 injections à 30 jours d'intervalle	Epreuve virulente (souche vaccinale inoculée par voie nasale)	Morbidité nulle, excrétion+++
		Souche MaBa/2, inactivée ( $\beta$ propriolactone) + 3 adjuvants en proportions différentes de l'essai 2	2 injections à 30 jours d'intervalle	Epreuve virulente (souche vaccinale inoculée par voie nasale)	Morbidité nulle, pas d'excrétion détectée
Buonavoglia <i>et al.</i> 2009	Ovine	Souche MaBa/2, inactivée ( $\beta$ propriolactone) + 3 adjuvants	2 injections à 30 jours d'intervalle	Epreuve virulente (souche vaccinale inoculée par voie nasale 5 mois après 2 <sup>ème</sup> injection vaccinale)	Morbidité nulle, pas d'excrétion détectée
		Souche MaBa/2, inactivée ( $\beta$ propriolactone) + 3 adjuvants	2 injections à 30 jours d'intervalle	Epreuve virulente (souche vaccinale inoculée par voie nasale 8 mois après 2 <sup>ème</sup> injection vaccinale)	Morbidité nulle, pas d'excrétion détectée
Mellado <i>et al.</i> 2009	Ovine	Algontex ®	Protocole du fabricant	Exposition à l'infection naturelle Suivi microbiologique (dans le lait) et suivi sérologique (test ELISA p48)	Réduction de la morbidité, excrétion mycoplasmaïque intermittente dans le lait

\* PV : post-vaccination



**ANNEXE 2 : COMPLEMENTS D'INFORMATIONS SUR LES VACCINS ATTENUÉS (VACCINS VIVANTS) CONTRE *M. AGALACTIAE***

Les études relatives aux vaccins vivants atténués contre *M. agalactiae* sont, pour la plupart, anciennes.

Au début des années 1970, en Turquie, une équipe a produit plusieurs publications relatives à l'intérêt d'un vaccin atténué contre *M. agalactiae* (Foggie *et al.* 1970a, 1970b, 1971a, 1971b).

Plusieurs vaccins inactivés par le formol et utilisant différents adjuvants ont fait l'objet de travaux préliminaires. Aucun de ces vaccins n'a empêché, après épreuve virulente, l'infection des chèvres vaccinées mais les symptômes ont parfois été moins sévères que chez les témoins (Foggie *et al.* 1970a).

Un vaccin atténué par 40 passages successifs sur milieu gélosé (souche AIK 40) semble plus efficace pour protéger les animaux contre une épreuve virulente qu'un vaccin inactivé même si, après vaccination, certaines brebis vaccinées présentent des symptômes mammaires ou articulaires et si certains agneaux allaités présentent une réaction sérologique positive (Foggie *et al.* 1971a).

L'inoculation de la même souche (AIK40) à des brebis avant la lutte a semblé procurer une bonne protection contre une épreuve virulente par voie sous-cutanée à l'aide d'une souche n'ayant subi que trois passages en culture (AIK3) (Foggie *et al.* 1971b).

L'absence de récupération de la virulence a été vérifiée chez la chèvre (huit passages successifs de la souche AK40 ; Foggie *et al.* 1970b) et chez la brebis (dix passages d'une souche atténuée non identifiée) (Lambert, 1985) ; néanmoins, l'inoculation de la souche AIK40 à des brebis en fin de gestation ou en lactation a provoqué plusieurs cas d'agalactie clinique (Foggie *et al.* 1970b).

**Globalement, les vaccins vivants atténués semblent plus efficaces que les vaccins inactivés mais ils n'empêchent pas l'excrétion et sont parfois à l'origine de symptômes d'agalactie chez les animaux vaccinés. Les auteurs des travaux réalisés avec ces vaccins concluent que leur usage doit être limité aux zones d'enzootie et que les brebis doivent être vaccinées en dehors de la lactation afin d'éviter les pertes de production.**

**ANNEXE 3 : TABLEAU DES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES VACCINS DISPOSANT D'UNE AMM EN ESPAGNE  
(COMPILATIONS DES NOTICES ET DES RESUMES DES CARACTERISTIQUES DES PRODUITS [RCPI])**

N° AMM (Date d'obtention)	DENOMINATION COMMERCIALE	LABORATOIRE FABRICANT	SOUICHE	NATURE DU OU DES ADJUVANT(S)	PROTOCOLE VACCINAL
10311 (1987)	AGALAXIPRA®	HIPRA	Souche 784 inactivée	Hydroxyde d'aluminium	<u>Cas général</u> : une injection tous les 6 mois <u>Urgence</u> : 2 injections à 8-15 jours d'intervalle
10871 (1990)	GALAZEL®	SCHERING- PLOUGH, S.A.	Souche N262 inactivée	Huile minérale/ mannide monooléate /polysorbate 80	<u>Primo vaccination</u> : à partir de l'âge de 3 mois, 2 injections à 2-4 semaines d'intervalle. <u>Rappel</u> : tous les 6 mois.
5662	MYO-GALAX®	OVEJERO	Produit ne figurant plus sur le site Web du laboratoire fabricant		
7724 (1975)	AGALAX UNO®	SYVA	Souche N84 inactivée	Hydroxyde d'aluminium	<u>Primo vaccination</u> : à partir de l'âge de 3 mois, 2 injections à 2-4 semaines d'intervalle. <u>Rappel</u> : tous les 6 mois.
7895	AGALAXINA®	FARBIOI	Pas de RCP communiqué par l'Agence du médicament vétérinaire espagnole		
7929 (1975)	AGALAX TRES®	SYVA	Souche <i>M. agalactiae</i> N84 inactivée (+ <i>M. capricolum</i> + <i>M. mycoides mycoides</i> )	Hydroxyde d'aluminium	<u>Primo vaccination</u> : à partir de l'âge de 2/3 mois, 2 injections à 2-4 semaines d'intervalle. <u>Rappel</u> : tous les 4 à 6 mois.
8501	CAPRI-VAC®	FORT DODGE VETERINARIA	Dossier d'AMM en cours de réactualisation		
8842 (1979)	ALGONTEX®	CZ VETERINARIA	Souche N262 inactivée	Huile minérale/ mannide monooléate /polysorbate 80	<u>Primo vaccination</u> : à partir de l'âge de 2/3 mois, 2 injections à 2-4 semaines d'intervalle. <u>Rappel</u> : tous les 4 à 6 mois.

**ANNEXE 4 : ELEMENTS COMPLEMENTAIRES RELATIFS A UNE DEMANDE D'AUTORISATION D'IMPORTATION**

L'importation de médicament vétérinaire est prévue par le décret n° 2005-558 du 27/05/ 2005 (JO du 28/05/2005).

Le lien ci-dessous vers l'article R. 5141-123-3 du code de la santé publique précise les informations à fournir pour introduire une demande auprès de l'Agence nationale du médicament vétérinaire :

[http://www.legifrance.gouv.fr/jopdf/common/jo\\_pdf.jsp?numJO=0&dateJO=20050528&numTexte=21&pageDebut=09360&pageFin=09363](http://www.legifrance.gouv.fr/jopdf/common/jo_pdf.jsp?numJO=0&dateJO=20050528&numTexte=21&pageDebut=09360&pageFin=09363)

En résumé, le vétérinaire prescripteur doit effectuer une demande écrite précisant :

- le nom et la forme pharmaceutique du médicament vétérinaire à importer,
- le nom et l'adresse du titulaire de l'AMM de ce médicament,
- le nom et l'adresse de l'établissement de fabrication du médicament,
- la composition qualitative et quantitative en principes actifs,
- l'objet et la justification de la demande (utilisation thérapeutique, justification de l'absence d'alternative thérapeutique autorisée et disponible en France),
- les quantités importées et les types de conditionnement,
- l'ordonnance de prescription du médicament vétérinaire pour chaque animal ou pour chaque élevage,
- le nom et l'adresse du vétérinaire importateur.