

COMMUNICATIONS

Vaccination contre la maladie de Newcastle au moyen d'ovovirus ou de virus de culture cellulaire formolés, en excipient huileux (Troisième note)

par H. JACOTOT, P. RECLARD et A. VALLÉE

Nous avons présenté, ici-même, en 1959 et en 1962 les résultats de nos recherches sur l'emploi contre la maladie de Newcastle d'un vaccin obtenu par incorporation à l'huile de paraffine de l'ovovirus inactivé par le formol (1-2). Voici les précisions complémentaires que la poursuite de cette étude nous a permis de réunir.*

A l'Arlacel A importé des Etats-Unis, nous avons substitué un monooléate préparé en France et qui possède les mêmes propriétés. D'autre part, nous avons remplacé la mayoline 2.214 par une huile de paraffine légère plus pure encore, la mayoline 248 L qui est un produit Codex.

La proportion de l'émulsifiant (monooléate), produit coûteux, peut être réduite d'un tiers sans que les propriétés du mélange en soient affectées.

Enfin, il est important de faire usage d'un virus de pouvoir antigène caractérisé et de n'employer à la préparation du vaccin que les lots d'ovovirus contenant au moins, par ml, un milliard d'unités virulentes pour l'embryon de neuf jours.

En ce qui concerne les épreuves après vaccination, nous avons abandonné l'administration par voie orale pour ne retenir que l'inoculation intra-musculaire, chaque sujet recevant 2 ml d'une

(*) Le détail des expériences fera l'objet d'une publication dans le Bulletin de l'Office International des Epizooties.

dilution au 1/100 d'un virus, toujours le même, conservé à -70° , de DL $50 = 10^{10}$ pour l'œuf embryonné de neuf jours.

La plupart des expériences comportaient de nombreux témoins.

EFFETS D'UNE INJECTION DE RAPPEL
PRATIQUÉE QUELQUES SEMAINES OU QUELQUES MOIS
APRÈS LA VACCINATION

Les essais ont été pratiqués sur des poussins Bleus de Hollande âgés de deux semaines, des poulets Golden de sept semaines, des poules Rhodes et Golden ayant de 3 à 9 mois.

Les oiseaux simplement vaccinés à l'âge de 2 semaines ont parfaitement résisté, dans la proportion de 14 sur 15, à l'épreuve faite 3 mois après ; ceux qui ont été éprouvés 5 mois après la vaccination n'ont résisté que dans la proportion de 5 sur 10. Les oiseaux qui ont subi et la vaccination à 2 semaines et le rappel à 5 mois ont résisté parfaitement à l'épreuve, 6 mois après le rappel dans la proportion de 11 sur 12.

Les oiseaux qui avaient été simplement vaccinés à l'âge de 7 semaines ont résisté dans une forte proportion à l'épreuve pratiquée un an après, à l'égal ou à peu près de ceux qui avaient subi un rappel trois mois après la vaccination.

Les poules qui avaient été simplement vaccinées entre 6 et 9 mois étaient encore solidement immunisées deux ans après ; une injection de rappel aurait été, chez elles, superflue.

SUITES DE LA VACCINATION DANS LES EFFECTIFS DE PONDEUSES

Lorsque nous avons exposé ici-même nos premiers résultats sur l'immunisation contre la maladie de Newcastle au moyen du vaccin huileux, notre confrère, M. Lissor, nous a très judicieusement demandé si l'emploi de ce vaccin n'entraînait pas une chute de la ponte. Cette question n'a pas manqué de retenir notre attention et pour lui apporter une réponse nous avons pensé que le mieux serait de la soumettre à un éleveur très averti, objectif et ayant une grande habitude de l'expérimentation sur des troupeaux importants de volailles. Voici l'observation qu'il a faite pour nous sur un effectif de 600 pondeuses :

« Poulettes White Rock nées le 5 octobre 1962, vaccinées pour la première fois avec le vaccin huileux le 11 décembre donc à 5 semaines. La maladie de Newcastle se répandant dans la région, une vac

cination de rappel est effectuée le 12 avril, en période de ponte. Les pourcentages hebdomadaires de ponte se sont chiffrés ainsi :

Semaines se terminant les :

3 avril	10 avril	17 avril	24 avril	1 ^{er} mai	8 mai	15 mai
—	—	—	—	—	—	—
52,2 %	69 %	76,5 %	80,3 %	79,4 %	75,5 %	71,5 %

Ainsi, l'action conjuguée des manipulations et de la vaccination n'a eu aucune influence néfaste sur la ponte ; celle-ci a même été exceptionnellement élevée pour des poulettes de race lourde (3 kg). »

Nous rappelons à ce propos que les poules résorbent rapidement, silencieusement et sans dommages pour les tissus, le vaccin huileux composé comme nous l'avons indiqué. Il est exceptionnel qu'un granulome se constitue ; il arrive qu'une ou deux gouttes d'huile limpide persistent pendant un certain temps dans le tissu conjonctif en région décline. Il semble bien que plus le sujet est jeune, plus fin est son tégument et plus souple le conjonctif sous-jacent, plus parfaite soit, à tous égards, la résorption du vaccin huileux.

EVALUATION STATISTIQUE DES EFFETS DE LA VACCINATION

Tous les lots de vaccin huileux mis à la disposition des vétérinaires subissent au laboratoire un contrôle d'efficacité ; ce contrôle consiste à injecter le vaccin à des oiseaux provenant d'élevages où la vaccination contre la maladie de Newcastle n'est pas pratiquée ; la dose est de 1 ml par voie sous-cutanée pour les poulets de 6 à 8 semaines et de 1,5 ml pour les jeunes poules de 3 à 6 mois. L'épreuve intervient trois semaines après : on injecte, par voie musculaire, à chaque oiseau vacciné ainsi qu'aux témoins, proportionnellement nombreux, dix millions d'unités virulentes. Les oiseaux sont ensuite l'objet d'examen quotidiens pendant trois ou quatre semaines.

Voici les résultats enregistrés au cours d'une période de 15 mois sur un ensemble de plus de 500 poulets et, accessoirement, de près de 90 jeunes poules, tous de race Golden.

Sur 511 poulets vaccinés, 14 sont morts et 5 ont manifesté des troubles caractérisés, soit au total 3,7 p. cent ; 482 sont restés indifférents à l'épreuve et 10 ont présenté de légers troubles, soit au total 96,3 p. cent. Comparativement, sur 213 poulets témoins non vaccinés, 1 seul a survécu et 212 sont morts soit 99,53 p. cent.

Sur 88 jeunes poules, 2 sont mortes et 2 ont présenté des troubles

caractérisés, soit au total 4,55 p. cent ; 83 sont restées indifférentes et une a présenté de légers troubles, soit au total 95,45 p. cent. Comparativement, sur 46 poules témoins non vaccinées, 44 sont mortes soit 95,65 p. cent.

Dans ces diverses épreuves, les délais entre l'inoculation virulente et la mort ont été, en moyenne, chez les poulets témoins, de 4 jours et chez les jeunes poules témoins de 4 jours et demi.

ESSAI DE PRÉPARATION DU VACCIN HUILEUX A PARTIR DE CULTURES CELLULAIRES DU VIRUS

Cette partie de nos recherches a nécessité la mise au point d'une technique de culture « in vitro », de cellules embryonnaires de poulet, d'une technique de culture du virus sur ces cellules, enfin d'une technique de concentration du virus ainsi obtenu, en vue de la préparation du vaccin. A titre d'exemple nous avons réuni dans le tableau ci-joint, les résultats d'expériences dans lesquelles ont été employées des suspensions vaccinales respectivement à base de virus de culture brut (teneur en virus = 10^5) de virus de culture concentré (teneur en virus = 10^6) d'ovovirus (teneur en virus = 10^7) et d'un mélange à parties égales de cet ovovirus et du virus de culture concentré. Comme on le voit, les suspensions vaccinales préparées à partir du virus de culture brut se sont montrées impropres à induire l'immunité ; celles qui ont été préparées avec le virus concentré ou avec un mélange de ce virus concentré et d'un ovovirus, possédaient un pouvoir immunogène élevé.

OBSERVATIONS CONCERNANT L'APTITUDE DES OISEAUX A S'IMMUNISER

L'inaptitude de certains sujets à s'immuniser est une notion bien établie dans la plupart des espèces et à l'égard de la plupart des vaccins ; il est possible de la surmonter chez certains d'entre eux. Son caractère individuel, qu'il serait probablement difficile d'expliquer, ressort très nettement des expériences particulières et des observations d'ensemble qui ont été exposées dans le présent travail : il est remarquable que sur cent poulets de même origine vaccinés de la même façon, 95 subissent sans la moindre réaction objective une épreuve très sévère alors que les 5 autres y succombent, un ou deux d'entre eux ne lui opposant pas plus de résistance que les témoins neufs ; mais encore une fois c'est un fait d'observation courante.

TABLEAU

Vaccin à base d'antigène obtenu en culture de cellules

<i>Vaccin huileux</i>				<i>Vaccin au gel</i>		Témoins
Virus de culture brut	Virus de culture concentré	Ovovirus	Mélange ovovirus et virus de culture concentré	Virus de culture brut	Virus de culture concentré	
<i>Epreuve 1 mois après la vaccination</i>						
633 mort (3 $\frac{1}{2}$)	640 mort (3 $\frac{1}{2}$)	643 mort (5 $\frac{1}{2}$)	655 + T. N. L.	694 mort (3)	698 mort (6 $\frac{1}{2}$)	9 témoins qui meurent en 3 j $\frac{1}{2}$ à 6 j $\frac{1}{2}$.
634 mort (3 $\frac{1}{2}$)	638 0	645 0	656 0	693 mort (4)	800 +	
635 mort (3 $\frac{1}{2}$)	639 0	647 0	657 0	696 mort (4)	697 ±	
636 mort (4)	641 0	649 0	658 0	692 mort (5)	699 0	
631 mort (5 $\frac{1}{2}$)	642 0	651 0	659 0	695 mort (5)	601 0	
632 ++		653 0	660 0		602 0	
<i>Epreuve 10 semaines après la vaccination</i>						
	222 mort (5)		233 ++		238 mort (7 $\frac{1}{2}$)	6 témoins qui meurent en 3 j $\frac{1}{2}$ et 4 j $\frac{1}{2}$.
	223 mort (6 $\frac{1}{2}$)		228 0		237 + + + + T. N.	
	224 0		229 0		234 0	
	225 0		230 0		235 0	
	226 0		231 0		236 0	
	227 0		232 0		239 0	
Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de jours écoulés entre l'inoculation virulente et la mort.						

Il nous a été donné, au cours de nos expériences et des opérations de contrôle, d'observer des exemples de défaillances ou de carences immunitaires collectives qui méritent d'être signalés. Plusieurs fois nous avons constaté qu'une préparation à l'étude ou qu'un lot de vaccin produisait sur l'ensemble des oiseaux des effets dont la médiocrité nous était incompréhensible ; l'expérience ou le contrôle était alors répété sur un autre groupe d'oiseaux et les résultats, très différents, étaient cette fois tels qu'on pouvait les attendre.

Or les poulets et poules que nous utilisons sont des Golden provenant d'un important élevage où aucune vaccination n'est pratiquée ; ils sont livrés par bandes de 400 à 500 à l'âge de 1 jour puis élevés dans une animalerie du service des virus. Le principal utilisateur en est précisément ce service et il les emploie au titrage des lots de vaccin inactivé contre la poliomyélite. A cet effet les jeunes oiseaux subissent d'abord des injections d'antigène poliomyélique, en suite de quoi, dans des délais déterminés on titre le pouvoir neutralisant de leur sérum. Les groupes de poulets employés à chaque contrôle proviennent d'un même arrivage ; ils ont donc été incubés ensemble, sont nés le même jour et ont été élevés ensuite dans les mêmes conditions. Or il arrive que, là aussi, les réponses de tout un groupe de poulets soient aberrantes ; on recommence le titrage des mêmes lots de vaccin sur des poussins d'un autre arrivage et les résultats de l'opération, confirmés s'il y a lieu par un contrôle supplémentaire, se montrent exempts d'anomalies.

Il découle de ces observations que, parmi les poulets provenant d'élevages industriels, certains facteurs, d'ordre probablement nutritionnel (plutôt que génétique puisque des lots successifs de poulets ayant, vraisemblablement, une ascendance commune, se comportent différemment à cet égard), ou certaines influences s'exerçant sur le métabolisme, pendant l'incubation ou dans les jours qui suivent l'éclosion sont de nature à inhiber plus ou moins complètement l'immunogenèse chez la plupart des individus d'un même groupe. Cette inaptitude à élaborer des anticorps viraux, décelable dans les toutes premières semaines de l'existence du poussin, peut encore se manifester deux ou trois mois après chez un grand nombre des oiseaux.

CONCLUSIONS RÉSUMÉES

Les poulets qui ont reçu le vaccin huileux à l'âge de deux semaines sont solidement immunisés pour trois mois ; une vaccination de rappel pratiquée à ce moment leur assure une protection efficace

de longue durée. Les rappels de vaccination sont, en principe superflus chez les oiseaux vaccinés à dix ou douze semaines et au-delà. Il est possible de préparer un vaccin de pouvoir immunogène élevé en substituant à l'ovovirus un virus cultivé sur cellules embryonnaires de poulet puis concentré. Certains facteurs indéterminés, d'ordre probablement nutritionnel ou certaines influences imprécisées, peut-être quelque « stress » s'exerçant sur le métabolisme pendant l'incubation ou dans les jours qui suivent l'éclosion, sont de nature à inhiber plus ou moins l'immunogenèse chez la plupart des oiseaux d'un même groupe issus d'élevages industriels.

Institut Pasteur

BIBLIOGRAPHIE

1. JACOTOT (H.) et VALLÉE (A.). — *Bull. Acad. Vét. Fr.*, 1959, **32**, 373.
 2. JACOTOT (H.) et VALLÉE (A.). — *Bull. Acad. Vét. Fr.*, 1962, **35**, 309.
-