

Préparation chez le Bovin et titrage d'un sérum contre la maladie de Carré.

Etude comparée de son pouvoir protecteur

par P. GORET, Ch. PILET et J. FONTAINE
(avec la collaboration de R. MORAILLON).

La préparation du sérum homologue contre la maladie de CARRÉ se heurte à de grandes difficultés dues à l'animal producteur qui nécessite un entretien coûteux par rapport à la faible quantité de sérum produite et à la substance immunigène qui est d'un prix de revient élevé.

Un excellent sérum spécifique hétérologue a pu être préparé chez le cheval (NICOL et Coll. (1) ; MACKOWIAK et Coll. (2)). Son emploi (NÉANT (3)) et sa détoxication (YEU et RECLARD (4)) ont été parfaitement étudiés.

GILBERT, MORNET et GOUEFFON (5) ont étudié le comportement humoral du bœuf lors de l'injection du virus de CARRÉ adapté au furet et montré qu'il était possible d'obtenir sur cette espèce un sérum actif contre le virus de CARRÉ.

Nous décrivons ici la technique que nous avons employée pour préparer un sérum contre la maladie de CARRÉ chez le bovin, puis nous rendrons compte des résultats obtenus avec ce sérum pour la protection du furet contre la maladie de CARRÉ.

A) TECHNIQUE DE PRÉPARATION

Nous avons réalisé deux essais d'hyperimmunisation de bovins à l'aide du virus de CARRÉ : l'un de décembre 1959 à février 1960, l'autre de novembre 1960 à janvier 1961. Les techniques utilisées ne diffèrent que par le mode de prélèvement du sang de l'animal.

1) *Matériel.*

Nous avons utilisé dans les deux essais des génisses de race normande âgées de deux ans environ, présentant tous les caractères de l'animal sain et n'ayant jamais été utilisées pour la préparation de sérum.

La substance antigène est un mélange de virus frais provenant de rates de furets sacrifiés à la période agonique de la maladie expérimentale provoquée par l'inoculation sous-cutanée de la

souche adaptée au furet du virus de CARRÉ et de virus lyophilisé provenant de cette même souche.

2) *Technique et rythme des inoculations.*

On réalise une suspension de substance antigène à 10% en eau physiologique. Pour cela on prélève aseptiquement les rates de furets sacrifiés à la période agonique de la maladie de CARRÉ; elles sont conservées quelques jours au réfrigérateur ou broyées immédiatement dans un mortier stérile. Le virus lyophilisé est ajouté à ce broyat ainsi que 100.000 unités de pénicilline.

Le mélange est additionné d'eau physiologique dans les proportions précitées, puis il est filtré sur gaze. Le filtrat est injecté très rapidement au bovin afin d'éviter toute inactivation du virus par la dilution dans l'eau.

Chaque injection comporte une très forte quantité de substance antigène : 150 à 200 ml de la suspension splénique virulente à 20% par voie sous-cutanée à l'encolure.

Le rythme choisi lors de nos essais était de quinze jours environ entre chaque inoculation; le sérum étant recueilli douze jours après la dernière inoculation.

Essai n° 1

Injections les :

28 décembre 1959, 14 janvier, 28 janvier, 13 février 1960. Récolte du sérum le 25 février.

Essai n° 2

Injections les :

17 novembre 1960, 1^{er} décembre, 15 décembre, 5 janvier, 16 janvier 1961. Récolte du sérum le 28 janvier.

Les deux génisses n'ont présenté aucune réaction générale. Toutefois, lors de l'essai n° 1, l'animal a réagi à chaque inoculation par la formation d'un abcès du volume d'une grosse orange au lieu de l'injection. Ces abcès ont guéri par simple ponction au bistouri.

3) *Technique des saignées et de la préparation du sérum.*

Lors du premier essai, l'animal devant servir à des expériences ultérieures, nous avons pratiqué une saignée de quatre litres à la jugulaire en recueillant le sang aseptiquement selon la technique classique.

Lors de l'essai n° 2, nous avons saigné l'animal à blanc après l'avoir placé sous sub-hypnose. Nous avons récolté douze litres de sang environ.

Au bout de 3 jours le sérum a été prélevé, mis en ampoules et tyndalisé.

B) TITRAGE DU SÉRUM

Il s'effectue par séro-neutralisation *in ovo* (6) qui fournit, nous le rappelons, des résultats exactement comparables à la séro-neutralisation sur furets.

Les titres obtenus sont de $10^{3,7}$ pour le sérum recueilli lors du premier essai et de $10^{2,86}$ pour l'autre. Le titre exprime le nombre d'unités neutralisantes contenues dans 0,2 ml de sérum. L'unité neutralisante s'entend de la quantité de sérum neutralisant la quantité de virus inoculé à l'œuf, soit 100 DM I 50.

Le sérum anti-virus de la maladie de CARRÉ, d'origine équine, titre après recharge de l'animal (sérum de haute hyperimmunisation) $10^{2,62}$ (2). Un léger avantage peut donc être retenu pour le sérum préparé chez le bovin.

C) VALEUR PROTECTRICE COMPARÉE DU SÉRUM BOVIN ANTI-VIRUS DE CARRÉ CHEZ LE FURET

Le titrage nous ayant donné une idée sur le pouvoir neutralisant du sérum bovin anti-virus de CARRÉ, il est nécessaire, afin de mieux connaître la valeur de ce sérum, de préciser son pouvoir protecteur vis-à-vis de l'infection expérimentale par le virus de CARRÉ chez le furet.

Afin d'avoir des éléments de comparaison, nous avons essayé ce sérum en même temps qu'un sérum homologue et un sérum hétérologue d'origine équine.

1) *Principe.*

L'expérience est fondée sur la comparaison du pouvoir protecteur de différents sérums injectés aux mêmes doses croissantes à des furets qui sont éprouvés à l'aide d'une dose identique de virus de CARRÉ.

2) *Matériel.*

• *Furets.* — Animaux de format sensiblement égal soigneusement isolés.

• *Virus.* — La dose d'épreuve du virus est de 1 mg de rate de furets infectés par la souche adapté au furet, ce qui représente 2.250 DL 50 furets d'après notre titrage.

Cette quantité de virus est diluée dans 2 ml de sérum physiologique, en tenant compte d'une perte de matière virulente au cours du broyage et de la filtration sur gaze estimée à 30 % du poids total.

• *Sérums.* — Le sérum bovin contre la maladie de CARRÉ est obtenu en mélangeant à parties égales les sérums titrant $10^{3,7}$ et $10^{2,86}$. Le calcul logarithmique montre que ce sérum titre $10^{3,41}$.

Le sérum de cheval anti-virus de CARRÉ titre $10^{2,26}$.

Le sérum homologue utilisé est le sérum du commerce ($10^{2,26}$).

Tous les titres cités ci-dessus ont été obtenus par la méthode de séro-neutralisation *in ovo*.

3) Méthode.

Les sérums sont injectés par voie sous-cutanée après désinfection à l'aide d'alcool ou de teinture d'iode d'une parcelle de peau de la paroi abdominale. Les furets sont répartis par cage de deux ou trois selon les doses précisées dans le tableau ci-joint.

Les animaux et un témoin sont éprouvés exactement vingt-quatre heures plus tard par 1 mg de suspension splénique virulente inoculée par voie sous-cutanée.

4) Résultats.

Ils sont consignés dans le tableau ci-joint. Le bilan est effectué au treizième jour de l'expérience.

Sérum	Dose de sérum en ml	Nombre de furets inoculés et éprouvés	Résultats	
			morts	survivants au 13 ^e jour
Sérum anti-virus de Carré préparé chez le chien	4	2	2	0
	5	3	3	0
	6	3	3	0
	7	3	3	0
	8	3	1	2
	9	2	0	2
Sérum anti-virus de Carré préparé chez le cheval	4	2	2	0
	5	3	3	0
	6	3	3	0
	7	3	3	0
	8	3	2	1
	9	3	1	2
Sérum anti-virus de Carré préparé chez le bovin	4	2	2	0
	5	3	2	1
	6	3	0	3
	7	3	1 (accid ^t)	2
	8	3	0	3
	9	2	0	2
Témoins virus		2	2	0

CONCLUSION

Les résultats enregistrés démontrent que :

1) Le sérum anti-virus de CARRÉ, préparé chez le chien, a un certain effet protecteur dès la dose de 8 ml ; il protège deux animaux sur deux à la dose de 9 ml.

2) Le sérum contre le virus de CARRÉ, préparé chez le cheval commence à protéger les animaux à la dose de 8 ml, mais ne semble pas exercer un effet protecteur aussi grand que le précédent puisque un animal sur trois meurt dans le groupe ayant reçu 9 ml de sérum. Toutefois, cette expérience ne porte pas sur un nombre assez grand d'animaux pour que le résultat précédent ne s'assortisse pas de réserves.

3) Le sérum bovin anti-CARRÉ protège tous les animaux à partir de 6 ml si l'on ne tient pas compte de la mort accidentelle, survenue le deuxième jour, d'un furet du groupe protégé par 7 ml de sérum.

Cette expérience semble confirmer les titres obtenus par la méthode de séro-neutralisation *in ovo* : le sérum bovin ayant le titre le plus fort exerce une protection beaucoup plus efficace que les deux autres sérums qui ont un titre et une action protectrice semblable.

BIBLIOGRAPHIE

1. L. NICOL, O. GIRARD, R. CORVAZIER, M. CHEYROUX, P. RECLARD et Ph. SIZARET. — *Bull. Acad. Vét. Fr.*, 1959, **32**, 379.
2. C. MACKOWIAK, J. FONTAINE et P. GORET. — *Bull. Acad. Vét. Fr.*, 1959, **32**, 394.
3. M. NEANT. — *Bull. Soc. Vét. Prat.*, 1957, **41**, 298.
4. F. YEU et P. RECLARD. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **96**, 333.
5. Y. GILBERT, P. MORNET et Y. GOUÉFFON. — *Bull. Acad. Vét. Fr.*, 1960, **33**, 305.
6. J. FONTAINE. — *Bull. Acad. Vét. Fr.*, 1959, **32**, 89.