

COMMUNICATIONS

Vaccins et sérums anti-virus de Carré

I. — Contrôle des vaccins et sérums

II. — La maladie de Carré au sein du « Complexe Maladie » des chiens

par L. NICOL, O. GIRARD, R. CORVAZIER, M. CHEYROUX,
P. REULARD, Ph. SIZARET

La standardisation des sérums et vaccins anti-virus de carré implique un choix dans les méthodes de contrôle dont les techniques doivent être bien définies et les résultats étudiés comparativement.

Actuellement les contrôles d'efficacité des vaccins et les titrages des sérums sont effectués couramment chez le furet. Mais ce dernier est un animal de laboratoire rare et d'un prix de revient très élevé.

En conséquence nous avons adopté des méthodes de contrôle faisant intervenir un nombre d'animaux aussi petit que possible dans chaque épreuve.

D'autre part, toujours dans le but d'éviter l'emploi du furet en tant qu'animal sensible, nous avons étudié, pour le titrage des sérums, une technique de séroneutralisation in Ovo.

Or les premiers résultats dont nous disposons sont très intéressants, en ce sens qu'ils permettent d'affirmer dès maintenant qu'il existe une corrélation entre les titres obtenus par le test de séroneutralisation in Vivo, et ceux obtenus par le test de séroneutralisation in Ovo.

Nous décrirons successivement les contrôles effectués sur les vaccins et les méthodes de titrage des sérums, et nous évoquerons le problème des vaccinations associées et de la sérothérapie polyvalente chez le chien, face au « complexe maladie ».

VACCINS VIVANTS PAR VIRUS AVIANISÉS.

Les virus vivants avianisés ont remplacé les virus canins tués et les virus de Green pour l'immunisation du chien et du vison. Ils sont obtenus par la technique classique d'ovoculture ou bien, ainsi que nous procédons depuis un an, par multiplication virale en cultures de tissus embryonnaires de poulet (1).

Nous avons étudié comparativement une dizaine de souches de virus avianisés à l'Institut Pasteur (isolées sur chiens et sur visons) et plusieurs autres virus français et vaccins étrangers.

Il ressort de cette analyse que les différentes souches de virus modifiés ont des qualités antigéniques comparables et permettent toutes l'obtention de vaccins satisfaisants.

Mais le contrôle des vaccins ne doit pas être considéré seulement sous l'angle de la qualité antigénique : *la quantité d'antigène inoculée aux animaux que l'on veut immuniser est très importante à considérer.*

Des essais effectués chez le furet, montrent en effet que l'inoculation de 10^4 DMI 50 pour l'œuf de l'une quelconque des souches étudiées, permet l'installation d'une immunité suffisante pour protéger l'animal contre 10^4 DMI d'un virus pathogène. Si la quantité d'antigène inoculée est comprise entre 10^2 et $10^{2.5}$ DMI 50 pour l'œuf, la protection est irrégulièrement obtenue. Elle ne l'est presque jamais pour des doses inférieures à 10^2 DMI 50 (Tableau I).

Cela nous a conduits *au contrôle de « vitalité »*, ce contrôle consistant en un titrage in ovo de chaque préparation de vaccin. Nous exigeons qu'une dose de vaccin destinée au chien contienne au moins 10^4 DMI 50 pour l'œuf du virus vaccin vivant.

Etant donné la quasi impossibilité de trouver des chiens sûrement sensibles à la maladie expérimentale, *le contrôle d'efficacité doit être effectué sur le furet.*

Pour chacun des lots de vaccin 5 furets reçoivent par voie sous-cutanée 1 dose du vaccin, 5 autres furets reçoivent un dixième de dose. Les animaux sont éprouvés 15 jours plus tard en même temps que des témoins, par inoculation intrapéritonéale, de 10.000 DMI d'un virus pathogène pour le furet et le chien (souche FG).

Tous les animaux vaccinés doivent résister à cette épreuve.

Tous les témoins doivent succomber à la maladie dans un délai compris entre 10 et 12 jours.

Les souches du virus d'épreuve doivent être conservées congelées ou lyophilisées. La virulence de ces souches s'abaissant au cours du stockage *il est indispensable d'effectuer un passage du virus sur l'animal avant de procéder aux épreuves et titrages.*

TABLEAU I

N° de Référence du Virus - Vaccin	Souche	DMI ₅₀ / Oeuf par dose	RESULTATS de L'EPREUVE SUR FURETS (1)		
			Quantité de vaccin inoculée		
			1 dose	1/10 dose	1/100 dose
2359	T D	10 6,3	000	000	000
8159	F	10 5,77	000	000	000
4559	F	10 5,65	000	000	0++
27558	A	10 5,47	000	000	00+
17258	M A	10 5,3	000	000	+++
2658	A	10 5,25	000	000	00+
1659	O	10 5,14	000	000	+++
20160	F	10 5,11	000	000	0++
17260	O	10 4,79	000	00+	0++
16360	O	10 4,3	000	000	+++
14559	A	10 4,2	000	00+	+++
22659	T M	10 3,64	0++	+++	+++
22659	O	10 3,34	0++	00+	+++
6259	O	10 2,3	+++	+++	+++
301258	T D	10 1,9	+++	+++	+++

(1) Pour chaque échantillon 3 groupes de 3 furets ont reçu respectivement 1 dose, 1/10 dose, 1/100 dose du vaccin. Tous les animaux ont été éprouvés 15 jours plus tard avec 10.000 DMI de virus pathogène. Les signes O indiquent les furets ayant résisté à l'épreuve le signe + indiquent les furets ayant succombé.

Les contrôles d'innocuité sont effectués sur furets (1^{er} temps du contrôle d'efficacité) et sur chiens âgés de moins d'un an auxquels on inocule en un même point 5 doses du vaccin.

SÉRUMS ANTI-VIRUS DE CARRÉ.

Les méthodes de préparation des sérums anti-virus de Carré se différencient les unes des autres, suivant que l'on s'adresse au chien ou au cheval comme animal producteur, et suivant que l'on utilise comme antigène pour l'hyperimmunisation les virus canins, les virus du type « Green » ou les virus avianisés.

Quoi qu'il en soit les techniques de titrage de ces sérums doivent

être bien définies et valables pour tous les sérums, homologues et hétérologues.

Nous envisagerons ici deux méthodes de titrage consistant en deux réactions de séroneutralisation l'une in ovo, l'autre in vivo chez le furet.

Le test de séroneutralisation in ovo (*) consiste en l'inoculation par la voie chorioallantoïdienne de mélanges virus-sérums, à des œufs embryonnés de 6 jours. Après 7 jours d'étuve à 35°-36° les membranes sont récoltées et l'on note la présence ou l'absence de lésions. Les mélanges virus-sérums sont faits en utilisant des quantités constantes de virus et des quantités variables de sérum. Le contact a lieu pendant 50 minutes à la température du laboratoire. Par la méthode des totaux cumulatifs on calcule l'unité neutralisante 50 % qui est représentée par la quantité de sérum neutralisant la quantité fixe de virus inoculée dans chacun des œufs. *Les titres* des sérums sont exprimés par le nombre d'unités neutralisantes 50 % contenu dans 1 ml.

(Tableau II). Cette méthode exige :

1° Une souche de virus adaptée à l'œuf dont le pouvoir pathogène est stable au cours des passages, soit un virus provoquant des lésions nettement visibles à de hautes dilutions, et ne provoquant pas à de faibles dilutions une mortalité des embryons supérieure à 20 %. On ne tient compte en effet pour la lecture que des œufs dont les embryons sont vivants au moment de la récolte.

2° Appliquant la loi du tout ou rien toute membrane portant une lésion focale caractéristique doit être considérée comme infectée.

3° On doit rechercher pour chaque souche de virus la quantité optima d'antigène permettant la formation de lésions nettement visibles dans les mélanges virus sérums-voisins de la neutralité (10^3 DMI 50) pour les souches étudiées.

Un sérum hyperimmun de référence, conservé à l'état lyophilisé doit être titré comme témoin lors de chaque réaction.

4° Chacun des mélanges virus-sérum doit être inoculé à des lots de 15 œufs minimum pour permettre l'interprétation statistique des résultats (compte tenu d'un pourcentage de mortalité 20 %).

Le test de séro-protection in vivo chez le furet est basé sur les mêmes principes.

On peut indifféremment effectuer les titrages en mélangeant des

(*) Les premiers résultats que nous avons obtenus par cette méthode ont été communiqués à la 3^e Rencontre Internationale de Standardisation Biologique (2).

quantités fixes de sérum à des quantités variables de virus (méthode couramment utilisée) ou vice versa. Le contact virus sérum a lieu dans les mêmes conditions que précédemment.

TABLEAU II

Valeurs comparées de sérums anti-virus de Carré,
titrés par séro-neutralisation *in vivo*, et par séro-neutralisation *in ovo*.

	SÉRUMS	Titre IN OVO (UN ₅₀)	Titre IN VIVO (DN ₅₀ /ml)
HÉTÉROLOGUES (Chevaux en cours d'hyperimmunisation)	730	10 ^{0,9}	10 ^{2,31}
	44	10 ¹	10 ^{2,31}
	45	10 ^{1,3}	10 ^{3,31}
	96	10 ^{1,9}	10 ^{3,31}
	221	10 ^{1,9}	10 ^{3,85}
	222	10 ^{2,17}	10 ^{3,85}
HOMOLOGUES	I	10 ^{2,54}	10 ^{3,85}
	II	10 ^{2,6}	> 10 ³ < 10 ⁴
	III	10 ^{2,9}	> 10 ³ < 10 ⁴
HÉTÉROLOGUES (Mélanges des sérums de chevaux hyperimmunisés)	16.356	10 ^{4,30}	10 ^{4,20}
	60.030	10 ^{2,74}	10 ^{4,68}
	60.040	10 ^{3,8}	10 ^{4,20}
	60.049	10 ^{3,9}	10 ^{4,15}
	60.050	10 ^{3,9}	10 ^{4,38}
	60.054	10 ^{4,2}	10 ^{4,45}
	Purifié I	10 ^{4,3}	10 ⁴
	Purifié II	10 ^{4,8}	10 ^{4,8}
	61.260	10 ^{3,85}	10 ^{2,3}
	221.260	10 ^{4,38}	10 ^{4,6}
	211.260	10 ^{4,15}	10 ^{3,5}

Les groupes de furets doivent être aussi homogènes que possible. Nous utilisons des animaux pesant environ 400 grammes.

La souche d'épreuve est la souche FG pathogène pour le furet et pour le chien.

Les furets sont répartis par groupe de 4 pour chacune des dilutions et inoculés par la voie intrapéritonéale.

Les animaux sont gardés en observation durant 15 jours.

On note pour chaque dilution le nombre de furets ayant survécu ou succombé. Le titre du sérum est calculé par la méthode de REED et MUENCH, il représente le point 50 % de protection et est exprimé par le nombre de DMI/furet neutralisées par 1 ml de sérum (*).

(V. Tableau II).

Nous avons étudié comparativement les titres de sérums éprouvés avec les deux méthodes de seroneutralisation. Les calculs statistiques applicables à de petits échantillons mettent en évidence une corrélation certaine entre les résultats des deux titrages (tableau II).

La relation qui les unit peut être exprimée par une fonction linéaire simple. — (Graphique 1.)

Quoi qu'il en soit le contrôle des sérums hyperimmuns que nous délivrons dans le commerce comporte obligatoirement une épreuve de séroprotection sur furet car elle permet de juger de l'action des anticorps sériques non pas sur un virus modifié par avianisation avirulent pour les carnivores, mais sur un virus furet beaucoup plus proche des virus canins et dont certaines souches comme la souche FG, sont pathogènes pour le chien.

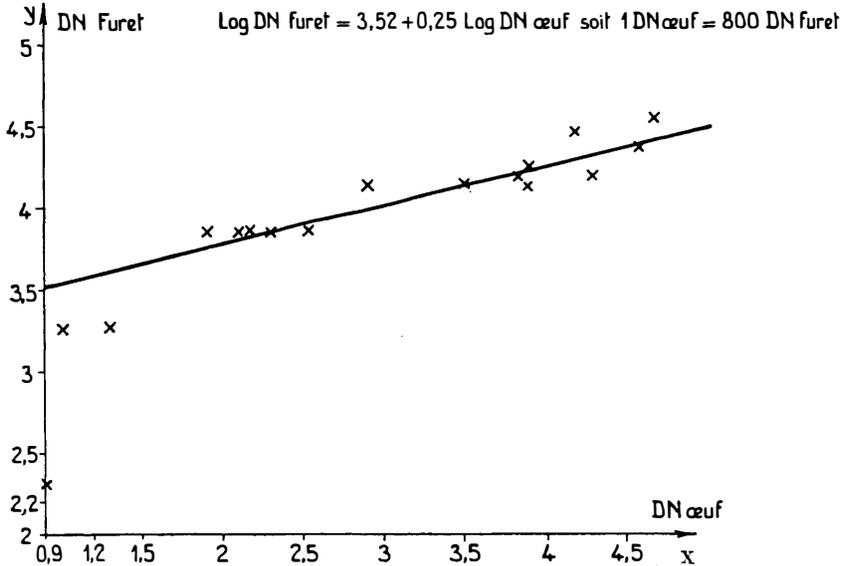
L'écueil rencontré dans le contrôle des vaccins et sérums anti-virus de Carré réside finalement dans l'emploi du furet dont le prix de revient est trop élevé et de l'œuf embryonné dont la résistance à l'infection varie sensiblement suivant les saisons.

(*) Ce protocole de tirage est réservé aux études expérimentales. Dans la pratique courante le titrage des sérums hétérologues délivrés aux vétérinaires est limité à l'épreuve de 3 groupes de 4 furets, encadrant le plus souvent la zone de neutralité soit :

1 ml de sérum	+	10.000	DMI du virus		
-	-	+ 20.000	-	-	
-	-	+ 40.000	-	-	

Le titre est exprimé par le nombre le plus élevé de DMI neutralisées par 1 ml de sérum *chez tous les furets d'un même groupe*. Nous exigeons pour les sérums hétérologues produits dans notre Institut, un titre au moins égal à 20.000 unités neutralisantes/ml. A titre de comparaison différents sérums homologues que nous avons éprouvés suivant le même procédé ont fourni des titres inférieurs ou égaux à 10.000 UN/ml (3).

GRAPHIQUE 1



C'est pourquoi nous pensons que les recherches doivent être orientées vers la culture de virus canins et de virus « Green » en cultures cellulaires et vers la mise en évidence de souches à effet cytopathogène. Si l'on disposait de telles souches du virus, il serait alors possible de titrer de façon plus élégante et plus précise, en culture de tissus, les anticorps neutralisant apparus dans le sérum après immunisation ou hyperimmunisation d'un animal.

LA MALADIE DE CARRÉ AU SEIN DU « COMPLEXE MALADIE DES CHIENS ».

Nous savons aujourd'hui que dans le complexe « Maladie des chiens » des viroses distinctes peuvent être dénombrées.

Si l'on se rappelle que ces affections peuvent être compliquées par le développement d'infections à germes secondaires, et si l'on pense que plusieurs viroses peuvent coexister, voire même entraîner l'écllosion d'infections latentes telle la toxoplasmose, on comprend alors la complexité du problème posé.

Or ce problème forme un tout, au sein duquel se place la maladie de Carré. A côté de cette dernière, les viroses qui méritent actuellement de retenir notre attention sont les suivantes :

La maladie de Rubarth tout d'abord, dont nous ne pensons pas qu'elle ait en France une importance clinique considérable mais

avec laquelle il faut compter parce que d'une part un certain nombre de chiens ne possèdent pas d'anticorps neutralisants, alors que d'autres font une maladie inapparente leur conférant une immunité durable ; et parce que, d'autre part, on tend à vacciner contre cette affection au moyen de virus vivant.

Viennent ensuite la Rhino-amygdalite, décrite en 1957 par M. FONTAINE, A. RICQ, A. BRION et P. GORET (5), et la Pneumonie à virus dont nous avons isolé l'agent causal en 1959 (6). Et là se trouve posée la question de l'unicité ou de la pluralité des virus. Il est encore difficile d'y répondre. Mais il est certain qu'un virus ou un groupe de virus, absolument distincts du virus de Carré, peuvent engendrer chez le chien une maladie qui revêt tantôt la forme d'une rhino-amygdalite, tantôt la forme d'une pneumonie, accompagnée ou non de signes digestifs, tantôt une forme essentiellement nerveuse (encéphalomyélite).

Les différentes souches virales étudiées, si elles ne sont pas identiques présentent toutes entre elles une parenté antigénique décelable par les tests de séroneutralisation ou la réaction de fixation du complément. Les dénominations Rhino-amygdalite, Pneumonie à virus, Encéphalomyélite à virus sont toutes imparfaites puisqu'insuffisamment explicites.

Mais nous n'avons pu jusqu'à maintenant trouver une appellation qui nous satisfasse entièrement.

Ainsi la vaccination du chien contre la maladie de Carré, de même que la sérothérapie monovalente anti-carré, apparaissent insuffisantes face à ce complexe. Les vaccinations associées doivent donc être envisagées :

La vaccination anti-virus de Carré étant effectuée au moyen de virus vivant, nous avons étudié, pour les autres viroses, la possibilité d'obtention de souches vivantes atténuées.

Or, si le virus de Carré avianisé se révèle particulièrement stable dans ses caractères antigéniques, il n'en va pas de même pour les autres virus.

En effet, deux souches du virus de Rubarth atténuées par quelques cinquante passages sur cellules rénales de chien, et sur cellules rénales de porc, se sont révélées totalement avirulentes pour le chien durant 15 mois successifs ; puis l'inoculation de 10 ml de surnageant des cultures a entraîné l'apparition d'une maladie clinique chez le chien. D'autre part, une souche atténuée du virus sur cellules rénales de porc, avirulente pour le chien, a recouvré son pouvoir pathogène après seulement trois passages en série sur des chiots âgés d'un mois, isolés de toute contamination extérieure.

Quant aux virus « Rhino-amygdalite-Pneumonie » il semble que l'obtention de souches atténuées soit encore plus aléatoire.

Nous avons personnellement inoculé plusieurs souches de virus en cultures de cellules rénales de chien. Des passages en série n'ont pu conduire à l'obtention de souches atténuées stables et des retours à la virulence ont été plusieurs fois observés.

Par ailleurs les tentatives d'avianisation des souches étudiées ont échoué tant par passages in ovo que par inoculation sur cellules embryonnaires de poulet cultivées in vitro.

C'est pourquoi nous pensons que la vaccination contre la maladie de Rubarth comme l'éventuelle vaccination contre la « Rhino-amygdalite et la Pneumonie à virus » devront être effectuées au moyen de virus inactivés.

Il convient de remarquer à ce propos que les virus de Carré vivants, avianisés, sont très sensibles à l'action du formol.

Ce dernier non seulement les inactive, mais encore les prive de tout pouvoir immunogène, à la faible concentration de 1 pour 10.000, comme nous l'a montré une expérimentation effectuée sur le furet et sur le vison.

Si cette remarque est d'une grande importance dans la préparation et l'emploi de vaccins associés, elle n'en constitue pas pour autant un obstacle à la réalisation de tels vaccins.

Cependant, ainsi que nous l'avons exposé, des inconnues subsistent au sein du complexe « Maladie » et les études devront être poursuivies tendant à l'obtention de vaccins efficaces et d'innocuité parfaite.

En ce qui concerne la sérothérapie, il est beaucoup plus aisé de prétendre à l'obtention de sérums polyvalents. En effet, nous avons montré antérieurement (3) qu'il est possible de préparer sur le cheval des sérums équins anti-virus de Carré de haute valeur neutralisante. De même, et, suivant des protocoles identiques, nous avons obtenu un sérum anti-virus de Rubarth neutralisant 10^7 DMI 50 en cultures cellulaires.

Enfin, nous avons hyperimmunisé des chiens contre nos souches « Pneumonie ». Leurs sérums neutralisent par ml, quatre grammes de broyat d'organes virulents. La même expérimentation est effectuée sur le cheval.

Ainsi, autant de souches virales qu'il sera nécessaire, pourront être utilisées aux fins d'hyperimmunisation du cheval qui est une fois encore l'animal de choix pour la production d'anti-sérums.

Telles sont en conclusions les perspectives offertes à la vaccination et à la sérothérapie polyvalentes, face au complexe « Maladie des chiens ».

BIBLIOGRAPHIE

1. P. RECLARD, L. NICOL, O. GIRARD, R. CORVAZIER, M. CHEYROUX, Ph. SIZARET. — Etude du virus de Carré en cultures cellulaires. Ann. I.P., 1960, 98, 344.
2. L. NICOL, O. GIRARD, R. CORVAZIER, M. CHEYROUX, P. RECLARD. — Essais de titrage sur œuf embryonné du virus de Carré et d'un sérum hyperimmum. 3^e Rencontre Int. Stand. Biol. Opatija, sept. 1957.
3. L. NICOL, O. GIRARD, R. CORVAZIER, M. CHEYROUX, P. RECLARD, Ph. SIZARET. — Sérums équins anti-virus de Carré. Bull. Acad. Vét. France. 1959, 32, 379.
4. J. LEVADITI, A. VALLÉE, G. BARADEL, P. RECLARD. — Constatation fortuite chez deux chiens de la coexistence d'une toxoplasmose pulmonaire et d'une pneumonie à virus. Bull. Acad. Vét. France, 1959, 32, 235.
5. M. FONTAINE, A. RICO, A. BRION, P. GORET. — La Rhino-amygdalite contagieuse du chien. Bull. Acad. Vét. France, 1957, 30, 315.
6. P. RECLARD, A. VALLÉE, A. LE CAIN, B. VIRAT, J. LEVADITI. — Etude d'une pneumonie à virus du chien. Bull. Acad. Vét. France, 1959, 32, 603.

Discussion

M. GORET. — Je n'interviens que pour féliciter nos collègues de l'Institut Pasteur de Garches de leur excellent travail dont je me permets de confirmer les conclusions. Ce sont celles qui découlent de nos propres recherches poursuivies à Alfort.

Je voudrais néanmoins attirer l'attention sur quelques points de détail.

Le terme « complexe Maladie des chiens » ne doit plus être utilisé puisque les principaux virus du groupe « maladie » ont été maintenant identifiés.

Le terme « virus de Green » prête à confusion. Le virus de Green est, en réalité, le virus de l'encéphalite du renard retrouvé par Rubarth chez le chien atteint d'hépatite contagieuse. Il faudrait donc mieux dire : « virus adapté au furet ».

Je suis heureux de constater que nos collègues se rallient à nos conclusions concernant le parallélisme absolu entre les valeurs de l'épreuve de séro-neutralisation *in ovo* et *in vitro* avec inoculation au furet pour le titrage du sérum anti-virus de Carré. J'aimerais d'ailleurs que de temps à autre on effectue pour ce titrage une épreuve de séro-protection et non-neutralisation) sur furet, les valeurs pouvant parfois ne pas être comparables comme nous l'avons montré avec le sérum contre la peste bovine neutralisant le virus de Carré mais n'exerçant aucune action protectrice. Nous reviendrons bientôt ici même sur cette question en évoquant la possibilité d'obtenir chez le bœuf un excellent sérum anti-virus de Carré (neutralisant et protecteur).

Effectivement si la maladie de Rubarth est largement répandue sous sa forme latente ou inapparente, ainsi que nous l'avons montré antérieurement, elle n'a pas une importance considérable ; toutefois je souligne que l'évolution du virus de Carré ou de la rhinoamygdalite sur un terrain infecté par le virus de Rubarth est inéluctablement mortelle.

Quant à la variabilité qualitative et quantitative du ou des virus du groupe

rhino-amygdalite, pneumopathie, voire encéphalite, elle demeure du domaine classique de la variabilité des virus dont le virus de Carré nous donne un remarquable exemple. Le vaccination contre ce groupe de virus sera difficile à instituer si l'on se rappelle nos observations concernant l'hypermotilité progressive aux réinoculations successives de virus.

Je me permets d'annoncer — une prochaine note en donnera le détail — que nous avons obtenu la culture, en culture de tissu, sans effet cytopathogène, du virus de la rhino-amygdalite et qu'un sérum anti-rhino préparé chez le chien semble nous donner des résultats très encourageants. La préparation d'un sérum spécifique à partir du cheval est en cours. Voici plusieurs années que nous avons obtenu un sérum anti-virus de Rubarth chez le cheval chargé avec des organes de chiens infectés. Nous l'obtenons maintenant par hyperimmunisation à l'aide de culture en tissu.

M. GUILLOT. — Je m'associe aux félicitations que vient d'adresser le Professeur GORET à M. RECLARD, et je voudrais demander à ce dernier une précision du point de vue clinique.

A propos du troisième groupe, rhino-amygdalite, pneumonie et encéphalite à virus, vous avez dit que l'âge avait une influence, mais vous n'avez pas précisé quelle influence. Auparavant je crois vous avoir entendu dire que dans la rhino-amygdalite les formes nerveuses étaient surtout observées chez les jeunes chiens. Est-ce bien votre pensée ? car d'après notre expérience personnelle, la rhino-amygdalite, qui sévit actuellement dans nos chenils militaires, n'apparaît effectivement que chez des chiens ayant dépassé 14 à 15 mois, et ce sont en général les chiens les plus âgés parmi les malades qui font la forme nerveuse.

Une deuxième précision, pour compléter ce que nous a dit M. GORET en ce qui concerne la fréquence de la Maladie de Rubarth. Si les pourcentages des examens sérologiques positifs (fixation du complément), sont élevés dans nos chenils, tous les chiens qui meurent font l'objet d'un examen anatomopathologique portant notamment sur le foie.

Comme peut le confirmer M. DRIEUX qui lui même veut bien examiner nos préparations à Alfort, extrêmement rares sont les foies présentant des inclusions intranucléaires. A part un cas récent, ces lésions sont très exceptionnelles maintenant.

Enfin je retiens comme d'excellent augure la possibilité de préparer chez le cheval un sérum antirhino-amygdalite, et nous sommes tout disposés à l'expérimenter, car nous en aurions extrêmement besoin.

Pour revenir sur le virus de Carré, je puis confirmer, par notre expérience portant sur des milliers de chiens depuis 1956, que la vaccination avec un ovo-vaccin, administré en deux injections par voie intramusculaire, protège efficacement nos effectifs de la Maladie de Carré vraie.

M. LEBEAU. — Il m'est difficile de résister à la tentation de prendre la parole au sujet de la communication que vient de nous présenter M. RECLARD. Tout d'abord je félicite tous ces chercheurs qui ont vraiment beaucoup de mérite.

Je vais vous donner aussi rapidement que possible le point de vue d'un praticien : tout ce que vous venez de dire, nous renseigne, mais le problème du diagnostic clinique ne se trouve pas résolu.

J'ajouterai d'ailleurs à la complexité dont vous avez parlé, que non seulement nous avons affaire à des viroses qui se confondent, mais aussi à d'autres

affections comme la toxoplasmose et la leptospirose dont la symptomatologie est souvent identique.

Le praticien se trouve alors devant un véritable chaos de manifestations communes à diverses entités qu'il est cliniquement impossible de distinguer.

M. REULARD. — Je réponds tout d'abord à Monsieur le Professeur GORET au sujet de l'emploi qui est fait dans cette communication du terme « complexe ». Ce terme ne me satisfait pas plus qu'il ne vous convient. En effet, en matière de Maladie de Carré, les anglo-saxons entendent par « Distemper complex » l'ensemble des différentes formes cliniques appartenant à une même maladie, la maladie de Carré.

Or nous n'avons pas voulu rendre compte de la complexité des aspects cliniques des viroses canines, mais de la multiplicité des agents viraux pouvant engendrer des tableaux symptomatologiques parfois très voisins.

Ainsi donc, dans l'état actuel de nos connaissances, au moins trois affections devraient être distinguées par des appellations différentes.

Deux d'entre elles le sont déjà, d'une part la Maladie de Carré dont nous affirmons l'unicité, d'autre part la Maladie de Rubarth. Reste le groupe Rhino-amygdalite-Pneumonie-Encéphalite. Ainsi que je l'ai dit, aucun nom s'y rapportant ne nous a encore paru satisfaisant. Si Monsieur le Professeur GORET avait une dénomination à nous proposer, nous en serions très heureux.

En second lieu, lorsque j'ai parlé de virus de « Green », il s'agissait bien dans mon esprit d'un virus de Carré fixé dans ses caractères par passages en série sur le furet.

Quant au test de séroprotection *in vivo*, en matière de maladie de Carré, je n'ai pas d'opinion à ce sujet, ne l'ayant pas expérimenté depuis l'obtention des nouveaux sérums hétérologues. Je suis d'accord pour convenir que ce test mérite également d'être pris en considération dans le titrage des sérums. Cependant, ne va-t-on pas se heurter à un besoin excessif en furets, animaux qu'il est actuellement très difficile de se procurer et dont le coût est élevé.

Il nous faudra donc choisir entre séroneutralisation et séroprotection *in vivo*.

Enfin, en ce qui concerne l'inoculation du chien et son éventuelle vaccination avec un virus Rhino-amygdalite, vous avez dit, Monsieur le Professeur, que les premières inoculations du virus avaient pour effet non pas d'immuniser les chiens, mais de les sensibiliser à une infection ultérieure. Je crois comprendre qu'il s'agit, au cours de ces expériences, de l'inoculation de virus vivant. On ignore tout de ce qui pourrait advenir si l'on utilisait des souches inactivées.

Pour notre part, nous nous bornons à souligner le danger que représentent les vaccinations faisant intervenir des virus vivants, tels le virus de Rubarth ou nos souches « Pneumonie ».

Je réponds ensuite au Général GUILLOT en précisant que toutes nos observations portent sur la Pneumonie à virus expérimentale ; il s'agit donc d'un travail de laboratoire et il se trouve que c'est le jeune chien qui nous a servi d'animal d'expérience pour les passages du virus ; cela étant dit, il est exact que dans les conditions naturelles de la pratique on trouve une majorité de chiens adultes malades et présentant en particulier des formes nerveuses de cette virose.

En ce qui concerne la Maladie de Rubarth, effectivement, beaucoup de chiens ont des anticorps neutralisants et bien peu font une maladie clinique dont on peut confirmer le diagnostic. Dans ces conditions, il est bien inutile de prendre les risques de la vaccination par virus vivant.

Enfin pour répondre à Monsieur LEBEAU, je dois dire que nous avons fait l'étude de la maladie expérimentale, de l'agent viral responsable, des caractères immunologiques de ces viroses Rhino-amygdalite-Pneumonie. Or tous les faits observés nous conduisent à différencier d'une façon absolue de la maladie de Carré, ce groupe d'affections ainsi que nous l'avons exposé ici-même antérieurement. Au point de vue clinique, dans les cas de maladie naturelle, il peut être évidemment parfois très difficile d'effectuer un diagnostic différentiel. Cependant Monsieur LEBEAU est certainement beaucoup plus compétent que moi pour apprécier les subtilités cliniques qui pourraient servir de guide. Pour ce qui est du diagnostic de laboratoire, je suis au regret de dire qu'il n'existe, à notre connaissance, aucun test pratique permettant d'effectuer un diagnostic rapide. En effet, le seul animal sensible étant le chien, on ne peut qu'effectuer des épreuves de séro-neutralisations sur le chien, ce qui est irréalisable en pratique courante.

D'autre part le virus en cultures cellulaires n'est doué d'aucun pouvoir cytopathogène. Enfin, la réaction de fixation du complément ne constitue qu'un moyen bien imparfait de diagnostic toujours tardif et souvent infidèle.

Il n'en va pas de même en matière de Maladie de Rubarth où les tests de séro-neutralisation en cultures cellulaires sont d'une réalisation simple et rapide.

M. GORET. — Je ne suis pas tout à fait d'accord avec M. REULARD. Ce sont surtout les chiens « jeunes-adultes » de plus de six mois qui se montrent sensibles à notre souche de virus de la rhino-amygdalite (d'ailleurs inoculable par toutes les voies).

D'autre part répondant à M. LEBEAU, je pense que malgré la fréquence relative des anticorps fixants chez les chiens apparemment bien portants, la réponse fournie par la fixation du complément pratiquée avec les 3 antigènes (Carré, Rubarth, Rhino) sur le sérum de chiens malades depuis une douzaine de jours donne des indications, tardives pour le praticien, mais néanmoins intéressantes. Notre collègue M. GROULADE vous le dira pour qui j'effectue presque systématiquement ces réactions.

M. LEBEAU. — Il me paraît intéressant, surtout après l'intervention judicieuse de M. GORET, quant au résultat de certains diagnostics de laboratoire, de préciser comment le praticien doit procéder.

En présence d'un chien qui n'a pas été vacciné :

1° Le premier jour on injecte un sérum anti-Carré et anti-H, à petite dose. S'ils'agit de l'un des deux virus, le lendemain déjà une nette amélioration se constate. Si l'état du malade reste inchangé, d'autres médications doivent être essayées.

2° Le sérum anti-gangréneux polyvalent ou le mélange cortisone-chloramphenicol sont plutôt favorables dans les gastro-entérites infectieuses ; les sulfones influencent la toxoplasmose et les pneumopathies.

3° Lorsque les traitements précédents ont échoué, par élimination, on peut suspecter une rhino-amygdalite. Dans ce dernier cas, les dérivés du formol donnent parfois satisfaction.

En résumé, il faut un maximum de 4 jours pour être fixé quant au diagnostic médicamenteux lorsque des signes pathognomoniques font défaut. Un jour peut être gagné si le chien a été authentiquement vacciné.

Pour ce qui est de l'âge des chiens atteints de rhino-amygdalite, je suis de

l'avis du général Guillot, ce sont surtout les adultes qui font des complications nerveuses.

Monsieur RECLARD. — Je me suis mal fait comprendre, je précise donc ce que j'entend par « jeune chien ». Nous achetons des chiens de différentes provenances et nous sommes obligés d'accepter ce que l'on nous envoie, sans trop d'exigence quant à l'âge. Aussi disposons-nous de jeunes dont l'âge varie de 2 à 15 mois. Nous les considérons comme chiots ou jeunes chiens, en les opposant aux chiens adultes qui ont passé 4 ans.

En ce qui concerne la réaction de fixation du complément, je suis amené à anticiper quelque peu sur l'exposé des résultats que nous rassemblons actuellement.

En effet, je ne suis pas tout à fait d'accord avec Monsieur le Professeur GORET, en ce sens que nous trouvons des anticorps fixant chez des chiens qui n'ont pas présenté de maladie apparente, et que d'autre part, chez les chiens infectés expérimentalement ou atteints de maladie naturelle, les résultats obtenus sont variables et souvent peu significatifs. Seules nous ont paru intéressantes, parce que nettes et fidèles, les réactions effectuées avec les sérums de chiens hyperimmunisés. Ces hyperimmunisations ont été effectuées avec des souches « Pneumonie ». Nous n'avons pas encore réalisé l'hyperimmunisation avec l'antigène « Rhino-amygdalite », faute de matériel virulent en quantité suffisante.

M. GORET. — Je ne nie pas — puisque je l'ai démontré — et je le répète, l'importance des anticorps fixants rencontrés chez les chiens « sains ». Mais en cas d'une maladie qui évolue, je persiste à penser qu'en se basant sur la présence d'un taux valable (*au moins* la dilution de 1/8) d'anticorps les renseignements fournis ont une valeur certaine.

M. BRION. — A propos de ce terme de complexe que l'on a beaucoup critiqué tout à l'heure c'est un des exemples d'un mot français qui a été adopté par les Anglais et qui revient en français avec un sens dévié. Je crois que le mot « complexe », tel que l'entendent les Anglais, a pour traduction plus correcte en français le mot « syndrome », et lorsque les Anglais disent « dis-temper complex » ils parlent d'un ensemble de symptômes que l'on rencontre dans la maladie de Carré ; il serait préférable que nous utilisions notre mot français de syndrome plutôt qu'une traduction inexacte du terme anglais de « complex ».
