

Préparation d'un sérum contre la maladie de Carré à partir du cheval

par C. MACKOWIAK, J. FONTAINE et P. GORET

La préparation du sérum homologue contre la maladie de Carré se heurte à des difficultés techniques insurmontables dues à l'animal producteur lui-même. La quantité relativement faible de sang obtenue, le sacrifice des animaux hyper-immunisés ou leur entretien et leur recharge au moyen d'immunigènes coûteux conditionnent le prix de revient élevé du produit.

L'intérêt de l'utilisation du cheval comme animal producteur — s'il répondait par la production d'anticorps spécifiques à la sollicitation par le virus — n'a pas besoin d'être souligné. Or il ne semble pas qu'une telle étude ait attiré les chercheurs et l'on serait en droit de penser — a priori — qu'une telle préparation se révèle impossible.

Toutefois malgré l'échec, dans ce domaine, de l'un d'entre nous (2) en 1936, nous avons renouvelé des essais en ce sens depuis 1955. Les publications de M. NÉANT (4) concernant un sérum équin contre la maladie de Carré préparé par l'Institut Pasteur et de F. YEU et P. RECLARD (5), traitant de la détoxication et de la purification de ce sérum nous incitent à publier le résultat de nos recherches en la matière.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

1° *Virus de Carré.*

Deux types de substances immunigènes ont été utilisés au cours des essais successifs.

a) des suspensions à 20 % en eau physiologique, fraîches ou lyophilisées, de rates de furets infectés par une souche adaptée de virus de Carré (3) ;

b) le liquide surnageant recueilli après broyage et centrifugation (10 minutes à 6.000 t.m) sans addition d'excipient, de membranes chorio-allantoïdiennes d'œufs embryonnés infectés par une souche avianisée utilisée pour la préparation du vaccin contre la maladie de Carré et le titrage des sérums par séroneutralisation (1) (souche Pittman-Moore).

A la suite de la publication de M. NÉANT — et bien que nous n'ayions jusqu'alors observé aucun accident toxique chez le chien après injection du sérum préparé chez le cheval — seuls les immunigènes issus des ovocultures ont été utilisés.

2° *Animaux producteurs.*

On utilise soit des chevaux déjà « réformés » et préalablement réservés à la production du sérum antistreptococcique, soit des chevaux neufs. Avant toute immunisation par le virus de Carré le sérum des chevaux est titré en présence de ce virus.

3° *Rythme des inoculations de virus.*

a) *Emploi du virus-tissu.*

Convaincus que notre échec de 1936 était dû à l'insuffisance de la quantité d'antigène injecté nous avons d'abord inoculé par voie sous-cutanée et intraveineuse de très fortes quantités de suspensions spléniques virulentes (150 à 200 ml. de suspension à 10 ou 20 %). Les injections furent renouvelées 6 ou 7 fois à 4-5 jours d'intervalle. Les animaux étaient saignés 10-12 jours après la dernière inoculation puis « rechargés » au même rythme et saignés au bout du même temps.

Cette technique a dû être abandonnée étant donné les accidents (dont plusieurs mortels) survenus chez les chevaux.

Prévenus, par ailleurs, par nos titrages, de la valeur certaine d'un sérum issu d'un animal n'ayant reçu que des quantités moyennes d'immunigènes, nous avons abandonné la technique précédente en faveur de l'inoculation intra-musculaire de suspensions spléniques virulentes de furets, à 10 % aux doses successives de 5, 10, 12 et 16 ml. administrées, les trois premières à 15 jours et la dernière à 7 jours d'intervalle. Après la saignée — pratiquée 12 jours après la dernière inoculation — les chevaux sont rechargés et saignés au même rythme.

b) *Emploi du virus avianisé.*

L'expérience précédente ayant démontré que l'on pouvait obtenir un bon sérum par une hyperimmunisation relativement peu poussée nous avons appliqué la même technique en nous adressant comme matériel immunigène au virus d'ovoculture et en nous arrêtant au protocole suivant :

a) 3 inoculations intramusculaires à 15 jours d'intervalle de 20 ml de liquide surnageant du broyat centrifugé de membranes chorio-allantoïdiennes infectées.

b) Première saignée, 8 jours après la dernière inoculation.

c) Deuxième saignée, 4 jours plus tard.

d) Repos 10 jours.

e) Réinoculation par voie musculaire de 20 ml de liquide virulent.

f) Reprise des saignées, puis des recharges au même rythme.

Les chevaux sont utilisés pour la production pendant 4 à 5 mois seulement, après quoi ils sont définitivement réformés.

4° *Titrage du sérum.*

Le titrage du sérum avant et après immunisation s'effectue par séro-neutralisation *in ovo*, contrôlée par séro-neutralisation *in vivo* sur furet selon les techniques mises au point par l'un de nous et dont nous soulignons une fois encore la parfaite concordance (1).

II. — RÉSULTATS

Nous avons, en résumé, préparé 3 sortes de sérums que nous désignerons sous le nom de sérum de haute hyperimmunisation (S.H.H.), sérum de faible hyperimmunisation par virus furet (SFHF) et sérum de faible hyperimmunisation par virus d'ovoculture (SFHOv.).

Nous donnons dans le tableau ci-joint les résultats des titrages d'un échantillon de chacun de ces sérums (chevaux 0, 4, 1), les autres essais nous ayant donné des résultats identiques.

Sérum	Cheval	Titrage avant immunisation		Titrage après hyperimmunisation			
		<i>in ovo</i>	<i>in vivo</i>	<i>in ovo</i>		<i>in vivo</i>	
				Première saignée	Après recharge	Première saignée	Après recharge
SH H	0	—	0	—	—	1 ml neutralise au moins 5.000 DMI ₅₀ de virus (*)	
SFHF	4	<10 ^{0,6}	0	10 ^{2,55}	10 ^{2,62}	1 ml neutralise au moins 20.000 DMI ₅₀ de virus (*)	
SFH Ov	1	<10 ¹	0	10 ²	10 ^{2,85}	1 ml neutralise au moins 20.000 DMI ₅₀ de virus (*)	

(*) Les titrages n'ont pas été poussés plus loin.

III. — EMPLOI DU SÉRUM CHEZ LE CHIEN

D'après les premiers essais poursuivis dans la pratique, le sérum obtenu sur le cheval se révèle actif chez le chien à titre égal et peut-être même supérieur à celui du sérum homologue. Nous n'avons jamais observé d'accidents toxiques du type de ceux signalés par NÉANT (4), même lors d'injections expérimentales sous-cutanées massives du sérum hétérologue hyperimmun.

CONCLUSION

Il est possible d'obtenir un très bon sérum contre la maladie de Carré par hyperimmunisation du cheval soit avec des organes de furets infectés soit avec le virus avianisé. Les quantités de virus à inoculer pour l'hyperimmunisation par voie musculaire apparaissent relativement faibles. Plusieurs contrôles nous permettent de garantir la réalité de ce fait, *a priori* surprenant.

Le pouvoir neutralisant de ce sérum est tout à fait comparable à celui du sérum homologue obtenu par hyperimmunisation des chiens.

(Laboratoire de Microbiologie de l'Ecole d'Alfort
(Pr P. GORET) et Institut Français de la Fièvre
Aphteuse (Directeur : C. MACKOWIAK.)

BIBLIOGRAPHIE

1. FONTAINE (J.). — *Bull. Acad. Vét. France*, 32, 1959, p. 81 et 89.
2. GORET (P.) et LELANDAIS (E.). — *Bull. Acad. Vét. France*, 9, 1936, p. 427.
3. GORET (P.) et YVORE (G.). — *C.R. Soc. Biol.*, 141, 1947, p. 932.
4. NÉANT (M.) — *Bull. Soc. Vét. Prat.*, 41, 1957, p. 296.
5. YEU (F.) et REULARD (P.). — *Ann. Institut Pasteur*, 96, 1959, p. 333.