

Avianisation d'un virus de Carré Obtention d'un vaccin à l'aide du virus adapté

par L. NICOL

O. GIRARD, R. CORVAZIER, M. CHEYROUX et P. RECLARD

L'Ovoculture du virus de Carré, née des travaux de MITSCHERLICH (20) et PLUMMER (21) en 1938 et 39 a, dans les années qui suivirent, été réalisée par VELU et DANJEAN (24), HAIG (11), COX et CABASSO (4, 5), LASFARGUES (14), LUCAM et GORET (17, 18) POTEL (19). Elle est maintenant d'une pratique courante. Un des caractères essentiels de l'avianisation du virus réside en ce que le pouvoir pathogène de ce dernier vis-à-vis de l'hôte naturel, décroît progressivement jusqu'à devenir nul à mesure que l'on multiplie les passages, tandis que ses propriétés immunisantes sont conservées.

Les virus avianisés ont donc pu être utilisés pour l'immunisation des espèces sensibles, en particulier du chien, du furet et du vison. Il ressort des rapports qu'ont fait à ce sujet au cours des six dernières années BAKER (1), BRASMER (3), CABASSO (6, 7), GORHAM (10), HARTSOUGH (13), HAIG (12), LOPEZ PACHECO (16), MANTOVANI (19), SCAULON (23), YAKOLEV (25), que la vaccination réalisée au moyen de ces virus vivants, donne des résultats satisfaisants dans des conditions bien déterminées d'adaptation des virus. Cette vaccination n'est généralement pas suivie de réaction chez les animaux qui y sont soumis. La durée de l'immunité conférée a encore été peu étudiée.

A la suite des travaux sur le virus de Carré, effectués à l'Institut Pasteur de Garches par LASFARGUES (8, 9, 14, 15) et CORVAZIER (8, 9, 15) nous entretenons ce virus depuis 1954 par passages en série sur l'œuf de Poule embryonné. Ce qui nous a permis de suivre dans le temps l'adaptation du germe à l'embryon de poulet au cours de quelques 200 passages successifs.

Pour ce faire, nous avons utilisé une souche virulente d'origine canine, ayant ensuite été passée 60 fois sur le furet; à ce stade le virus est « fixé » : il tue l'animal en 10 jours avec un tableau symptomatologique classique. Un gramme de matériel virulent préparé à

partir de rates de furets infectés avec ce virus fixé, récoltées à la période préagonique, contient 10.000 doses minima mortelles pour le furet.

Nous avons inoculé dans l'œuf au 1^{er} passage 200 doses minima mortelles furet.

Les passages se font sur des œufs embryonnés incubés durant 7 jours à 39°.

Ces œufs proviennent de poules de race « Sussex » appartenant à des élevages sélectionnés dont l'état sanitaire est particulièrement contrôlé.

L'inoculation est réalisée par la voie allantoïdienne suivant la technique décrite par BEVERIDGE et BURNET (2).

Le matériel inoculé est ainsi préparé : une membrane infectée est broyée au mortier.

Le broyat est mis en suspension dans la solution de Earle pénicillinée et centrifugé pendant cinq minutes à 4.000 tours minute. Le surnageant constitue le liquide virulent que l'on dilue convenablement selon le degré de virulence atteint, et dont on dépose 1/20 de cm³ sur chaque membrane neuve.

On place ensuite les œufs dans des couveuses réglées à 36° durant 7 jours.

Ils sont alors vidés aseptiquement de leur contenu, les membranes chorio-allantoïdiennes sont recueillies, puis lavées en solution saline tamponnée, et stockées à — 30° pour des passages ultérieurs.

Les résultats obtenus peuvent se résumer comme suit :

1° Les lésions spécifiques siégeant au niveau de l'allantoïde sont apparues au 9^e passage. Ce temps de latence correspond à la période initiale durant laquelle le virus demeure présent dans l'œuf sans se multiplier.

Ces lésions ont atteint leur plein développement au 20^e passage; elles sont le signe de la multiplication du virus.

2° Le pouvoir infectant du virus pour l'œuf a augmenté à mesure que l'on a multiplié le nombre des passages. La mortalité de l'embryon à la récolte qui était de 10 % au départ s'est élevée à 20 % au 50^e passage, puis à 30 % au 100^e passage, pour dépasser 50 % au 150^e passage.

3° Inversement, la virulence pour le furet a diminué progressivement : elle était réduite de 50 % au 20^e passage, de 95 % au 30^e passage. Elle est nulle depuis le 40^e passage.

De plus, les animaux survivant à l'inoculation du virus avianisé résistent ensuite à des épreuves effectuées au moyen de virus pathogène.

4° La quantité de virus obtenue dans l'œuf est fonction d'une part de la dose d'inoculation, d'autre part du moment de la récolte.

Le meilleur rendement est réalisé en inoculant 1.000 doses minima infectantes 50 % par œuf et en récoltant le virus 7 jours après l'infection de l'œuf.

Nous utilisons pour la préparation des différents lots de vaccin le virus ayant subi une centaine de passages sur l'œuf : à ce stade il est parfaitement avirulent pour le furet; d'autre part il se multiplie abondamment sur la membrane chorio-allantoïdienne; 0,05 cm³ de l'extrait allantoïdien de la dilution 10-5 représente la dose minima infectante 50 %. De plus, en opérant au 100^e passage, la mortalité de l'embryon dans l'œuf au moment de la récolte est, comme nous l'avons dit, relativement peu élevée. Ce qui ne manque pas d'intérêt car les prélèvements sont effectués uniquement sur les œufs dont les embryons sont demeurés vivants.

Lorsque la récolte du virus est achevée, le matériel virulent obtenu est immédiatement divisé au broyeur à grande vitesse tandis que l'on maintient la température à 0°. Puis il est mis en suspension au 1/2 en solution tamponnée, réparti en flacons et lyophilisé, chaque flacon contient approximativement 100.000 doses minima infectantes 50 % de virus frais.

Les contrôles auxquels sont soumis les différents lots de vaccin, sont de trois ordres :

1° un contrôle bactériologique sur les milieux de culture usuels.

2° un contrôle d'innocuité sur le chien : des chiots neufs âgés de 3 à 8 mois reçoivent par voie sous cutanée et en un seul point 5 doses de virus lyophilisé. Aucune réaction tant locale que générale ne doit être enregistrée.

3° des furets pesant 400 à 500 grammes reçoivent par voie sous cutanée une dose du vaccin lyophilisé, sans rappel. Quinze jours plus tard ils sont éprouvés en même temps que des témoins au moyen du virus pathogène : les animaux vaccinés doivent résister à 1.000 doses minima mortelles de virus. En fait leur résistance est encore supérieure à cette norme et ils peuvent survivre à l'inoculation de 10.000 doses minima mortelles de virus.

Cette épreuve sur furet permet ainsi de vérifier à la fois l'innocuité du virus avianisé pour cette espèce (qui est la plus sensible

à la maladie) cela dans un premier temps; puis, après inoculation du virus pathogène, la valeur immunisante du vaccin prêt à l'emploi.

Les chiens vivant dans la région parisienne étant le plus souvent résistants à l'infection expérimentale ne peuvent convenir au contrôle d'efficacité.

CONCLUSIONS

Les vaccinations réalisées au moyen de ce virus ont donné des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus par les auteurs Anglais et Américains.

C'est ainsi qu'en ce qui concerne la protection des animaux vis-à-vis d'une infection expérimentale d'une part, 50 chiens vivant en dehors de la région parisienne et 120 furets au laboratoire, ont été efficacement immunisés dans la proportion de 100 %.

En clientèle canine d'autre part, le bilan de la première campagne de vaccinations portant sur l'année 1956 fait apparaître 95 % de bons résultats (*).

Les échecs de vaccination par « rupture d'immunité » ou mieux par disparition trop rapide de l'immunité ou même absence de réponse à l'antigène, sont très rares. L'immunité est encore consolidée par une injection de rappel pratiquée 3 semaines après la 1^{er} intervention.

La durée moyenne de l'immunité demeure encore imprécisée.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAKER (C. A.), LEADER (R. W.), GORHAM (J. R.). — Immunisation du Furet avec un virus avianisé. *Vét. Méd.*, 1952, **47**, 463.
2. BEVERIDGE (W. B.) et BURNET (F. M.). — La culture des virus et des rickettsies dans l'embryon de poulet. 1950, Paris, Flammarion éditeur.

(1) Les quelques rares accidents survenant à la suite de cette vaccination et cela malgré que l'on ait pris les précautions d'usage, sont d'une interprétation difficile. HAIG, en Afrique du Sud, après vaccination de 40.000 chiens par le virus avianisé signale de tels accidents survenant 10 à 20 jours après la vaccination et, ainsi que nous l'avons nous-mêmes observé, toujours caractérisés par des troubles nerveux (12). A ce sujet, il faut toutefois rappeler que l'on rassemble sous le vocable « complexe maladie du jeune âge », des affections étiologiquement distinctes mais dont les tableaux cliniques sont souvent malaisément dissociables. Or les vaccinations dont nous avons parlé sont rigoureusement spécifique du virus de Carré.

3. BRASMER (T. H), WHITTER (R. E), BOLEY (L. E.). — Avianizit distemper vaccine. *N. Am. Vét.*, 1953, **34**, 356.
4. CABASSO (V.-J.) et COX (H.-R.). — Culture du virus de Carré sur l'œuf. *Proceed. Soc. Exp. Biol. a Med.*, 1949, **71**, 246.
5. CABASSO (V.-J.) et COX (H.-R.). — Un virus d'une encéphalite du Chien, son adaptation à l'embryon de poulet. *Cornel. Vet.*, 1952, **42**, 96.
6. CABASSO (V.-J.), STEBBINS (M.-R.) et COX (H.-R.). — Vaccination du furet par injection simultanée de virus de Carré avianisé et de sérum anti-Carré. *Cornell. Vet.*, 1953, **43**, 179.
7. CABASSO (V.-J.), BURKHERT (R.-L.) et LEAMING (J.-D.). — Emploi d'un vaccin avianisé contre la maladie de Carré. *Vétér. Méd.*, 1951, **46**, 167.
8. CORVAZIER (R.) et LASFARGUES (E.). — Parenté antigénique *in vitro* entre le virus de la poliomyélite (type Lansing) et le virus de Carré. *C. R. Acad. Sci.*, 1953, **236**, 637.
9. CORVAZIER (R.) et LASFARGUES (E.). — La congutination, méthode de détection du virus de Carré. *C. R. Soc. Biol.*, 1952, **146**, 676.
10. GORHAM (J.-R.). — Immunisation contre la maladie de Carré par un virus avianisé. *Vét. Bull.*, 1954, **6**, 375.
11. HAIG (D.-A.). — Culture *in vivo* du virus de Carré. *Onderstepoort J. Vét. Méd.*, 1948, **23**, 149.
12. HAIG (D.-A.). — Immunisation contre la maladie de Carré avec le virus avianisé. *Onderstepoort J. Vét. Méd.*, 1956, **27**, 19.
13. HARTSOUGH (C.-R.) et GORHAM (J.-R.). — Vaccination du vison contre la maladie de Carré. *Am. J. Vét. Méd. Ass.*, 1953, **122**, 383.
14. LASFARGUES (E.). — Essai de culture du virus de Carré sur membrane chorio-allantoïdienne et sur tissus embryonnaires de poulet. *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, **84**, 703.
15. LASFARGUES (E.) et CORVAZIER (R.). — Culture *in vitro* du virus de Carré en présence de tissus embryonnaires de poulet. *C. R. Soc. Biol.*, 1952, **146**, 1713.
16. LOPEZ PACHECO (O.-A.). — 50 vaccinations du Chien contre la maladie de Carré à l'aide du virus avianisé. *J. Am. Vét. Méd. Assoc.*, 1952, **121**, 468.
17. LUCAM (F.) et GORET (P.). — Ovoculture du virus de Carré. *C. R. Acad. Sci.*, 1951, **233**, 107.
18. LUCAM (F.), GORET (P.), JOUBERT (L.) et POUSSOT (A.). — Ovoculture du virus de Carré. *Bull. Acad. Vét. France*, 1953, **26**, 67.
19. MANTOVANI (A.) et SIMARINO (E.). — Vaccin avianisé contre la maladie de Carré. *Vét. Ital.*, 1954, **5**, 128.
20. MITSCHERLICH (E.). — Essai d'ovoculture du virus de Carré. *Deutsch Tierartzl. Wochenschr.*, 1938, **46**, 497.
21. PLUMMER (P.-J.). — Essai d'ovoculture du virus de Carré. *Canad. J. Comp. Méd.*, 1939, **3**, 96.
22. POTEL (K.). — Etat actuel des recherches sur la maladie de Carré à l'Institut Loeffler de l'île de Riems. *Schw. Arch. Tierheick.*, 1954, **96**, 260.
23. SCAULON (E.-J.) et FISHER (G.-W.). — Premier rapport sur 100 vaccinations de Chiens contre la maladie de Carré avec le virus avianisé. *Vét. Méd.*, 1951, **46**, 432.

24. VELU (H.) et DANJEAN (Y.). — Ovoculture du virus de Carré. *Maroc Médical*, 1941, N° 218.
25. YAKOLEV (S.-A.). — Immunisation contre la maladie de Carré par un virus avianisé. *Veterynacia*, 1954, 21, 28.

Discussion

M. BRESSOU. — Je ne demande pas la parole sur le fonds de la communication, pour lequel je n'ai qu'une compétence limitée, mais uniquement sur une question de terminologie à propos de ce que l'on appelle un peu trop légèrement à mon sens, une « rupture d'immunité ». Est-ce vraiment le mot qui convient ou n'emploie-t-on pas ce terme trop abusivement ces temps-ci et parfois trop complaisamment ?

M. BOUCHET. — Le terme de « rupture d'immunité » a été inventé à propos de la vaccination anti-aphteuse pour baptiser les insuccès de cette vaccination. On a rendu responsable de ces insuccès le praticien que l'on a accusé de faire des vaccinations non efficaces, qui ne sont pas bien faites, qui sont faites avec des vaccins mal conservés ou bien utilisés sans respecter les doses prescrites. Nous avons appris par la suite que si ces vaccins étaient vérifiés quant à leur innocuité ils ne l'étaient que très incomplètement quant à leur efficacité. Le praticien n'est donc pas le responsable de ces échecs, mais pour lui le terme de « rupture d'immunité » gardera toujours un sens péjoratif.

M. JACOTOT. — J'estime qu'il y aurait lieu que l'Académie donne son avis sur ce sujet. Il est certain, comme on vient de nous le dire, qu'il n'y a pas rupture d'immunité, il y a épuisement d'immunité, cet épuisement survient quelquefois dans des délais très courts, et cela a mis dans l'embarras un certain nombre de personnalités, non seulement du domaine scientifique, mais également et surtout du domaine administratif. Et c'est à l'occasion de la vaccination contre la fièvre aphteuse que l'on a inauguré et surtout répandu ce terme de rupture d'immunité qui scientifiquement est impropre ; je pense qu'il n'y a pas lieu de passer sous silence l'observation de M. BRESSOU ; nous devrions même l'appuyer.

M. NICOL. — Je suis d'accord avec M. le Secrétaire général et nos collègues sur l'impropriété du sens généralement attribué au terme de « rupture d'immunité ». Pour ne laisser planer aucun doute sur la signification que nous lui donnons, nous modifierons le membre de phrase où il figure, en précisant notre pensée.

En parlant de « rupture d'immunité », nous n'entendons pas masquer plus ou moins des défaillances de notre vaccin.

Sa valeur antigénique est largement prouvée d'une part par la sévérité des contrôles régulièrement effectués sur le furet, d'autre part par son aptitude à l'hyperimmunisation du Cheval, sur lequel nous avons réussi à obtenir par son emploi des sérums spécifiques de titre élevé, 1 cc neutralisant 30.000 doses infectantes pour le furet.

A notre sens, la « rupture d'immunité » peut couvrir des phénomènes de plusieurs genres.

Il est d'abord des organismes, dans toutes les espèces, qui se révèlent incapables, quel que soit l'antigène administré de produire des anticorps.

D'autres ne répondent que faiblement à la stimulation antigénique.

Par ailleurs, parmi ceux qui s'immunisent, la durée pendant laquelle, après la vaccination, subsiste un taux d'anticorps suffisant pour être protecteur, est variable. Si elle est très courte, on pourra conclure le cas échéant à un échec de la vaccination.

Enfin n'oublions pas, lorsque la vaccination se fait par plusieurs injections successives, ou bien lors d'une injection dite de rappel, la possibilité d'existence d'une « phase négative » par blocage momentané des anticorps sur l'antigène nouvellement injecté.

En ce qui concerne plus précisément la maladie de Carré, il faut enfin signaler dans les publications de tous les auteurs, la mention d'accidents assimilés à des formes nerveuses de la maladie, apparaissant dans les 25 à 30 jours suivant la vaccination. L'étiologie de ces manifestations n'est pas élucidée. Mais il est peut être abusif de rendre responsable dans tous les cas le vaccin. Le « Complexe Maladie de Carré » réunit plusieurs agents connus, peut-être d'autres encore non identifiés, qui ont certainement au moins une part de responsabilité dans les cas signalés.

M. JACOTOT. — Etant donné que j'ai pris position d'une manière catégorique, je tiens à faire un correctif : il n'est pas question pour moi, ni pour M. BRESSOU je pense, d'engager la responsabilité de nos collègues qui viennent de présenter une note très intéressante, il ne s'agit pas de leur cas particulier, ils sont parfaitement excusables d'avoir employé ce mot « rupture » parce qu'il est entré dans les usages, tout le monde dit « rupture d'immunité » ; par conséquent, il n'y a rien à dire en ce qui concerne les auteurs de la communication, mais l'Académie doit prendre position vis-à-vis d'un terme qui tend à se répandre et est défectueux, c'est tout.

M. BRESSOU. — Je partage sur tous les points l'opinion de M. JACOTOT.

M. GUILLOT. — Je voudrais seulement signaler, pour notre part, l'inocuité du vaccin préparé par l'Institut Pasteur dont vient de parler notre collègue. Nous l'employons depuis le début de l'année systématiquement sur la moitié de tous les chiens adultes achetés dans un de nos chenils, et nous n'avons pas eu le moindre incident ou accident à observer. La vaccination est pratiquée comme l'a indiqué M. REULARD, à raison de deux injections à trois semaines d'intervalle. Malheureusement pour l'expérimentateur, mais heureusement pour nous qui sommes les propriétaires, le chenil où nous pratiquons cette vaccination n'est pas infecté pour le moment par le virus de Carré et nos témoins n'ayant jamais manifesté aucun signe de maladie nous ne pouvons pas conclure pour le moment à l'efficacité du vaccin.

M. LE PRÉSIDENT. — Pour clore cette intéressante discussion, nous pourrions peut-être retenir la suggestion de M. JACOTOT et nommer une commission qui proposerait une conclusion ferme ?

Cette commission pourrait être constituée par MM. JACOTOT, NICOL, BOUCHET, BRESSOU et VELU.

(Proposition adoptée.)