

Recherches sur l'immunisation des porcelets contre la maladie de Teschen

par H. SERRES

Le Laboratoire central de l'Élevage, à Tananarive, prépare depuis 1954 un vaccin contre la maladie de Teschen.

La technique de préparation de ce vaccin a évolué depuis sa création, la transformation la plus importante étant l'introduction des cultures de tissus par Bourdin et coll. ([1] et [2]). Toutefois, un principe est resté, c'est celui de l'utilisation d'un virus vivant et pleinement virulent. Cette technique peut être appliquée car l'inoculation sous-cutanée de virus de Teschen, quelle que soit la virulence de la souche, n'a jamais permis de reproduire expérimentalement la maladie. Bien que des expériences précédentes nous aient montré la possibilité d'immuniser d'excellente façon avec du virus inactivé, nous utilisons toujours, pour le moment, le virus vivant dont une longue pratique nous a prouvé l'efficacité.

Afin de progresser encore, nous avons entrepris l'étude de quelques facteurs susceptibles de conditionner l'immunisation. C'est ce que nous allons exposer ci-après.

I. — TITRE EN VIRUS DU VACCIN

Nous envisagerons d'abord l'importante question de la teneur du vaccin en unités virulentes.

Cette étude a été pratiquée à l'aide de virus récoltés après la lyse d'une culture de cellules épithéliales de rein de porcelet (la souche étant au 34^e passage sur cellules). Le titrage a été pratiqué sur culture de cellules en tubes roulants selon la technique décrite par Bourdin et

coll. (1). Il a donné 10^{-3} DL 50 par millilitre. Puis le liquide de récolte a été dilué pour obtenir les concentrations suivantes :

10^{-6} , 10^{-4} , 10^{-2} DL 50 par ml.

Avec chaque dilution, un lot de vaccin a été préparé, par addition d'un volume égal de gel d'alumine à 2 p. 100.

Cinq porcelets Large-White de deux mois, pesant 10 kg environ, ont été inoculés avec chaque série (on a pratiqué deux injections sous-cutanées de 5 ml à 15 jours d'intervalle par animal). Vingt jours après la deuxième vaccination, les animaux ont été éprouvés par inoculation intra-cérébrale de 0,25 ml de souche entretenue sur cerveau, diluée à 10^{-3} , ce qui représente 1.000 DL 50 pour le porcelet. Cinq porcelets témoins ont été inoculés de la même manière. Les animaux ont été observés pendant 30 jours ; pour ceux qui ont succombé l'examen histopathologique des moelles lombaires et des bulbes fut pratiqué (les lésions de poliomyélite aiguë sont caractéristiques de la maladie de Teschen à Madagascar).

Le tableau A indique les faits expérimentaux. Ces résultats montrent que :

— A 10^{-2} DL 50/ml on n'obtient aucune immunité, puisque le nombre d'animaux frappés par la maladie est égal à celui noté pour les animaux témoins (4 sur 5).

— A 10^{-4} DL 50/ml une immunité certaine s'établit, mais d'une manière irrégulière, puisque deux animaux sur cinq succombent à l'épreuve.

— A 10^{-6} DL 50/ml le résultat est plus satisfaisant, mais encore partiel : un animal sur cinq succombe.

TABLEAU A

Lot	Porcelet N°	Résultats de l'épreuve	Symptômes	Histo- pathologie
N° 1 Virus à 10^{-8} DL 50/ml	1510	Résistant après 30 jours	-	-
	1497	Résistant après 30 jours	-	-
	1521	Résistant après 30 jours	-	-
	1506	Résistant après 30 jours	-	-
	1513	Résistant après 30 jours	-	-
N° 2 Virus à 10^{-6} DL 50/ml	1295	Résistant après 30 jours	-	-
	920	Résistant après 30 jours	-	-
	1294	Mort 10 jours après épreuve	Paralysie totale	+
	911	Résistant après 30 jours	-	-
	1017	Résistant après 30 jours	-	-
N° 3 Virus à 10^{-4} DL 50/ml	1286	Mort 11 jours après épreuve	Paralysie totale	+
	1291	Mort 10 jours après épreuve	Paralysie totale	+
	1011	Résistant après 30 jours	-	-
	1018	Résistant après 30 jours	-	-
	1012	Résistant après 30 jours	-	-
N° 4 Virus à 10^{-2} DL 50/ml	1300	Mort 8 jours après épreuve	Paralysie totale	+
	1287	Mort 9 jours après épreuve	Paralysie totale	+
	1299	Mort 8 jours après épreuve	Paralysie totale	+
	1019	Résistant après 30 jours	-	-
	1289	Mort 8 jours après épreuve	Paralysie totale	+
N° 5 Témoins d'épreuve	908	Résistant après 30 jours	-	-
	1013	Paralysie après 12 jours	Paralysie persistante. N'est pas mort.	-
	1288	Mort 10 jours après épreuve	Paralysie totale	+
	1298	Mort 9 jours après épreuve	Paralysie totale	+
	1296	Mort 10 jours après épreuve	Paralysie totale	+

— A 10^{-8} DL 50/ml l'immunisation est excellente, tous les animaux résistant à l'épreuve.

Nous concluons qu'on devrait obtenir régulièrement 10^{-8} DL 50/ml pour avoir un vaccin de grand pouvoir immunogène. Toutefois, si nous considérons la sévérité de l'épreuve effectuée dans l'expérience (1.000 DL 50 pour le porcelet), nous pouvons affirmer que les récoltes donnant 10^{-6} DL 50 sont douées d'un pouvoir vaccinant très important. Elles peuvent être utilisées pour la préparation de vaccins dont on peut attendre une efficacité certaine.

II. — UTILITE DU GEL D'ALUMINE DANS LA REVACCINATION

L'utilisation du gel d'alumine comme adjuvant est largement répandue en immunologie vétérinaire.

L'expérimentation nous a montré son intérêt

primordial dans la vaccination contre la maladie de Teschen (3). Les modalités de l'activité de ce gel d'alumine n'ont cependant pas été précisées. La lecture des importants travaux de d'Antona et Piazzi sur l'immunisation antidiphthérique du cobaye (4) inspirent un complément d'expérimentation. Reprenons leurs conclusions : « Lors de la stimulation primaire, les antigènes adsorbés ou émulsionnés dans l'huile ont un effet incomparablement supérieur à celui obtenu avec les mêmes antigènes fluides (naturels ou purifiés), leur action se traduisant par une production plus intensive et plus rapide d'anticorps, et par une réactivité acquise (immunité potentielle) considérablement plus développée.

« Lors de la stimulation secondaire ou de rappel on observe une inversion des phénomènes ; l'immunité obtenue — si on considère la quantité d'anticorps apparue dans le sang — est nettement favorisée par les stimuli adminis-

trés avec des antigènes fluides, mais non par des antigènes adsorbés ou émulsionnés dans l'huile. »

En serait-il de même pour l'immunisation anti-virus de Teschen ? Un résultat nous est déjà connu : plusieurs injections de virus adsorbé donnent de meilleurs résultats que la même quantité d'antigène utilisée sous forme fluide. Nous avons réalisé l'expérimentation décrite ci-après pour comparer les immunités procurées par :

- deux stimuli « antigène adsorbé »,
- un stimulus « antigène adsorbé » suivi d'un stimulus « antigène fluide ».

Nous avons utilisé des porcelets Large-White

de deux mois. Une prise de sang a été faite à chaque animal avant toute chose, afin de vérifier l'absence d'anticorps neutralisants dans leur sérum.

Puis les deux vaccinations sont effectuées à 15 jours d'intervalle, à l'aide d'une souche titrant $10^{-5,65}$ DL 50/ml pour cellules en tubes roulants. Vingt jours après la deuxième injection une nouvelle prise de sang permettra de titrer les anticorps apparus (on détermine la dilution maximum inhibitrice de la cytolysé causée par 100 DL 50 de virus). Après cette prise de sang, les porcelets sont éprouvés comme dans l'expérience précédente ; l'observation dure 30 jours (voir tableau B).

TABLEAU B

LOT N° 1 { 1ère inoculation : 5 ml de vaccin adsorbé
2ème inoculation : 5 ml de vaccin adsorbé

Porcelet N°	Anticorps		Epreuve	Symptômes	Lésions histologiques
	avant	après			
1266	0	1/40	Résistant après 30 jours	-	-
1250	0	1/20	Mort 21 jours après épreuve	Paralyse totale	+
1276	0	1/20	Résistant après 30 jours	-	-
1253	0	1/10	Résistant après 30 jours	-	-
1268	0	1/20	Résistant après 30 jours	-	-
1269	0	1/80	Mort 22 jours après épreuve	Paralyse totale	+
Moyenne			Morts : 2 sur 6		
$\frac{1}{31}$			Résistants : 4 sur 6		

LOT N° 2 { 1ère inoculation : 5 ml de vaccin adsorbé
2ème inoculation : 2,5 ml d'antigène fluide

Porcelet N°	Anticorps		Epreuve	Symptômes	Lésions histologiques
	avant	après			
1258	0	1/20	Résistant après 30 jours	-	-
1270	0	1/40	Résistant après 30 jours	-	-
1260	0	1/40	Mort 10 jours après épreuve	Paralyse totale	+
1274	0	1/40	Résistant après 30 jours	-	-
1255	0	1/40	Mort 11 jours après épreuve	Paralyse totale	+
1254	0	1/40	Résistant après 30 jours	-	-
1249	0	1/10	Mort 10 jours après épreuve	Paralyse totale	+
1273	0	1/20	Résistant après 30 jours	-	-
Moyenne			Morts : 3 sur 8		
$\frac{1}{31}$			Résistants : 5 sur 8		

TABLEAU C

Intervalle 12 jours			Intervalle 20 jours			Intervalle 30 jours		
Porcelet N°	Anticorps		Porcelet N°	Anticorps		Porcelet N°	Anticorps	
	avant	après		avant	après		avant	après
906	0	1/40	1031	0	1/160	1041	0	1/20
918	0	1/20	1032	0	1/160	1020	0	1/160
907	0	1/80	1029	0	1/20	1043	0	1/80
917	0	1/80	1030	0	1/40	1040	0	1/160
924	0	1/20	1026	0	1/40	1025	0	1/160
905	0	1/40	1035	0	1/40	1022	0	1/40
914	0	1/60	1023	0	1/160	1027	0	1/10
912	0	1/80	1049	0	1/20	1033	0	1/40
916	0	1/80	1024	0	1/160	1039	0	1/10
			1042	0	1/40			
Titre neutralisant moyen 1/43			Titre neutralisant moyen 1/45			Titre neutralisant moyen 1/26		

Les résultats expérimentaux ci-dessus permettent de voir qu'il n'y a pas de différence sensible dans l'immunité obtenue, suivant qu'on utilise ou non le gel d'alumine dans la deuxième injection. On est en droit de conclure, en accord avec d'Antonna et Piazzì, que l'adsorption de l'antigène prend son intérêt au moment du stimulus primaire.

En contrepartie, l'expérience ne fait pas ressortir de plus mauvais résultats avec le gel d'alumine dans la deuxième injection qu'en son absence (abstraction faite de « l'immunité potentielle », pour laquelle des essais complémentaires seraient nécessaires).

Il serait bien incommode d'avoir deux vaccins différents, l'un adsorbé, l'autre non, à utiliser dans les campagnes de vaccination ; nous sommes donc conduits à conserver le gel d'alumine pour des raisons de conditionnement et d'utilisation.

III. — INTERVALLE ENTRE LES DEUX STIMULATIONS ANTIGENIQUES

La pratique courante de la vaccination anti-Teschen comporte deux injections. Il est certain

que l'intervalle de temps qui les sépare n'est pas indifférent pour l'obtention d'un bon résultat immunologique. L'utilisation de notre virus vaccinal virulent, permet de supposer qu'après l'inoculation se développe une maladie inapparente. Il faudrait peut-être lui laisser le temps d'évoluer suffisamment, avant d'entreprendre la deuxième injection. Ce temps n'étant pas connu, nous avons essayé de le préciser en déterminant les anticorps apparus après des vaccinations dont les intervalles ont été variés (12, 20, 30 jours).

Vaccinations et titrages ont été effectués selon les techniques mentionnées plus haut. Les prises de sang furent pratiquées avant la première vaccination et 20 jours après la deuxième (voir tableau C).

Les résultats obtenus avec un intervalle de 30 jours sont nettement les moins bons. Avec 20 jours les résultats sont les meilleurs, mais de peu par rapport à 12 jours. Nous conseillons donc d'espacer les vaccinations par un délai de 15 à 20 jours, en évitant de dépasser trois semaines.

Laboratoire central de l'Élevage,
Tananarive.

BIBLIOGRAPHIE

1. BOURDIN, ATANASIU, LEPINE, JACOTOT, VALLEE. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **93**, 581.
2. BOURDIN, BUCK, JACOTOT. — *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1958, **11** (1), 17-22.
3. SERRES, BOURDIN. — *Ann. Inst. Pasteur* (sous presse).
4. ANTONA (d'), PIAZZI. — *Rev. Immunol.*, 1956, **20**, 317.

SUMMARY

Immunisation of piglets against Teschen disease.

The author studied the factors influencing immunisation of piglets against Teschen Disease : He used a vaccine made with a Teschen virus grown on piglet kidney epithelial cell tissue culture (two 5 ml. subcutaneous inoculations at 15 days interval). He noted :

- 1) The titre of the Teschen culture virus must be 10^{-5} LD 50/ml to obtain a good immunity.
- 2) Aluminium gel does not improve the immunity when it is used with the second injection ; but does not reduce it.
- 3) The recommended interval between the injections of vaccine is 15 to 20 days.

RESUMEN

Investigaciones sobre la inmunización de los cerdos jóvenes contra la enfermedad de Teschen.

El autor estudia los factores susceptibles de establecer la inmunización de los cerdos jóvenes contra la enfermedad de Teschen, utiliza una vacuna preparada a partir de un virus de Teschen cultivado en células epiteliales de riñón de cerdo joven (2 inyecciones sub-cutáneas de 5 ml con 15 días de intervalo).

El autor saca las siguientes conclusiones :

- 1° El virus de Teschen cultivado debe titular 10^{-5} DL 50 por ml para que la inmunidad obtenida sea excelente.
- 2° En gel de hidróxido de aluminio no lleva consigo una inmunidad superior cuando es utilizado en la segunda vacunación, pero su presencia no es desfavorable.
- 3° El intervalo que se recomienda entre las dos inyecciones de vacuna es de 15 a 20 días.