

## LES TRAVAUX AMÉRICAINS RÉCENTS SUR LA PESTE BOVINE (1)

par M. G. CURASSON

Dès le début de la récente guerre, le Ministère français des Colonies avait pressenti l'importance que, dans le conflit, pourrait revêtir la peste bovine, soit qu'un belligérant l'utilisât comme arme dans la guerre bactériologique, soit qu'elle diffusât accidentellement hors des territoires où elle est cantonnée depuis une vingtaine d'années. Sur les expériences tentées à ce moment en France, le secret a été gardé, et leur intérêt fut d'ailleurs minime.

Par contre, en 1941, les États-Unis et le Canada firent entreprendre, dans une île du Saint-Laurent, un ensemble de recherches qui avaient pour but essentiel de déterminer quelles armes prophylactiques pourraient être opposées à une intrusion de la peste bovine sur leurs territoires, que cette introduction fût involontaire ou qu'au contraire elle fût le fait de l'ennemi. La Commission scientifique mixte (États-Unis et Canada) et le Service de la guerre chimique des États-Unis avaient fixé au groupe de savants qui opérèrent dans les laboratoires du Saint-Laurent, dans le plus grand secret, les objectifs suivants : 1° préparation de vaccin antipestique d'après les procédés connus, pour entourer les foyers éventuels d'une zone d'animaux immunisés ; 2° étudier la possibilité d'obtenir un autre vaccin, plus économique, n'exigeant pas le sacrifice d'un grand nombre de bovins.

Ce n'est qu'en avril 1946 que les remarquables résultats obtenus par les chercheurs américains et canadiens ont été publiés (2). Ils ne portent pas seulement sur les méthodes de vaccination, mais aussi sur les recherches qui, inévitablement, devaient précéder et accompagner la mise au point de nouveaux procédés d'immunisation.

Le groupe de chercheurs était constitué de la façon suivante : six officiers du Service vétérinaire de l'armée des États-Unis (J.-A. BAKER, H. R. COOPER, M.-W. HALE, D.-L. JENKINS, F.-D. MAURER, T.-O. ROBEY), un officier du Service de Santé de la Marine des États-Unis (R.-W. SHOPE), deux savants canadiens (H.-J. GRIFFITHS et R.-V.-L. WALKER); des aides techniques des deux pays (dont A.-S. GREIG et J. FERRENCE, canadiens).

(1) L'essentiel de cette revue est tiré de l'analyse des travaux américains faite par notre collègue M. Balozet, Directeur p. i. de l'Institut Pasteur de Tunis.

(2) American Journal of Veterinary Research, n° 23 (2<sup>e</sup> partie), Avril 1946.

Nous résumerons les divers chapitres de la revue américaine en les classant d'après les questions qui constituent l'essentiel de chacun d'eux.

*La peste bovine chez les animaux de laboratoire.* — Le lapin qui reçoit dans la veine une émulsion de rate virulente (de bœuf) présente de la fièvre au bout de 36 à 48 heures; la fièvre persiste deux jours; elle est accompagnée d'abattement, d'inappétence; il peut y avoir de la diarrhée.

Si on alterne les passages du bœuf au lapin, au bout de trois passages la maladie est transmissible au lapin; elle ne l'est pas si on tente le passage direct de lapin à lapin (les passages se font par injection intraveineuse de pulpe de rate). L'épreuve de neutralisation par le sérum de bovidé immun montre l'identité du virus (BAKER).

Quand on inocule le cobaye (dans la veine) avec le virus provenant du bœuf ou du lapin, l'infection est inapparente: aucun signe de maladie, mais la rate est virulente 3-4 jours après l'inoculation. On peut faire un deuxième passage, pas un troisième. Le virus de culture sur œuf n'infecte pas le cobaye (BAKER, FERRENCE et GREIG).

*Conservation du virus.* — La conservation du virus dépend beaucoup du pH. La solution-tampon de phosphates M/10, à pH = 7 est supérieure à la solution physiologique; le virus s'y conserve plus longtemps qu'à pH = 6 et qu'à pH = 8. Les solutions M/1, M/100 et M/1000 sont moins favorables que la solution M/10. L'eau distillée neutre, les liquides embryonnaires normaux de l'œuf de 11 jours, à pH = 8, sont également moins favorables (MAURER).

*Réaction d'immunité. Séro-diagnostic.* — On peut utiliser, pour mesurer l'immunité des bovins vaccinés, le test de neutralisation chez le lapin.

On emploie deux suspensions de rate virulente; la première renfermant pour 1 cc. 10 à 100 doses minima infectantes pour le lapin, la deuxième 100 à 1.000 doses. On mêle 1 cc. 5 de ces émulsions à quantité égale du sérum à éprouver, et on laisse en contact 2 heures au frigorifique. On inocule alors à des lapins 2 cc. de chaque mélange. Les lapins qui présentent une température supérieure à 40°3 sont considérés comme réagissant au virus, le sérum correspondant n'étant pas neutralisant; au-dessous de 40°, les lapins n'ont pas réagi au virus, le sérum étant neutralisant; entre 40° et 40°3, la réaction est douteuse.

Le sérum des bovidés normaux n'est jamais neutralisant. Celui des animaux guéris ou vaccinés s'est montré neutralisant 27 fois sur 32. Sur les 5 sérums non neutralisants, 4 provenaient d'animaux ayant reçu des vaccins faibles; 1 seul provenait d'un animal nettement immunisé (JENKINS et WALKER).

La fixation du complément peut être réalisée, en utilisant comme antigène le liquide embryonnaire d'œufs inoculés. Cet antigène se con-

serve bien s'il est congelé; si on le chauffe à 60°, le virus est détruit, mais les propriétés antigènes subsistent.

Chez les vaccinés, les anticorps apparaissent le 14<sup>e</sup> jour et persistent 5 à 6 mois (COOPER).

En présence de rate virulente, le complément est fixé par le sérum des animaux guéris, mais la réaction est inutilisable en raison du faible taux des anticorps.

Le sérum des animaux guéris neutralise le virus *in vitro*. On peut utiliser cette propriété pour le diagnostic : on prépare avec la rate de l'animal suspect une macération au dixième dans l'eau physiologique; après sédimentation, on dilue le liquide surnageant à 1/10 et 1/100 (ce qui correspondrait environ à 100 et 1.000 doses infectantes). On additionne ces dilutions d'une quantité égale de sérum immun, et on inocule ces mélanges à des veaux, qui restent insensibles s'il s'agit de peste bovine, alors que les témoins sont infectés (BAKER et JENKINS).

*Cytologie du sang dans la peste bovine.* — Chez les veaux infectés, il y a d'abord une leucopénie marquée, qui s'amorce avec l'hyperthermie, le 3<sup>e</sup> ou 4<sup>e</sup> jour. Elle dure plusieurs semaines quand l'animal survit; il y a en même temps augmentation des neutrophiles, parmi lesquels prédominent les formes jeunes.

Chez les animaux vaccinés, la leucopénie est légère et passagère, du 5<sup>e</sup> au 9<sup>e</sup> jour (ROBEY et HALE).

*Culture du virus dans l'œuf de poule en incubation.* — On peut cultiver le virus bovine pestique sur membrane chorio-allantoïde au cours de 11 passages. Après trois jours de culture (œuf de 10 jours), l'embryon n'est pas infecté, alors que la membrane chorio-allantoïde l'est. Après cinq jours de culture (œuf de 8 jours), l'embryon est virulent. La température la plus favorable est entre 37° et 39° (SHOPE, GRIFFITHS et JENKINS).

Quand le virus provenant d'un bovidé est inoculé dans la cavité vitelline (œuf de 7 jours), l'embryon s'infecte, mais on ne peut réaliser des passages par la cavité vitelline; par contre, les passages par cette cavité deviennent possibles si, préalablement, on a adapté le virus à l'œuf par 8 à 12 passages par la membrane chorio-allantoïde; l'adaptation à l'embryon se fait alors au cours des passages suivants par le vitellus. L'embryon n'est pas toujours tué.

La dose minima infectante pour l'embryon est sensiblement la même que pour le bœuf et, au point de vue immunologique, le virus est analogue au virus de bovidé (SHOPE, MAURER, JENKINS, GRIFFITHS et BAKER).

*Vaccination avec les organes de bovidés ou les œufs embryonnés inactivés.* — La valeur des vaccins provenant de pulpe de tissus traités par le formol ou le chloroforme est fonction de la richesse des organes en

virus. Le vaccin chloroformé paraît légèrement supérieur au vaccin formolé; le premier est encore actif au bout de 15 semaines au moins à + 2°, alors qu'il a perdu son activité au bout de 8 jours à 37°. Dans la pratique, la dose vaccinante est de 20 cc. (WALKER, GRIFFITH, SHOPE, MAURER et JENKINS).

Si on fait agir le chloroforme ou le formol sur les diverses parties de l'œuf embryonnaire infecté, le vaccin obtenu ne donne pas une immunité suffisante. D'autre part, si on mélange, à un vaccin de tissus de bovidé, soit de la suspension d'embryon virulent, soit de la suspension d'embryon normal, le pouvoir immunisant du vaccin de tissus est nettement diminué. Le vaccin est actif si on le prépare avec les tissus d'un bovidé qui a été infecté par le virus de culture à son 37° passage.

On pense que si le vaccin provenant de l'embryon manque d'activité, cela est dû à l'action antagoniste des protéines de l'œuf ou de l'embryon, et non au virus (MAURER, WALKER, SHOPE, GRIFFITHS et JENKINS).

*Vaccination avec le virus atténué par passages sur œufs embryonnés.* — Le virus cultivé d'abord sur membrane chorio-allantoïde, puis dans le vitellus d'œufs de 10 jours, puis de 7 jours, est progressivement atténué pour les bovidés; on arrive à ne plus conférer qu'une maladie traduite par une courte hyperthermie. L'immunité est cependant solide, et les animaux qui ont reçu le virus atténué ne sont pas contagieux. Reste à savoir si le virus cultivé sur œuf a une virulence fixée ou si, l'atténuation se poursuivant, le pouvoir immunisant ne diminuera pas (JENKINS et SHOPE).

C'est au cours des passages sur l'embryon que l'atténuation se produit, et le nombre de passages nécessaires varie avec les souches: une souche facilement adaptable s'atténue au bout de 8 passages, alors que la souche caprine demande 37 passages, et que la souche nord-africaine n'a pu être adaptée à la membrane chorio-allantoïde. L'atténuation est progressive, et au bout d'un certain temps, les réactions de plus en plus faibles ne donnent plus l'immunité. On ne peut alors pas récupérer la virulence par passages sur veau ou passage de veau à œuf.

Pour la préparation du vaccin, on inocule des œufs de 7 jours dans le vitellus (0 cc. 5 de liquide allantoïdo-amniotique). Après 3 jours de culture, on place les œufs au réfrigérateur à — 20° (40 minutes), puis à + 2° jusqu'au prélèvement du liquide embryonnaire, avec lequel on inocule les œufs qui vont fournir le vaccin. Ces derniers sont inoculés dans le vitellus avec 1/2 cc. de liquide embryonnaire dilué à 1/10. Après 4 jours de culture, les œufs sont placés comme les précédents à — 20°, puis à + 2°. On recueille séparément les liquides et les embryons, puis on les broie ensemble. Le mélange est placé dans des flacons de 60 cc., renfermant chacun 20 cc. de mélange, dans un bain de neige carbonique et d'alcool; les flacons sont animés d'un mouvement de rotation pour qu'il y ait congélation du mélange sur les bords du flacon.

Le virus congelé est ensuite desséché à très basse température, et les flacons bouchés au caoutchouc, dans une atmosphère d'azote ou dans le vide. Quand on veut utiliser le produit, on introduit dans le flacon, à l'aide d'une aiguille traversant le bouchon, de l'eau distillée, de la solution physiologique ou de la solution phosphatée de façon à obtenir 60 cc. Pour chaque bovidé, de tout âge, la quantité à inoculer est de 0 cc. 5 (HALE et WALKER).

La dose de 0 cc. 5 protège les bovidés contre l'inoculation de 100 doses minima infectantes; cette dose de vaccin peut être ramenée à 0 cc. 01, peut-être moins. A la suite de l'inoculation, 80 % des animaux présentent de la température du 3<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour (90 % d'entre eux du 4<sup>e</sup> au 7<sup>e</sup>). L'hyperthermie dure, en général, 5 jours au moins. L'immunité est en relation avec la fièvre; cependant, la plupart des animaux qui ne réagissent pas sont, malgré cela, immunisés: en Afrique orientale, au cours d'expériences faites « sur le terrain », 30 % des animaux vaccinés seulement présentèrent de l'hyperthermie, et cependant les non-réagissants résistèrent à l'inoculation d'épreuve. L'intensité de la réaction varie avec l'âge et avec la race.

La durée de l'immunité est longue; elle est peut-être vitale. Les veaux nés de mères vaccinées au cours de la gestation ne sont pas immunisés. Il n'y a pas de danger à vacciner les femelles pleines.

Le virus-vaccin conservé dans le vide après dessiccation, à + 12° ou + 5°, est encore actif au moins après 15 mois. Selon les lots, cette durée de conservation, à la température ordinaire (+ 22°), varie entre 20 et 45 jours. Quand le vaccin sec est repris par une des solutions indiquées, il ne demeure actif que 48 heures à + 2°. Il faut l'utiliser dans les 12 heures.

Pour éprouver le vaccin, on ne peut que l'inoculer à des veaux sensibles qui reçoivent une inoculation virulente 14 jours plus tard (HALE, WALKER, MAURER, BAKER et JENKINS).

*Le virus bovi-pestique chez le poulet.* — Chez les poulets nés d'œufs inoculés, on retrouve le virus dans les organes jusqu'au cinquième jour. Si on inocule des poulets nouvellement éclos par diverses voies (vitellus résiduel, péritoine, voie sous-cutanée, intranasale, digestive, cutanée), on échoue; si on inocule dans le cerveau, le virus y est retrouvable pendant huit jours, mais n'est pas transmissible à d'autres poulets.

On peut mesurer la concentration du virus dans les œufs en inoculant des poulets d'un jour, dans la veine métatarsienne médiane, avec 0 cc. 5 d'une dilution à 1/500 du virus-vaccin. On prélève du sang 21 ou 28 jours après (ponction cardiaque) et on recherche le pouvoir neutralisant du sérum sur le lapin. Les résultats concordent avec ceux qu'on obtient avec du sérum de bovidés ayant reçu le même virus-vaccin.