

ARTICLES ORIGINAUX

Eléments d'amélioration du vaccin antiteschen

par G. BUCK, H. SERRES et P. BOURDIN

La maladie de Teschen, continuant de sévir à Madagascar, n'a pas cessé de poser au Service de l'Élevage local le problème de la protection du cheptel porcin contre cette redoutable maladie.

Les méthodes de police sanitaire sont difficiles à mettre en œuvre d'une manière stricte dans ce pays, car l'infrastructure étant encore bien insuffisante, il est de nombreux points du territoire, où les éleveurs et leurs animaux sont difficilement accessibles en tout temps. L'élevage de brousse joue souvent le rôle du « réservoir sauvage » bien connu dans d'autres endémies à virus.

Ce sont les mesures de prophylaxie médicale qui permettent de lutter le plus efficacement contre la maladie; la vaccination a été entreprise, et des moyens importants ont été mis en œuvre pour qu'elle atteigne le plus grand nombre possible d'animaux. Au delà de l'effet de protection de l'individu par l'injection vaccinale, on a recherché l'effet de masse: lorsque le pourcentage des animaux immunisés est assez élevé, l'épizootie a beaucoup moins de facilité pour se répandre, et l'on peut affirmer que de nombreux animaux, non vaccinés, bénéficient indirectement de la vaccination de leurs congénères.

Le premier vaccin qui fut utilisé était issu des résultats qu'avait obtenus Traub. Il se révéla d'une efficacité certaine, mais sûrement perfectible.

C'est à ce perfectionnement que nous nous attachons, et les résultats expérimentaux que nous allons décrire dans la suite nous ont permis d'amener une amélioration sensible.

Comme pour toute vaccination, la question de la quantité d'antigène inoculé est primordiale. L'antigène étant représenté ici par le virus de Teschen, le problème présentait deux subdivisions:

- 1° produire le maximum de virus;
- 2° conditionner ce virus dans un excipient qui

l'altère le moins possible, pour obtenir une perte minimum entre la récolte et le moment de la vaccination.

AMÉLIORATION DE LA PRODUCTION DE VIRUS

A quel moment faut-il sacrifier les porcs inoculés?

La source de virus de Teschen demeure pour le moment le cerveau de porcelet inoculé par voie intra-cérébrale.

A la suite de l'inoculation, les animaux incubent de 7 à 30 jours (la plupart présentant les premiers symptômes entre le 10^e et le 20^e jour qui suivent l'inoculation).

Pour la bonne compréhension de la suite, il est nécessaire de rappeler l'évolution des symptômes de la maladie expérimentale (qui ne présente d'ailleurs pas de différences sensibles avec la maladie naturelle).

Après une incubation d'une durée, nous l'avons vu, variable, le porc présente brusquement de l'hyperthermie, presque toujours au-dessus de 40°C. C'est volontairement que nous ne disons pas de la « fièvre », car extérieurement l'animal ne trahit pas l'élévation de sa température interne. Il continue de manger et de vivre normalement.

Mais ce stade ne dure guère. La démarche ne tarde pas à devenir vacillante, l'animal devient inquiet. La paralysie s'installe rapidement, le porcelet tombe, jusqu'au moment où, ne pouvant plus se relever, il gît sur le flanc, présentant des mouvements de pédalage et des signes d'encéphalite. On assiste alors à une baisse de la température, et la mort survient très souvent en hypothermie.

Cette évolution dure en moyenne entre 48 heures

et 5 jours, avec des variations en plus et en moins assez rares.

Au début, pour la fabrication du vaccin, nous sacrifions les animaux au tout début de leur maladie, espérant trouver à ce stade plus de virus, comme c'est le cas par exemple pour la peste bovine, chez le lapin inoculé.

Mais dès que nous l'avons pu, nous avons contrôlé expérimentalement, d'une manière assez large, ce point de vue. La suite nous montrera qu'il devait être infirmé.

Vingt-cinq porcelets Large White ont été inoculés à l'aide de notre souche très virulente « S.I.C.E. ».

Les porcs malades ont été sacrifiés, et leurs centres nerveux récoltés :

1° Pour cinq porcelets : dès l'apparition de l'hyperthermie, avant tout autre symptôme ;

2° Pour cinq porcelets : à l'apparition des premiers troubles paralytiques ;

3° Pour cinq porcelets : lorsque la paralysie est très avancée, mais la température étant encore élevée ;

4° Pour cinq porcelôts l'animal étant totalement paralysé, sa température s'étant abaissée ;

5° Enfin, pour cinq porcelets il n'y a pas eu de sacrifice, les centres nerveux étant récoltés immédiatement après la mort naturelle.

Les cerveaux ont été broyés ensemble, par lots, au Turmix.

Les cinq broyats obtenus ont été inoculés à des lots équivalents de porcelets Large White.

Pour apprécier la teneur en virus de ces échantillons, nous avons utilisé la technique du calcul de la dose létale 50 %, que Reed et Muench ont proposée en 1938, et qui, à l'heure actuelle, est devenue classique en virologie.

Cette méthode permet d'apprécier la quantité de substance virulente qui tue, en moyenne, 50 % des animaux inoculés ; elle a l'avantage de donner des résultats plus constants que la Dose Minima Mortelle.

Le décompte des porcelets morts, ou survivants 35 jours après les inoculations, a permis d'obtenir les résultats figurant dans le tableau I.

TABLEAU I - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Phase	Poids de substance nerveuse inoculée ; en g.	Résultats expérimentaux		Totaux cumulatifs			DL 50 % en g.
		morts	survivants après 35 j.	morts	vivants	% de morts	
I	1/40 = 10 ^{-1,6}	3	0	3	0	100	10 ^{-2,1} = 1/126
	1/400 = 10 ^{-2,6}	0	3	0	3	0	
	1/4000 = 10 ^{-3,6}	0	3	0	6	0	
II	1/40 = 10 ^{-1,6}	3	0	10	0	100	10 ^{-4,35} = 1/22400
	1/400 = 10 ^{-2,6}	3	0	7	0	100	
	1/4000 = 10 ^{-3,6}	3	0	4	0	100	
	1/40000 = 10 ^{-4,6}	1	2	1	2	33	
	1/400000 = 10 ^{-5,6}	0	3	0	5	0	
III	1/40 = 10 ^{-1,6}	3	0	16	0	100	10 ^{-6,6} = 1/4000000
	1/400 = 10 ^{-2,6}	3	0	13	0	100	
	1/4000 = 10 ^{-3,6}	3	0	10	0	100	
	1/40000 = 10 ^{-4,6}	3	0	7	0	100	
	1/400000 = 10 ^{-5,6}	2	1	4	1	80	
	1/4000000 = 10 ^{-6,6}	2	1	2	2	50	
	1/40000000 = 10 ^{-7,6}	0	3	0	5	0	
IV	1/40 = 10 ^{-1,6}	3	0	13	0	100	10 ^{-5,35} = 1/224000
	1/400 = 10 ^{-2,6}	3	0	10	0	100	
	1/4000 = 10 ^{-3,6}	3	0	7	0	100	
	1/40000 = 10 ^{-4,6}	3	0	4	0	100	
	1/400000 = 10 ^{-5,6}	1	2	1	2	33	
	1/4000000 = 10 ^{-6,6}	0	3	0	5	0	
V	1/40 = 10 ^{-1,6}	3	0	13	0	100	10 ^{-5,6} = 1/400000
	1/400 = 10 ^{-2,6}	3	0	10	0	100	
	1/4000 = 10 ^{-3,6}	2	1	7	1	87	
	1/40000 = 10 ^{-4,6}	3	0	5	1	83	
	1/400000 = 10 ^{-5,6}	2	1	2	2	50	
	1/4000000 = 10 ^{-6,6}	0	3	0	5	0	

La conclusion à tirer de ces résultats, c'est que la quantité de virus dans le cerveau n'est pas maximum au début, mais au contraire lorsque les paralysies sont nettement installées.

Il faut remarquer ensuite que la virulence diminue fort peu au cours de la phase terminale et de la mort. Ceci ne correspond pas à certaines viroses neurotropes, ou dermoneurotropes, pour lesquelles l'élément infectant diminue tellement à la phase finale, qu'il peut disparaître totalement. (Ce fait bien étudié par Levaditi et ses collaborateurs a été désigné « neuro-infections autostérilisables. »)

L'enseignement pratique que nous avons tiré de tout cela, c'est que nous attendons le stade de la paralysie complète pour sacrifier les porcelets.

On risque de perdre beaucoup en sacrifiant trop tôt, on risque beaucoup moins en sacrifiant tardivement.

Ce principe s'est montré vérifié par des contrôles d'efficacité de vaccin.

Des lots de vaccin ont été préparés avec des cerveaux récoltés aux phases I, III, IV de l'expérimentation ci-dessus.

Trois semaines après la vaccination, les porcelets ont été éprouvés, et les résultats ont été les suivants :

TABLEAU II - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Phases	Vaccinés	Résistants	Morts	% morts
I	7	5	2	28
III	7	7	0	0
IV	6	6	0	0

Il ne paraît pas nécessaire de les commenter.

Avant de clore ce chapitre, nous remarquerons que les auteurs étrangers qui ont titré le virus dans les cerveaux de porcelets ne sont pas parvenus à des résultats aussi satisfaisants que nous : les Italiens Nani Scatossa et Tiecco obtiennent $DL_{50} = 10^{-3,2}$, cependant que tout dernièrement, les Polonais Larski et Szaflarski atteignaient $DL_{50} = 10^{-5}$.

ÉTUDE DU COMPORTEMENT DE QUELQUES EXCIPIENTS VIS-A-VIS DU VIRUS DE TESCHEN

Les cerveaux de porcelets, une fois récoltés, doivent être broyés au mixer dans un excipient liquide. Le vaccin actuel étant un vaccin vivant, il convient d'obtenir une neutralité la plus parfaite de ce dernier vis-à-vis du virus.

Les vaccins qui constituent pour la plupart une solution de matière organique sont sujets, lorsqu'ils ne sont pas conservés rigoureusement au froid, à des altérations qui en modifient le pH. Or, le virus de Teschen n'est pas très tolérant aux variations de cet élément physico-chimique.

C'est pour cela qu'au début des fabrications, nous diluons la matière virulente dans une solution tamponnée de phosphate à pH 7,3 (*).

Nous avons comparé la capacité de conservation de cette solution avec :

1° de l'eau distillée ;

2° de l'eau distillée additionnée de 2 % de sérum normal de cheval.

Un cerveau de porcelet inoculé de virus de Teschen a été divisé en fragments, et ces fragments répartis en 3 lots équivalents, de manière à ce que les diverses parties du cerveau soient représentées également dans les trois lots.

Le lot n° 1 a été broyé et suspendu dans 9 volumes de solution tamponnée.

Le lot n° 2 a été broyé et suspendu dans 9 volumes d'eau distillée.

Le lot n° 3 a été broyé et suspendu dans 9 volumes d'eau distillée à 2 p. 100 de sérum normal de cheval.

Les 3 échantillons ont été abandonnés à la glacière à + 4°C pendant 8 jours.

A l'issue de ce temps, chaque échantillon a servi à l'inoculation intracérébrale de porcelets, afin de déterminer, pour chacun, la dose létale 50 %. Les résultats expérimentaux sont rassemblés dans le tableau III.

(*) Solution tamponnée à pH :

Mélange solution A 765 cc
solution B 235 cc

SOLUTION A

Solution de phosphate disotique

Phosphate disodique ($PO_4H Na_2$) 20,01 g
Sérum physiologique à 8 % 1 litre

SOLUTION B

Solution de phosphate monopotassique

Phosphate monopotassique (desséché pendant 1/2 journée à 100°) PO_4H_2K 9,078 g
Sérum physiologique à 8 % 1 litre

TABLEAU III - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Phase	Poids de matière cérébrale inoculée en g.	Résultats expérimentaux		Totaux cumulatifs			DL 50 % en g
		morts	survivants après 35 j.	morts	vivants	% de morts	
I	1 40 = 10 ^{-1,6}	3	0	7	0	100	10 ^{-3,27} = 1/1900
	1 400 = 10 ^{-2,6}	3	0	4	0	100	
	1 4000 = 10 ^{-3,6}	0	3	1	3	25	
	1 40000 = 10 ^{-4,6}	1	2	1	5	17	
	1 400000 = 10 ^{-5,6}	0	3	0	8	0	
II	1 40 = 10 ^{-1,6}	3	0	10	0	100	10 ^{-4,37} = 1/23500
	1 400 = 10 ^{-2,6}	2	1	7	1	87	
	1 4000 = 10 ^{-3,6}	3	0	5	1	83	
	1 40000 = 10 ^{-4,6}	1	2	2	3	40	
	1 400000 = 10 ^{-5,6}	1	2	1	5	17	
1 4000000 = 10 ^{-6,6}	0	3	0	8	0		
III	1 40 = 10 ^{-1,6}	3	0	7	0	100	10 ^{-3,3} = 1/2000
	1 400 = 10 ^{-2,6}	1	2	4	2	66	
	1 4000 = 10 ^{-3,6}	1	2	3	4	43	
	1 40000 = 10 ^{-4,6}	1	2	2	6	25	
	1 400000 = 10 ^{-5,6}	1	2	1	8	11	
1 4000000 = 10 ^{-6,6}	0	3	0	11	0		

L'eau distillée se montre d'assez loin l'excipient qui respecte le mieux le virus de Teschen, sous réserve de sa conservation au frais. Comme le laboratoire est actuellement équipé de coffres glaciers efficaces pour les envois, que les diverses circonscriptions d'Élevage disposent de frigidaires à pétrole pour le stockage et de coffres glaciers pour se rendre à pied d'œuvre, c'est en eau distillée que nous conditionnons le vaccin antiteschen.

Les résultats expérimentaux que nous venons de relater ont apporté un mieux sensible à la vaccination antiteschen.

Il peut paraître que ce fût là chose facile, mais en réalité le problème n'est pas très simple: le seul réactif valable, du point de vue expérimental de la maladie de Teschen demeure le porcelet, et le porcelet de race pure, qui permet d'obtenir des résultats constants et reproductibles. Les animaux susceptibles d'être achetés sur les marchés locaux ne sont pas utilisables, car ils réagissent de manière très différente à une même inoculation, suivant leur degré de métissage, la manière plus ou moins mauvaise dont ils ont été élevés, l'intensité du polyparasitisme dont il est souvent difficile de les débarrasser totalement. L'expérimentation quantitative n'aurait pas de valeur effective avec ces animaux. Nous l'avons vérifié plusieurs fois, en recommandant des expériences, et en obtenant des résultats différents suivant les lots de porcelets.

Or, le porcelet Large White est encore une denrée assez rare à Madagascar.

S'il est exact que les Stations du Service de l'Élevage en produisent des quantités aujourd'hui bien accrues, ces porcelets sont destinés à être répandus dans la nature pour l'amélioration de la race locale, et nous ne pouvons disposer que d'un nombre limité.

Les deux expérimentations qui viennent d'être décrites ont mis en œuvre l'inoculation de près de deux cents porcelets. Ce grand nombre est un gage de la valeur des résultats, mais il explique qu'on ne puisse aller aussi vite et aussi facilement que si la souris, par exemple, se montrait sensible à la maladie de Teschen.

Laboratoire Central de l'Élevage,
Service de Virologie - Tananarive,
Madagascar.

BIBLIOGRAPHIE

- LARSKI (Z.) et SZAFIARSKI (J.). — *J. Méd. Vét. Varsovie*, 1956, **12**, 709.
- LEVADITI, SANCHIS-BAYARRI et SCHOEN. — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, **98**, 911.
- NANI SCATOZZA et TIECCO. — *Bolletino Inst. Ser. Milanese*, 1956, **5-6**, 314.
- REED et MUENCH. — *Amer. J. Hyg.*, 1938, **27**, 493.
- TRAUB. — *Arch. Tierhk.*, 1941, **71**, 52.

SUMMARY

Method for the Umprovement of Vaccine Production Against Infectious Encephalomyelitis of Pigs (Teschen Disease).

An attempt was made to determine which stage of the disease is the best to harvest brains of inoculated piglets with Teschen Virus in order to obtain highest virus concentration. A large group of Large White pigs used for experimental purposes in Madagascar have shown that the highest virus concentration can be obtained at the late paralytic stage of the disease.

Various excipients for the Teschen Virus have been tried. It was shown that distilled water was less toxic to the virus than either a phosphate buffered solution or a 2% dilution of normal horse serum.

The results obtained have been applied in order to increase quantity and quality of vaccine.