### Valeur de l'immunité conférée par un vaccin mixte antibovipestique-antipéripneumonique lyophilisé préparé à l'aide de la souche T 1 (S-R)

par M. P. DOUTRE (\*), J. CHAMBRON (\*) et P. BOURDIN (\*\*)

#### RESUME

Au cours des années 1970 et 1971, une expérimentation tendant à apprécier la valeur de l'immunité conférée par un vaccin lyophilisé mixte antibovipestique-antipéripneumonique préparé à partir de la souche T1-SR est menée au Laboratoire national de l'Elevage de Dakar.

En matière de péripneumonie, la méthode dite « de contact », mise au point par les chercheurs australiens, est retenue. L'épreuve infectante a lieu 9 mois après les vaccinations; elle consiste à éprouver un lot de bovins vaccinés avec le vaccin mixte et conjointement un lot témoin identique immunisé avec la seule souche T1-SR. Aucune différence dans la qualité des réponses immunitaires antipéripneumoniques n'a été observée et aucun des animaux vaccinés n'a succombé à la péripneumonie.

En matière de peste bovine, le taux des anticorps neutralisants a été suivi dans le temps et une épreuve d'infection par une souche de virus pestique pleinement virulente a été effectuée en fin d'expérience; aucune mortalité n'a été enregistrée. Dans ces conditions, il est possible d'avancer que le vaccin mixte préparé à partir de la souche T1-SR garantit un état de protection antipéripneumonique convenable d'au moins onze mois (durée totale de l'expérience) et une immunité antipestique égale à celle attendue du vaccin de culture cellulaire.

En ce qui concerne la réaction locale au point d'injection et la réaction sérologique postvaccinale, la souche T1-SR semble posséder des qualités intéressantes qu'il importe de vérifier sur le terrain.

En 1970, PROVOST et collab. (4) publient dans la Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux les résultats de travaux commencés en 1966, relatifs à la mise au point d'un vaccin mixte antibovipestique-antipéripneumonique utilisant un mutant streptomycino-résistant de la souche KH3J (KH3J-SR). A la même date, deux d'entre nous (2) rapportent les conclusions d'une série d'expériences effectuées dans le but d'apprécier la valeur de l'immunité conférée par un vaccin anti-péripneumonique préparé à l'aide de la

souche T1-44e passage. A la suite de l'utilisation de ce vaccin, l'installation d'un état de protection d'au moins un an semble garantie. A la même époque, un ensemble d'observations amène les chercheurs à reconnaître que les qualités immunogènes de la souche T1 sont supérieures à celles de la souche KH3J, tout au moins aux titres 108 habituellement rencontrés dans les vaccins lyophilisés (ceci sera confirmé ultérieurement lors de la 4e Réunion des Experts de la péripneumonie bovine FAO/ OIE/OUA tenue à Paris en mars 1971), Il apparaît alors plus logique de préparer ce vaccin mixte, dont les avantages d'utilisation sur le terrain sont incontestables, à partir d'un variant streptomycino-résistant de cette souche M. mycoides T1-44e passage obtenu par PER-

<sup>(\*)</sup> Laboratoire national de l'élevage et de recherches vétérinaires de Dakar-Hann, B.P. 2057, Sénégal : Service de bactériologie.

<sup>(\*\*)</sup> Même laboratoire: Service de virologie.

REAU en 1968, à l'I.E.M.V.T. à Alfort, et appelé T1-SR. Il restait à déterminer la valeur de la double immunité antipéripneumonique et antibovipestique conférée par un tel vaccin mixte préparé avec cette souche T1-SR.

La présente publication a pour objet de décrire l'expérimentation effectuée à Dakar dans ce but au cours des années 1970 et 1971, en utilisant l'épreuve par contact (technique australienne) rendue plus aisée par l'expérience acquise au cours des trois dernières années.

Le protocole adopté est le suivant :

— Pour la péripneumonie deux lots d'animaux sont constitués. Les animaux du premier lot (15 bovins) sont vaccinés à l'aide d'un vaccin lyophilisé préparé avec la seule souche T1-SR; ceux du second lot (15 bovins) le sont à l'aide du vaccin mixte lyophilisé (T1-SR, souche bovipestique de culture cellulaire RP OK BK65). Ce protocole est dicté par le souci de déceler l'existence d'une différence possible de l'intensité de la réponse immunitaire due aux Mycoplasma du fait de la présence du virus vaccinal pestique dans le vaccin mixte.

Les vaccinations ont lieu le 22 avril 1970. Approximativement 9 mois après (16 janvier 1971), les animaux des deux lots, ainsi que ceux d'un lot témoin non vaccinés, sont éprouvés par mise en contact étroit avec des bovins infectés expérimentalement. Les animaux vaccinés sont abattus 81 jours (lot T1-SR) et 118 jours (lot vaccin mixte) après le début de l'épreuve.

— En matière de peste bovine, le titre des anticorps neutralisants des animaux immunisés avec le vaccin mixte est contrôlé tout d'abord à l'achat, puis un mois après la vaccination et encore au début et à la fin de l'épreuve de contact. Avant l'abattage, ces bovins sont éprouvés en même temps que deux bovins non immuns par inoculation d'une souche virulente sauvage de virus pestique conservée au service de virologie.

Tous les animaux utilisés au cours de cette expérience (animaux vaccinés par les 2 vaccins simple ou mixte, témoins non vaccinés, animaux devant assurer la contamination) appartiennent à la race N'Dama, race de taurins africains particulièrement sensible à la péripneumonie bovine. Ils sont âgés de trois ans environ. Il convient de souligner qu'ils proviennent tous de la région de Kédougou (Sénégal oriental)

indemne de péripneumonie et où les vaccinations n'ont jamais été pratiquées. Les achats sont conduits en liaison étroite avec le service de l'Elevage du Sénégal qui organise les campagnes annuelles de prophylaxie du bétail. Tous les animaux ont été achetés au cours d'une unique tournée d'achat. Tout risque d'erreur par utilisation d'animaux déjà vaccinés antérieurement contre la péripneumonie est ainsi écarté.

#### 1. VACCINS UTILISES

Culture de T1-SR

La souche T1-SR a été obtenue à partir de la souche T1 n/44, par la méthode des dilutions terminales, au moyen de trois passages en milieu liquide contenant de la streptomycine à des taux progressivement croissants; elle cultive très normalement dans des milieux contenant 1 mg de streptomycine par ml.

La composition du milieu de culture de *M. mycoides* a été précédemment décrite (2). Qu'il nous suffise de rappeler que pour la préparation des vaccins péripneumoniques, on utilise une culture de 72 heures à 37°. Au cours des dernières 24 heures, les ballons sont portés sur agitateur magnétique.

Virus vaccinal pestique

C'est une suspension de virus vaccinal (souche RP OK BK65) cultivé sur épithélium rénal d'embryon de veau pendant un temps variant de 5 à 8 jours (en moyenne une semaine).

Préparation et lyophilisation

Le lait écrémé sec est utilisé comme support de lyophilisation. Pour le vaccin T1-SR, 450 g de lait en poudre sont ajoutés à 10 litres de culture de trois jours de *M. mycoides*.

Pour le vaccin mixte, une partie de la suspension virale est mélangée à neuf parties de la même culture de trois jours de T1-SR: 450 g de lait écrémé sec sont ajoutés à 10 litres de mélange.

PROVOST a déjà souligné, en 1970, la nécessité d'une parfaite synchronisation des cultures du virus vaccinal et des mycoplasmes. Cet auteur a fourni un plan détaillé de production de ces deux constituants et il semble inutile de revenir sur cette condition évidemment primordiale.

La répartition des vaccins se fait sous un volume de 5 ml par flacon type de pénicilline de 20 ml. La lyophilisation est menée dans les conditions habituelles.

#### Reconstitution, titrage

La reconstitution est effectuée au moment de l'emploi avec 40 ml d'eau distillée refroidie (40 doses vaccinales). A ce moment le titrage du vaccin par la méthode des dilutions décimales donne plus de  $10^8$  unités viables de M. mycoides par ml et  $10^{3.5}$  DICT 50 unités virales vaccinales par ml. Ces titres sont satisfaisants puisqu'il est désormais admis qu'un vaccin antipéripneumonique préparé à partir de la souche T1 doit titrer au moins  $10^7$  unités viables par ml pour être actif, et qu'en matière de virus vaccinal pestique le titre  $10^{2.5}$  DICT 50 constitue le minimum retenu par les experts (\*).

#### 2. VACCINATION DES ANIMAUX

Les animaux sont vaccinés le 22 avril 1970 (1 ml de vaccin reconstitué, inoculé à la côte) : 24 bovins sont immunisés avec le vaccin T1-SR et 27 avec le vaccin mixte. Ce nombre dépasse la quantité nécessaire à la constitution des lots utilisés lors du test proprement dit. Il tient compte des possibilités de pertes toujours possibles pendant la durée de l'expérience.

#### Réactions postvaccinales

Aucun des animaux vaccinés ne présente de réaction locale au point d'inoculation. Lors de notre précédente expérimentation (2), 50 p. 100 des animaux vaccinés avec le vaccin T1-44e passage avaient montré une réaction locale nette ne dépassant cependant jamais la taille de la main.

L'évolution des anticorps fixant le complément est notée régulièrement pendant les 6 semaines qui suivent la vaccination. La méthode utilisée est du type Kolmer. Il est vérifié que tous les animaux sont bien sérologiquement négatifs au moment de la vaccination. Un prélèvement de sang est effectué ensuite tous les 7 jours.

— Trois semaines après la vaccination, 10 animaux immunisés avec le vaccin mixte demeurent négatifs; aucune des montées d'anticorps enregistrées chez les 5 autres ne dépasse la dilution au 1/10.

— La montée des anticorps fixant le complément est plus sensible chez les animaux vaccinés avec le seul vaccin T1-SR. Trois semaines après la vaccination, 5 d'entre eux présentent une sérologie négative mais 8 autres fixent le complément au 1/10, 1 animal le fixe au 1/40 et 1 autre au 1/80.

Dans l'ensemble, les bovins révèlent une montée d'anticorps fixant le complément beaucoup plus faible que celle observée lors de notre expérience précédente avec la souche T1-44e passage.

### 3. PERIPNEUMONIE BOVINE EPREUVE D'IMMUNITE

Le principe de la méthode, le bâtiment utilisé, l'alimentation des animaux, ont déjà fait l'objet de développements (2), aussi ces sujets ne seront-ils pas abordés dans le présent travail.

### 3.1. Intubation des animaux destinés à devenir infectants

La constitution de l'inoculum, la technique d'infection par voie bronchique, l'évolution des animaux, ont été précédemment décrites. Nous préciserons seulement que, dans la présente expérience, 16 ml du mélange infectant sont administrés à la sonde au lieu des 20 ml jusqu'alors employés. Il en résulte un retard d'environ une semaine dans l'apparition des premières mortalités constatées. Ce retard est recherché et constitue un élément favorable pour l'évolution ultérieure de l'expérience. Les bovins infectés par voie endobronchique portent les numéros suivants:

196, 154, 194, 198, 182, 183, 181, 184, 186, 190, 188, 189, 187, 197, 195, 193, 191, 192.

# 3.2. Mise en contact étroit des animaux vaccinés (T1-SR, vaccin mixte), des témoins non vaccinés et des animaux infectés par la voie bronchique

9 mois après les vaccinations, 15 bovins vaccinés avec T1-SR et 15 bovins vaccinés avec le vaccin mixte sont groupés avec les 18 bovins infectants, en présence de 15 témoins sensibles (non vaccinés).

<sup>(\*)</sup> Normes O.M.S.

Nº des vaccinés T1-SR:

V 1103, V 1108, V 1115, V 1119, V 1124, V 1126, V 1134, V 1137, V 1146, V 1154, V 1162, V 1165, V 1182, V 1183, V 1105.

Nº des vaccinés vaccin mixte:

V 2, V 35, V 29, V 198, V 543, V 545, V 561, V 569, V 570, V 769, V 855, V 931, V 933, V 939, V 970.

Nº des témoins:

T 843, T 451, T 481, T 690, T 291, T 853, T 125, T 833, T 840, T 267, T 882, T 242, T 832, T 186, T 482.

### 3.3. Evolution des animaux après l'épreuve infectante

Les observations s'arrêtent 118 jours après le début de la mise en contact. Les animaux vaccinés avec T1-SR sont abattus 81 jours après le début de l'épreuve. Ceux vaccinés avec le vaccin mixte le sont 37 jours plus tard. Ce décalage s'explique par la nécessité d'inoculer du virus pestique pleinement virulent pour apprécier la valeur de l'immunité antibovipestique conférée.

#### a) Evolution des animaux infectants

Seule l'évolution sérologique observée après l'épreuve infectante est rapportée dans les tableaux 1, 2, 3, 4 et 5. Les anticorps fixant le complément sont toujours étudiés par la même méthode de type Kolmer, plus sensible et moins exigeante en réactifs que celle de Campbell et Turner: seules les réactions ++++ sont retenues comme positives dans la réaction des tableaux.

La recherche de l'antigène circulant est effectuée par précipito-diffusion en boîte de Pétri (gélose noble à 1 p. 100 dissoute dans un tampon véronal à pH 7,3-7,4 et merthiolatée à 0,04 p. 100). Le sérum anti-M. mycoides est préparé par hyperimmunisation de moutons.

La présence des anticorps agglutinants est décelée sur lame en utilisant un antigène coloré (\*).

L'évolution sérologique des animaux infectés par voie bronchique figure dans les tableaux I et II. Sur 18 bovins infectés par voie endobronchique, 15 succombent en présentant à l'autopsie des lésions péripneumoniques; les 3 autres sont sacrifiés en fin d'expérience (I 84, I 93, I 97). Le poumon du nº I 84 dont le sérum fixait le complément au 1/80 montre un séquestre de 5 cm de diamètre au 24° jour. Quant aux nºs I 93 et I 97, aucune trace de lésion n'est décelée à l'autopsie. Ce résultat est d'autant plus surprenant que le sérum de ces deux animaux a fixé le complément respectivement au 1/320 et au 1/640. Nous n'avons trouvé aucune explication valable à ce sujet.

#### b) Evolution des témoins

L'évolution des anticorps fixant le complément figure au tableau III. Sur 15 témoins, 11 meurent de péripneumonie dans les délais observés habituellement, soit entre les 33 et 54e jours suivant la mise en contact. Les 4 autres succombent accidentellement en cours d'expérience. Plus petits, ils sont systématiquement écartés des mangeoires, s'affaiblissent, tombent, sont piétinés et meurent finalement, pour des raisons étrangères à la péripneumonie.

Ceci démontre que l'utilisation de lots d'animaux parfaitement homogènes quant à l'état physiologique et la taille est une condition indispensable à la bonne réalisation de ce genre de test. Malheureusement, il n'est pas toujours possible de répondre parfaitement à cet impératif au moment des achats en brousse.

### c) Evolution des animaux vaccinés avec T1-SR

L'évolution des anticorps fixant le complément fait l'objet du tableau IV.

Sur 15 animaux vaccinés, 2 (V 1134, V 1162) succombent en cours d'expérience sans que l'examen *post mortem* révèle la moindre lésion pulmonaire. Leur disparition relève des causes exposées ci-dessus.

Les 13 bovins vaccinés survivants sont sacrifiés 81 jours après la mise en contact avec les animaux infectants. Aucun d'eux ne présente la moindre atteinte pulmonaire et *M. mycoides* ne peut être isolé d'aucun ganglion trachéo-bronchique.

### d) Evolution des animaux vaccinés avec le vaccin mixte

L'évolution sérologique (fixation du complément) est rapportée dans le tableau V.

<sup>(\*)</sup> Cet antigène est préparé par le laboratoire de microbiologie du siège central de l'I.E.M.V.T. à Alfort.

L.P.B. = Mort avec lésions péripneumoniques; P.I. = Poumon indemne.

- 5 -

TABLEAU N°II

Evolution sérologique des animaux infectés par voie bronchique
(Antigène circulant décelé par précipito-diffusion en boîte de Pétri)

	-	<del></del>	<del></del>	<del></del>											
Nombre de jours après intubation	0	7	15	24	31	38	45	52	59	66	73	80	87	94	Abattage 100
N° des animaux I 96	-	-	-	+	+	+	L.P.B.								
I 54	-	-	-	+	+	г.р.в.									
I 94	-	-	-	L.P.B.											
I 98	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	L.P.B.	
I 82	-	-	-	+	L.P.B.										
I 83	_	-	-	+	+	L.P.V.									
I 81	-	-	-	+	+	+	+	L.P.B.							
I 84	-	-	-	-	_	_	_	-	-		_	-	-	-	Séquest: 5 cm
I 86	-	-	-	L.P.B.											
I 90	-	-	-	L.P.B.						•		•			
I 88	-	-	-	+	L.P.B.										
1 89	-	-	-	+	L.P.B.										
I 87	-	-	-	L.P.B.											
I 97	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
1 95	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	L.P.B.				
I 93	-	-	-	-	-	_	-	-	-	-	-	-	-	-	
I 91	-	-	-	+	L.P.B.									<del> </del>	
I 92	-	-	-	-	-		-	+	L.P.B.						

L.P.B. = Mort avec lésions péripneumoniques.

TABLEAU N°III Evolution sérologique des animaux témoins après la mise en contact (Déviation du complément type Kolmer)

54										L.P.B.			L.P.B.		.в. ‡.л	
47					-я-а-т		г. ‡. в.			1/80	L.P.B.		1/160	L.P.B.	1/80	
40		L.2.B.			1/80	L.P.B.	1/160			1/20	1/80		1/80	1/160	1/40	
33		1/160	+		1/10	1/40	1/80		I.P.B.	1/10	1/20	L.Ţ.B.	1/40	1/80	1/40	
26		1/80	1/10	+	1	1/10	1/5	+	1/80	1/10	1/20	1/80	1/10	1/40	1/10	
19	+	1/40	1/10	1/5	'	1/10	1	1/20	1/20	1/5	1/10	1/10	1/10	1/5	1/10	
12	1	1/10	1/5	1/5	1/5	1/10	-	1/20	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/10	
5	-	1/10	1/15	1/5	1/5	1/10	1/5	1/20	1/5	1/5	1/5	1/10	1/5	1/5	1/10	
0		,		,	,	'	,	,	'			,		τ	-	
Nombre de jours après la mise en contact	N des animaux T 843	T 451	T 481	T 690	T 291	T 853	T 125	T 833	T 840	T 267	T 882	T 242	T 632	T 186	т 482	

L.P.B. = Mort avec lésions péripneumoniques; + = Mort sans lésion pulmonaire.

TABLEAU N°IV Evolution sérologique des animaux vaccinés avec la souche  $\mathbf{T}_1$  streptomycino résistante (T1-SR) après la mise en contact (déviation du complément type Kolmer)

Nombre de jours après la mise en contact	0	5	12	19	26	33	40	47	54	61	68	75	Abattage 81
N° des animaux V 1103	_	1/5	_	1/5	-	1/20	1/20	1/20	1/20	1/40	1/20	1/20	P.I.
V 1108	_	1/10	1/10	1/20	1/20	1/20	1/20	1/10	1/10	1/10	1/20	1/20	P.I.
V 1115	-	-		-	-	-			1/5	1/5	1/10	1/10	P.I.
V 1119	-	-		-	-	-	-	-	1/10	1/10	1/10	1/10	P.I.
V 1124	_	_		-	-	-	1/10	1/10	1/10	1/10	1/20	1/10	P.I.
V 1126	_	<u> </u>		-	-	-		-	1/10	1 10	1/20	1/10	P.I.
V 1134		-		+									
V 1137	-	<del> </del>	-	-	_		-	<u> </u>	1/5	1/5	1/20	1/20	P.I.
V 1146	-	-		-	-	-	_	_	-	-	1/10	1/10	P.I.
V 1154	-	_	-	-	-	-	_	-	1/5	1/5	1/10	1/10	P.I.
V 1162	_	-	_	-	+								
V 1165	<del>-</del>			-	-		_	-	1/20	1/20	1/20	1/20	P.I.
V 1182		_	-	-	-	-	-	1/5	1/20 -	1/10	1/10	1/10	P.I.
V 1183	-	-	-	-	_	-	1/10	1/10	1/20	1/10	1/10	1/10	P.I.
V 1105	-	_	-	-	-	-	-	-	1/5	1/5	1/10	1/10	P.I.

<sup>+ =</sup> Mort sans lésions péripneumoniques; P.I. = Poumon indemne.

Evolution sérologique des animaux vaccinés avec le vaccin míxte après la mise en contact (déviation du complément type Kolmer) TABLEAU N°V

			_				-						$\overline{}$			
Abattage 118	P.I.	P.I.	P.I.	P.I.	P.I.	P.I.	P, I.	P.I.	P.I.		P.I.	P.I.	P.I.	P.I.	P.I.	
7.5	1/5	1/20	1/20	01/1	1/10	01/1	1/20	1/5	1/10		1/20	1/5	1/5	1/20	1/20	
89	1/10	1/20	1/20	1/20	1/20	1/10	1/20	1/5	1/20		1/20	01/1	5/1	1/20	1/20	!
61	1/10	1/40	1/20	1/20	1/10	1/10	1/80	1/5	1/10		08/1	1/5	1/5	1/20	1/40	
54	1/10	1/20	1/20	1/20	1/10	1/10	1/40	1	1/5		1/40	1/5	1/5	1/20	1/20	
47	     	1/10	1/20	1/20	1/10	1/10	1/40	1	1/5		1/20	1/5	1/5	1/5	1/20	
40		1/10	1/20	1/20	1/10	1/10	1/20	1/5	1/10	+	1/10	1/5	1/5	1/5	1/20	
33	1		1/5	1	-	1	1	1	ı	ı	1/5	ı	-	1	1/5	
26	-	1	'	1	ı	,	-	-		,	,	,	-	-	-	
19	,		,		,		'	-	-	-	1/10	J	1	ı	1	<u></u>
12	-	'	,	ι	. 1	-		-	1	ı	ı	-	1	-	'	
'n	ı	1	,		1	,	'	,	•	,	1	1	-	•	1	
0	1		ı	1	ı	'	. 1	. 1	1	ı	1		,	ı	1	
Nombre de jours après la mise en contact	N° des animaux V 2	V 35	V 29	V 198	V 543	V 545	V 561	V 569	V 570	692 A	V 855	V 931	V 933	V 939	V 970	

+ = Mort sans lésions péripneumoniques; P.I. = Poumon indemne.

On remarquera qu'à partir du 40° jour, on enregistre une montée sensible des anticorps fixant le complément (fixation au 1/20, 1/40 et même 1/80) pour certains animaux. Cette montée d'anticorps traduit l'existence d'un stimulus antigénique certain, provoqué par le contage disséminé par les animaux intubés mis au contact. L'immunité conférée par la vaccination reste cependant suffisamment solide pour empêcher le développement d'une infection vraie et la formation de lésions pulmonaires.

Un animal meurt 40 jours après le début de l'épreuve infectante. Sa sérologie a été constamment négative. Aucune lésion péripneumonique n'est relevée sur les poumons.

Les 14 bovins vaccinés survivants sont sacrifiés 118 jours après la mise en contact avec les animaux intubés. Examinés au moment de l'abattage, les poumons de la totalité de ces animaux se montrent indemnes de toute atteinte péripneumonique. L'ensemencement des ganglions trachéo-bronchiques ne donne aucune culture de *M. mycoides*,

#### Discussion

Les résultats obtenus méritent d'être discutés sous différents aspects. Il importe de comparer tout d'abord la qualité de l'immunité conférée par chacun des deux vaccins péripneumoniques utilisés. Il est également instructif de mettre en parallèle les divers phénomènes survenant après injection de ces deux vaccins (réaction locale, montée des anticorps) et qui accompagnent l'installation de cette immunité chez des animaux qui, nous le soulignons de nouveau, n'ont jamais été vaccinés.

Enfin il est intéressant de confronter les résultats obtenus récemment avec la souche T1-44<sup>e</sup> passage avec ceux obtenus au cours de cette expérimentation en utilisant la souche T1-SR qui en dérive.

Du point de vue de la seule valeur de l'immunité conférée à la suite de la vaccination avec la souche T1-SR inoculée soit seule, soit en association avec le virus pestique, les résultats sont identiques. Tous les animaux des 2 lots comparés (T1-SR et vaccin mixte) sont parfaitement protégés. La présence du virus pestique dans le vaccin n'entrave donc nullement le développement de la réponse immunitaire antipéripneumonique.

La mise en contact de l'ensemble des animaux vaccinés avec les bovins infectés expérimentalement est réalisée 9 mois après les vaccinations. La période d'observation de ces animaux dure alors 64 jours, pendant lesquels tous les témoins sensibles meurent de péripneumonie. La durée totale de l'expérimentation est donc de 11 mois. Il ressort qu'une immunité postvaccinale d'au moins 11 mois est démontrée par la présente expérimentation. Ce résultat est donc à rapprocher de celui que nous avons obtenu précédemment avec la souche T1-44e passage (2), à savoir la possibilité de garantir un état de protection d'une année au moins à la suite de l'utilisation de cette souche.

Par contre, si l'on considère les phénomènes qui accompagnent l'immunité observée, on constate des différences notables entre les effets locaux et généraux produits par l'inoculation de la souche T1-44° passage, et ceux provoqués par la souche T1-SR qui en dérive (dans les deux expériences, le vaccin est inoculé à la côte).

Avec la souche T1-44° passage, environ 50 p. 100 des animaux présentent une réaction locale au point d'inoculation, réaction qui ne dépasse jamais cependant la taille de la main. La presque totalité d'entre eux offre une réaction sérologique postvaccinale nette, d'intensité variable selon les sujets. Si 2 bovins restent constamment négatifs, les taux maximaux observés chez les 13 autres atteignent respectivement les 1/5 (1 animal), 1/10 (3 animaux), 1/20 (3 animaux), 1/40 (2 animaux), 1/80 (1 animal), 1/160 (2 animaux) et enfin 1/320 (1 animal).

Avec le clone T1-SR, il en va tout autrement. D'une part, aucun animal ne présente de réaction locale visible au point d'inoculation, d'autre part les réactions sérologiques postvaccinales se révèlent bien plus faibles, sinon inexistantes:

- avec le vaccin mixte, 10 animaux demeurent constamment négatifs, les taux observés chez les autres ne dépassent pas le 1/5;
- avec la souche T1-SR utilisée seule, ces réactions sérologiques postvaccinales sont plus nettes, mais restent très modérées 5 animaux sur 15 demeurent constamment négatifs, 8 autres fixent le complément au 1/10, 1 au 1/40 et le dernier au 1/80.

Ainsi la souche T1-SR, tout spécialement lorsqu'elle est utilisée dans un vaccin mixte

antipéripneumonique antibovipestique, révèle des propriétés analogues à celles de la souche KH3J (aucune réaction au point d'inoculation, aucune montée d'anticorps postvaccinaux ou une montée très réduite). Par contre, le pouvoir protecteur qu'elle confère, très satisfaisant et bien supérieur à celui obtenu avec la souche KH3J, l'apparente à la souche T1-44° passage dont elle est issue et qui protège les animaux pendant au moins 1 an.

#### Conclusion

Tous les animaux utilisés au cours de cette expérimentation (vaccinés, témoins non vaccinés, animaux infectés artificiellement) ont été achetés ensemble et proviennent de la même région indemne de péripneumonie. Ils n'ont jamais été vaccinés auparavant.

La présente expérience démontre que la souche T1-SR employée seule ou associée à un vaccin antibovipestique de culture cellulaire protège tous les animaux vaccinés pendant une durée de 11 mois minimum, durée totale de l'observation.

Les animaux témoins, non vaccinés, succombent de péripneumonie, ce qui démontre, si c'était nécessaire, qu'ils n'avaient pas été immunisés avant leur achat au Sénégal Oriental.

Cette souche T1-SR semble douée de propriétés particulières qui la différencient de la souche T1-44<sup>e</sup> passage dont elle dérive. En particulier, les réactions postvaccinales sont excessivement réduites ou nulles, tandis que le pouvoir immunogène semble parfaitement conservé.

Ces observations intéressantes méritent d'être confirmées à l'occasion de nouvelles expérimentations sur le terrain que nous nous proposons d'effectuer prochainement.

# 4. PESTE BOVINE EPREUVE D'IMMUNITE

#### 1. Matériel et méthode

#### a) Contrôle sérologique

Les anticorps neutralisants ont été recherchés dans les sérums après l'achat, 1 mois après la vaccination, au début et à la fin de l'expérience contact. Ce contrôle est basé sur la mise en évidence et le titrage des anticorps par la

méthode de séro-neutralisation à virus constant et sérum variable. La technique employée est soit celle décrite par PLOWRIGHT et FERRIS (3) utilisant des tubes inclinés disposés sur portoirs à tubes roulants, soit la technique cinétique adaptée par BOURDIN et BERNARD (1) au virus pestique. La technique de PLOWRIGHT et FERRIS est employée seule, pour le premier contrôle fait après l'achat des animaux, sur les sérums dilués au 1/2 et 1/5; les examens ultérieurs sont faits conjointement par les deux techniques, les dilutions des sérums allant de 1/10 à 1/60.

#### b) Epreuve des animaux

Pour ce test on a utilisé la souche DK, employée habituellement au Laboratoire de Dakar pour vérifier l'efficacité du vaccin pestique. Elle est conservée lyophilisée à — 70° C, en ampoules scellées sous vide. Chaque animal reçoit au moment de l'épreuve 10.000 DICT 50 par voie sous-cutanée. Deux jeunes bovins dont la sensibilité à la peste a été reconnue après examen sérologique reçoivent la même dose et servent de témoins.

L'observation des animaux dure 15 jours. Les températures sont prises quotidiennement et, à la première poussée thermique, un frottis de sang est effectué pour rechercher d'éventuels hématozoaires de sortie. Après la mort des animaux réagissant, le virus pestique est mis en évidence dans les ganglions lymphatiques par précipito-diffusion en milieu gélifié et isolément sur cultures cellulaires.

#### 2. Résultats

Ils sont regroupés dans les tableaux VI et VII. On note que les animaux vaccinés possédaient tous au départ des anticorps neutralisants dans leur sérum (dilution 1/5). En raison de la récente campagne conjointe de vaccination contre la peste bovine et de l'application des mesures conservatoires, il est très difficile, à l'heure actuelle, de trouver des taurins adultes non vaccinés contre cette affection.

La présence d'anticorps neutralisants dans les sérums des animaux, 30 jours après l'inoculation du vaccin mixte à des titres égaux ou supérieurs au 1/80, est certainement en relation avec une vaccination antérieure.

L'évolution d'une peste typique chez les deux animaux témoins confirme la validité de l'épreuve.

TABLEAU N $^{\circ}$ VI Recherche des anticorps pestiques chez les animaux vaccinés avec le vaccin mixte et résultats de 1'épreuve

	Epreuve		_						_	)Ras			_	_			
	1/160		ı	,	1	ı	1	1	ı	ı	ı	1	ı	ı	ı	,	,
	1/80		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+ 360	1/40		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
r	1/20		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/10		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/160		1	,	ı	,	1	1	1	ı	1	1	1	ı	ı	1	t
	1/80		+	+	+	+	+	÷	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+ 270	1/40		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
נ	1/20		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/10		+	+	+	+	+	÷	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/160			ı	1	ı	ı	1	1	ı	ı	ı	ı	ı	ı	ı	1
	1/80		+	+	+	ı	ı	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+ 30	1/40		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ſ	1/20		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/10		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0	1/5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nombre de jours	apres la vaccination Dilutions	Numéros	2	35	29	198	543	545	561	569	570	769	855	931	933	939	970

+ = anticorps présents à la dilution considérée; - = anticorps absents à la dilution considérée.

TABLEAU Nº VII

Recherche des anticorps pestiques chez les témoins et résultats de l'épreuve

Dilutions	1/2	1/5	Epreuve				
Numéro							
26		-	Peste				
27	_	_	typique				

+ anticorps présents à la dilution considérée
 - anticorps absents à la dilution considérée.

#### Conclusion

Le développement de l'immunité antipestique n'est pas perturbé par la présence dans le vaccin mixte de la souche de M. mycoides T1-SR. L'expérience aurait été plus démonstrative si les animaux inoculés avec le vaccin mixte avaient présenté, avant la vaccination, une absence totale d'anticorps neutralisants, ce qui n'était pas le cas (anticorps neutralisants à la dilution du 1/5 du sérum). On est en droit de supposer qu'avec les animaux utilisés, le vaccin mixte n'a provoqué qu'un effet de rappel (anticorps neutralisants à la dilution du 1/80 du sérum).

Il était malheureusement difficile de pouvoir procéder d'une autre manière. Actuellement, à la suite des campagnes annuelles de vaccination antiseptique, il est très malaisé de se procurer en brousse des lots d'animaux totalement dépourvus d'anticorps antipestiques. Une enquête récente vient d'ailleurs de montrer que 95 p. 100 des bovins du Sénégal possédaient une immunité antipestique valable démontrée sérologiquement.

#### CONCLUSION GENERALE

Les résultats de cette expérience conduite à Dakar démontrent que le vaccin mixte lyoantibovipestique-antipéripneumonique. préparé à partir de la souche de culture cellulaire de virus pestique vaccinal RP OK BK65 et de la souche T1-SR de M. mycoides, est en mesure de conférer une immunité antipéripneumonique satisfaisante pendant au moins 11 mois, durée totale de l'expérimentation. De même. l'état de protection antipestique qui se développe est pleinement satisfaisant. Sous réserve de travaux complémentaires en ce qui concerne les propriétés de la souche vaccinale T1-SR, ce vaccin semble tout particulièrement recommandable à l'attention des services vétérinaires nationaux de l'Ouest africain qui désirent à la fois intensifier la prophylaxie antipéripneumonique et entretenir un taux d'immunité antipestique élevé au sein de leur cheptel bovin en procédant à une opération vaccinale unique.

#### **SUMMARY**

### Quality of the immunity produced by a mixed CBPP-rinderpest freeze-dried vaccine prepared with the T1-SR strain

During 1970 and 1971, an experiment to test the immunity produced by a mixed CBPP-rinderpest freeze-dried vaccine prepared with the T1-SR strain was carried out in the Dakar Laboratory. Concerning CBPP, the in-contact method described by the australian workers was utilized. The test took place 9 months after vaccinations, two batches of cattle-one vaccinated with the mixed vaccine, the other with T1-SR only-were challenged. No difference was observed as for the quality of the two CBPP immunity responses and no cattle died from CBPP. With regard to rinderpest, the neutralizing antibodies title was checked in course of time and a challenge with a fully virulent rinderpest virus strain was carried out at the end of the experiment without any mortality. In those conditions, it is possible to put forward that the mixed vaccine prepared with the T1-SR strain warrants a minimum protection period of at least eleven months, whole duration of the experiment, and with respect to rinderpest an immunity alike the one expected from the tissue culture vaccine.

Concerning the local reaction and serological response, the T1-SR strain seems te possess interesting qualities which must be confirmed in the field.

#### RESUMEN

## Valor de la inmunidad producida por una vacuna mixta liofilisada contra la peste bovina y la perineumonia, preparada mediante la cepa

Durante los años 1970 y 1971, se realizó en el laboratorio nacional de la ganaderia de Dakar una experimentación para determinar el valor de la inmunidad producida por una vacuna liofilisada mixta contra la peste bovina y la perineumonia. En lo concerniente a la última, se utiliza el método llamado « de contacto » descrito por los buscadores de Australia. Se hace la prueba infectante, 9 meses despuès de las vacunaciones, en un lote de bovinos vacunados con la vacuna mixta y conjuntamente en un lote testigo idéntico inmunizado con la sola cepa T1-SR. No se observó ninguna diferencia en la cualidad de las respuestas de inmunidad contra la perineumonia y no se murió a causa de la perineumonia ningún de los animales yacunados.

En cuanto a la peste bovina, se siguió observando la tasa de los anticuerpos neutralizantes y se efectuó una prueba de infección mediante una cepa de virus pestico enteramente virulenta en fin de experiencia; no se registró ninguna mortalidad. En dichas condiciones, se puede decir que la vacuna mixta preparada a partir de la cepa T1-SR garantiza un estado de protección conveniente contra la perineumonia durante once meses a lo menos (duración completa de la experiencia) y una innunidad contra la peste igual a la esperada de la vacuna de cultivo celular.

En lo concerniente a la reacción local al punto de inyección y la reacción serológica postvacunal, la cepa T1-SR parece tener cualidades interesantes que se necesita averiguar sobre terreno.

#### BIBLIOGRAPHIE

La bibliographie du présent article a été réduite volontairement à 4 références dont 2 récentes. Les lecteurs intéressés trouveront à la fin des travaux 2 et 4 une longue liste de publications qui traitent du sujet d'une façon très complète.

- 1. BOURDIN (P.) et BERNARD (G.), Application de la méthode de séro-neutralisation cinétique à la recherche des anticorps neutralisant le virus de la peste bovine, Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1967, 20 (4): 531-536.
- DOUTRE (M. P.) et CHAMBRON (I.), Valeur de l'immunité conférée par un vaccin antipéripneumonique Iyophilisé préparé à l'aide de la souche

- T1, Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1970, 23 (2): 163-179.
- 3. PLOWRIGHT (W.) et FERRIS (R. D.), Studies with rinderpest virus in tissue culture. III. The stability of cultured virus and its use in virus neutralization test, *Arch. ges. Virusforsch*, 1961, 11 (2): 516-533.
- PROVOST (A.), BORREDON (C.) et QUE-VAL (R.), Recherches immunologiques sur la péripneumonie. XI. Un vaccin vivant mixte antibovipestique-antipéripneumonique inoculé en un seul temps. Conception, production, contrôles, Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1970, 23 (2): 143-162.