

Recherches immunologiques sur la dermatophilose (*) cutanée bovine

I. Essais d'immunisation du lapin contre la dermatophilose expérimentale

par G. CHAMOISEAU (**) et E. LEFEVRE (***)

RESUME

Le lapin est cliniquement protégé vis-à-vis de l'inoculation cutanée expérimentale de *Dermatophilus congolensis* par l'inoculation intradermique d'une culture jeune du microbe.

Le haut niveau de morbidité et ses conséquences (6) que la dermatophilose cutanée entretient périodiquement dans le cheptel bovin du Tchad, a incité à définir contre cette affection une doctrine d'action curative ou préventive. Les nombreux médicaments (6) qui ont été essayés n'ont pas toujours eu dans leurs effets la constance souhaitable ou n'ont pas rempli les conditions qu'exige une application de masse en élevage extensif (1).

Pour ces raisons, des travaux ont été entrepris à Farcha pour mettre au point une méthode de lutte prophylactique basée sur la vaccination. C'est ainsi que divers essais d'immunisation furent effectués tant au Laboratoire que sur le terrain.

Le présent article se propose de rapporter les expériences menées au Laboratoire sur le lapin, en préalable à celles qui furent faites sur le terrain. A ces dernières sera consacré un autre exposé.

Le lapin a été choisi à cause de la facilité et la régularité avec lesquelles il développe, à la commande, des lésions de dermatophilose expérimentale, qu'une vaccination pourrait éventuellement empêcher. Divers procédés (5, 8) ont été décrits pour infecter le lapin avec *Dermatophilus congolensis*.

Nous avons choisi la méthode de scarification cutanée, en présence d'une culture de *Dermatophilus congolensis* en bouillon tryptose-sérum qui permet d'obtenir en 48 heures environ, selon les qualités des souches microbiennes et chez les lapins ainsi traités, l'apparition de croûtes épaisses qui persistent de 12 à 15 jours pour disparaître progressivement en laissant une peau d'apparence parfaitement saine.

MATERIEL - METHODES RESULTATS

Les vaccins utilisés ont été de deux types : non spécifique et spécifique.

I. VACCINS NON SPECIFIQUES

A ce titre ont été essayés le B.C.G. et la souche B 19 de *Brucella abortus bovis*, afin de vérifier si, en incidence des observations de

(*) C'est à dessein qu'est utilisée la dénomination nouvelle de dermatophilose à la place de celle de streptothricose couramment admise. reprenant en cela la terminologie proposée par WEBER et SCHLESSER (*Zentbl. Vet. Med.*, 1971, 18 B, 546-556).

(**) Adresse actuelle: Laboratoire de l'Elevage, B.P. 175, Nouakchott, Rép. Islamique de Mauritanie.

(***) I.E.M.V.T., Laboratoire de Recherches Vétérinaires de Farcha, B.P. 433, Fort-Lamy, Tchad.

ROBERTS (19), le lapin pouvait résister à l'infection par exaltation de ses défenses naturelles grâce à la fabrication d'immunophagocytes notamment.

Le B.C.G. a été administré à six lapins qui, par groupe de deux, ont respectivement reçu sous la peau 10, 50 et 100 mg de germes frais (voile microbien de culture en milieu de Sauton).

La souche B 19 a été également administrée à six lapins qui, par groupe de deux, ont reçu en sous-cutanée, respectivement 16, 32 et 60 milliards de germes.

Tous ces animaux ont été éprouvés par scarification, à l'aide de la culture vivante de *Dermatophilus*, un mois et demi après l'injection d'antigène.

Aucun de ces deux vaccins n'a réussi à les protéger si peu que ce soit contre la maladie expérimentale.

Il ne semble pas que, malgré la positivité du test de phagocytose *in vitro*, l'immunophagocytose soit intervenue de façon majeure pour s'opposer à l'installation des lésions expérimentales observées. Ces dernières se sont manifestées dans les délais habituels, ont évolué et duré comme celles des animaux témoins. Tout au plus a-t-on pu observer une accélération très peu marquée du processus de guérison.

II. VACCINS SPECIFIQUES

Ces vaccins ont été préparés à partir de souches de *D. congolensis* isolées au Tchad de bovins malades et cultivées en bouillon tryptose-sérum.

Deux souches ont servi, mélangées à parties égales, qui ont également été utilisées pour les infections d'épreuve.

Ces vaccins spécifiques ont été constitués soit par des antigènes extraits de cultures, soit par ces cultures elles-mêmes, traitées ou non.

1. Antigènes extraits de cultures de *D. congolensis*

Ce sont les antigènes A et B.

— Antigène A : Deux cultures âgées de 48 heures et de 8 jours ont été mélangées, homogénéisées, filtrées sur disques Seitz et leur

filtrat lyophilisé (11). Le produit obtenu est reconstitué dans l'eau distillée au dixième de son volume initial. Il peut ainsi donner 8 lignes de précipitation au test de diffusion en gélose face à un sérum de bovin atteint de dermatophilose.

Cet antigène a été essayé :

— à l'état pur : sous cette forme il a été administré à 8 lapins en injection intraveineuse, à la dose de 2 ml, 3 fois à deux semaines d'intervalle.

L'infection d'épreuve, qui a eu lieu un mois et demi après la dernière intervention vaccinale a montré sa totale inefficacité;

— à l'état adjuvé : avec l'adjuvant complet de Freund, dans la proportion de 1 p. 100. Ce vaccin, qui a été administré en sous-cutanée à la dose de 2 ml avec injection d'épreuve le 15^e jour après la vaccination, n'a en rien protégé les lapins ainsi traités contre l'infection expérimentale;

— avec l'alun de potassium, à la proportion de 30 p. 100.

Utilisé dans les mêmes conditions que le précédent, il n'a donné aucun résultat positif.

— Antigène B : Il a été extrait par l'acétone (3) de cultures de 48 heures et de 8 jours, mélangées. Le produit obtenu a été dilué dans un volume d'eau distillée égal au dixième de son volume initial.

Au test de diffusion en gélose, il ne donne que trois lignes de précipitation.

— A l'état pur : il a été injecté en intraveineuse à 3 lapins à la dose de 2 ml, trois fois à deux semaines d'intervalle.

L'infection d'épreuve qui a été faite un mois et demi après la dernière injection a révélé sa totale inefficacité.

2. Cultures de *D. congolensis*, traitées ou non

a) Cultures totales formolées

Ce sont des cultures de 48 heures qui ont été traitées par le formol à 3 p. 100 et adjuvées ensuite soit par l'adjuvant complet de Freund à 10 p. 100, soit par l'alun à 30 p. 100.

Chacun de ces deux vaccins a été administré à 2 lapins, en sous-cutanée, à la dose de 2 ml.

Éprouvés 15 jours après, ces lapins ont développé une maladie expérimentale classique avec cependant un gain de 24 heures en ce qui concerne la disparition des lésions d'épreuve par rapport à ce qui a été observé sur les lapins témoins.

b) *Culots de centrifugation*

Ces culots ont été utilisés mélangés à un adjuvant :

- soit le Labrafil (4) à raison d'une partie de culot pour quatre de l'adjuvant. Ce vaccin a été administré sous la peau à 6 lapins à la dose de 2 ml par animal;
- soit l'Alginat de sodium à 4 p. 100, à raison d'une partie de culot pour cinq d'Alginat. Ce vaccin a été utilisé par voie intramusculaire chez 6 lapins, à la dose de 1,5 ml associé à 1 ml de chlorure de calcium en solution à 15 p. 100.

Dans les deux cas, l'épreuve infectante a eu lieu 15 jours après la vaccination.

Tous les lapins vaccinés à l'aide de ces germes vivants ont réagi à l'épreuve infectante. Il faut cependant noter que les croûtes qui se sont développées au niveau des scarifications ont été plus minces que celles, épaisses et larges, constatées sur les témoins. Elles n'ont commencé à apparaître que 4 jours seulement après l'infection et ont évolué et subsisté entre 4 et 5 jours pour disparaître de 8 à 9 jours après l'épreuve infectante.

Dans l'état actuel de nos observations, il n'est pas possible de préciser lequel des deux adjuvants utilisés a donné les meilleurs résultats. Cependant, sur le plan de l'innocuité, le Labrafil est nettement supérieur, les lapins traités au vaccin adjuvé à l'alginat — chlorure de calcium ayant fait des myosites et accusé des mortalités.

c) *Cultures totales vivantes*

Ces cultures ont été essayées adjuvées et pures. Dans les deux cas, il s'est agi de cultures de 48 heures.

• Cultures adjuvées

Elles l'ont été soit avec l'adjuvant complet de Freund à 10 p. 100, soit avec l'alun de potassium à 30 p. 100.

Chacun de ces deux vaccins a été inoculé sous la peau, à un groupe de 6 lapins, à la dose de 2 ml.

Tous ces animaux ont été éprouvés 15 jours après.

Leur observation a montré que l'injection sous-cutanée de la culture vivante de *D. congolensis* ainsi adjuvée est inoffensive pour le lapin (tout comme pour le bœuf d'ailleurs) (6) tout en lui procurant une immunité marquée dont l'importance semble être liée à la nature de l'adjuvant utilisé.

C'est ainsi que si les lapins vaccinés avec la culture adjuvée à l'alun ont présenté des lésions typiques guérissant avec une avance considérable sur celle observée pour les lapins témoins, ceux vaccinés avec la culture vivante adjuvée par l'adjuvant complet de Freund présentent un état réfractaire de la peau très appréciable.

Cependant, si la moitié des lapins vaccinés avec ce dernier vaccin a solidement résisté à l'épreuve infectante, l'autre moitié a, par contre, réagi faiblement certes, mais suffisamment pour permettre l'installation de croûtes fines qui ont évolué en une huitaine de jours.

• Cultures totales vivantes pures

Le vaccin qu'elles constituent a été utilisé en injection intradermique, chez 8 lapins, à la dose de 1 ml.

L'infection d'épreuve, qui a été effectuée dans une région cutanée, éloignée de celle où a été injecté le vaccin, est intervenue 15 jours après la fin de la réaction vaccinale, qui a été observée chez les 8 lapins ainsi vaccinés.

— Cette réaction a débuté 18 heures après l'injection et a duré entre 6 et 7 jours au cours desquels se succédèrent les réactions locales suivantes : érythème, processus de nécrose sèche de la peau, papule auréolée d'inflammation, vesicopapule et érythème, nécrose hémorragique et restitution *ad integrum* de la peau.

On peut tenir les résultats obtenus par ce vaccin comme nettement positifs.

L'inoculation d'épreuve n'a été, en effet, suivie chez la totalité des vaccinés que par un érythème précoce et éphémère, de très légers furfures strictement localisés à quelques lignes de scarification, ne persistant pas plus de trois jours suivant les sujets. Par contre, les

témoins développent leurs lésions classiques dans les délais habituels. Les lésions d'épreuve des vaccinés sont à ce point bénignes que l'on peut se demander si elles se fussent manifestées et eussent été visibles avec un procédé d'infection moins traumatisant.

Quoique l'importance de la voie d'introduction des antigènes soit connue, ce n'est pas un dessein immunogénique qui a inspiré la mise en œuvre, *a priori* de la voie intradermique. Il a été donné d'observer que *D. congolensis*, comme d'ailleurs d'autres germes également responsables, entre autres, de lésions cutanées, disposait d'enzymes susceptibles d'expliquer, tout au moins en partie, son pouvoir pathogène et de provoquer la production d'anticorps neutralisant ces enzymes (7).

Diverses techniques ont été essayées, *in vitro*, mais toujours en vain pour tenter de vérifier l'éventuelle présence dans le germe en son milieu de culture d'une enzyme susceptible de modifier les structures de la peau et de favoriser sa pénétration dans le derme.

C'est en utilisant cette voie d'inoculation comme moyen d'investigation *in vivo* que nous avons pu observer les conséquences, ci-dessus, de l'infection intradermique de la culture vivante.

Ce sont ces conséquences qui déplacèrent aussitôt l'intérêt premier de la recherche pour inspirer leur comparaison, dans certains de leurs aspects, avec celles découlant de la

scarification dermique, chez l'homme, du virus vaccinal, ou celles de l'abcès de fixation.

Les résultats réguliers et constants de la voie intradermique, sur le plan de l'immunité protectrice, suggèrent qu'à la réaction violente prolongée du système cutané, siège alors probable d'un processus d'auto-immunostimulation, a succédé un état réfractaire local s'étendant ensuite à d'autres régions de la peau.

Cette hypothèse peut être plausible car, en matière de dermatophilose, il est admis que l'anticorps circulant est plutôt un témoin de l'infection, et que la guérison accélérée des lésions de réinfection en cours de maladie, ou après vaccination, peut être imputée à l'hypermensibilité retardée (10).

CONCLUSIONS

Dans ces essais d'immunisation du lapin, les antigènes non spécifiques se sont montrés inopérants. Les vaccinés tués également. Seules les cultures vivantes, adjuvées ou non, ont permis d'enregistrer des résultats encourageants. L'injection sous-cutanée de la culture totale et jeune adjuvée à l'adjuvant complet de Freund confère une immunité solide mais irrégulière selon les individus. L'injection intradermique de la même culture vivante et jeune confère, par contre, au prix d'une réaction postvaccinale, non rédhibitoire au demeurant, une protection cutanée d'un niveau très élevé, surtout remarquable par sa régularité.

SUMMARY

Immunological research on bovine cutaneous dermatophilosis I. Immunization trials of rabbits against experimental dermatophilosis

An intradermal inoculation of a young culture of *Dermatophilus congolensis* protects clinically rabbits that are subsequently challenged in the skin.

RESUMEN

Investigaciones inmunológicas contra la dermatofilia cutánea bovina I. Ensayos de inmunización del conejo contra la dermatofilia experimental

El conejo es clínicamente protegido para con la inoculación cutánea experimental de *Dermatophilus congolensis* por la inoculación intradermica de un cultivo joven del germen.

BIBLIOGRAPHIE

1. BLANCOU (J. M.). Traitement de la streptothricose bovine par injection unique d'antibiotique à haute dose. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1969, **22** : 33-40.
2. DELAUNAY (A.). Données nouvelles sur la phagocytose. Immunphagocytes et opsonines non spécifiques. *Path. Microbiol.*, 1962, **25** : 682-702.
3. GORDON (J.). The genus *Dermatophilus*. *J. Bacteriol.*, 1964, **88** : 509-522.
4. JOUBERT (L.) et VALETTE (L. R.). Propriétés immunostimulantes d'un mélange d'hydrocarbures paraffiniques et de glycérides oléiques polyoxyéthylénés. *Bull. Acad. vét.*, 1967, **30** : 99-110.
5. MEMERY (G.) et MEMERY (L.). La streptothricose cutanée. V : Note sur le pouvoir pathogène du micro-organisme de la streptothricose bovine. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1962, **15** : 5-9.
6. Rapport annuel 1967 du Laboratoire de Farcha. Tome II. Streptothricose bovine; bilan d'activité.
7. Rapports annuels du Laboratoire de Farcha pour 1967, 1968, 1969, 1970.
8. RICHARD (J. L.) et PIER (A. C.). Transmission of *Dermatophilus congolensis* by *Stomoxys calcitrans* and *Musca domestica*. *Am. J. vet. Res.*, 1966, **27** : 419-423.
9. ROBERTS (D. S.). The phagocytic basis of acquired resistance to infection with *Dermatophilus congolensis*. *Brit. J. exp. Path.*, 1966, **47** : 372-382.
10. ROBERTS (D. S.). The influence of delayed hypersensitivity on the course of infection with *Dermatophilus congolensis*. *Brit. J. exp. Path.*, 1966, **47** : 9-16.
11. VIGIER (M.) et BALIS (J.). Variabilité et antigenicité de *Dermatophilus congolensis*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1967, **20** : 67-76.