

21/03/65

4^{ème} Réunion du Groupe d'Experts FAO/OIE
de la péripneumonie (15-20 mars 1971)

VALEUR DE L'IMMUNITÉ CONFÉRÉE PAR LE
VACCIN ANTIPÉRI-PNEUMONIQUE LYOPHILISÉ

J. ORUE (X) e t M. P. DOUTRE (XX)

A la suite des recommandations de la Réunion des Experts de la Péripneumonie bovine tenue à Khartoum en février 1967 et des possibilités de création de campagnes inter-états de vaccination contre cette maladie, le Service de Bactériologie du Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches vétérinaires du Sénégal a mené au cours des années 1967, 1968, 1969 et 1970 une série d'expériences destinées à apprécier la valeur de l'immunité que conféraient des vaccins lyophilisés préparés à partir des souches KH 3J (86^{ème} passage) et T1 (44^{ème} passage). Ces souches ont été rapportées de Muguga lors de la seconde réunion des Experts en 1964, des "banques-stock" ont été constituées au siège central de l'I.E.M.V.T. et dans les différents laboratoires africains gérés par cet organisme.

L'emploi des vaccins contre la péripneumonie bovine sous forme lyophilisée a retenu tout particulièrement l'attention en raison des avantages présentés compte tenu des conditions prévalant dans l'Afrique de l'Ouest (2 à 3 mois à 4-4°C, un an à -20°C, facilité d'utilisation sur le terrain).

Le détail des travaux effectués et les résultats obtenus ont fait l'objet de deux publications parues respectivement dans le Bulletin de l'Office International des Epizooties (1) et dans la Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux (2), aussi n'en donnerons-nous qu'un compte rendu succinct dans les lignes qui suivent. Au cours du premier semestre de 1971 se terminera une expérience, commencée en 1970, qui se propose de déterminer la valeur de l'immunité qui s'installe à la suite de la vaccination avec un vaccin lyophilisé mixte peste bovine (souche culture cellulaire RP OK BK65) péripneumonie bovine (souche T1 rendue streptomycine-résistante). Les animaux vaccinés avec ce vaccin mixte sont éprouvés en même temps qu'un lot de bovins immunisés avec le mutant streptomycine-résistant de la souche T1 obtenu par le Service de Microbiologie du siège central de l'I.E.M.V.T.

Dans toutes ces expériences, les animaux vaccinés ont été éprouvés en utilisant la méthode de mise en contact étroit décrite pour la première fois par les auteurs australiens. Cette technique, devenue classique, consiste à mettre en présence, dans une enceinte close de volume restreint, un lot d'ani-

(X) Directeur du Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches vétérinaires du Sénégal,

(XX) Chef du Service de microbiologie de ce même laboratoire.

maux témoins non vaccinés et un lot de bovins infectés expérimentalement par voie endobronchique. Pour que l'expérience soit concluante, il convient qu'en fin d'expérience les bovins intubés et les témoins non-immunisés succombent de péripneumonie alors que les animaux vaccinés résistent et présentent à l'autopsie un appareil indemne de toute atteinte péripneumonique.

Tous les tests ont été effectués dans un bâtiment spécialement aménagé à cet effet dans la ferme annexe du Laboratoire à Sangalkam. Ses caractéristiques ont été données dans les deux publications citées en référence. Les animaux utilisés appartenaient tous à la race N'dama, race africaine de taurins particulièrement sensibles à la maladie naturelle et aux réactions locales post-vaccinales.

La présente note a pour but de résumer brièvement les travaux effectués et les résultats obtenus. Résultats qui nous ont conduit à retenir la souche T1 (44ème passage) dans la préparation du vaccin lyophilisé préconisé par le Laboratoire de Dakar pour l'Ouest africain.

A - VACCIN LYOPHILISÉ PRÉPARÉ À PARTIR DE LA SOUCHE KH 3J :

1 - Vaccin utilisé :

Il résulte de la lyophilisation d'un mélange à volume égal d'une culture de Mycoplasma mycoides souche KH 3J (86ème passage) et de mist dessicans (x).

La composition du milieu de culture résulte des travaux effectués au Laboratoire de Fort-Lamy (milieu F66, rapport présenté à la 3ème Réunion des Experts de la péripneumonie bovins FAO/OIE/OUA) et de ceux des chercheurs australiens du CSIRO.

Pour la préparation du vaccin, on utilise une culture de 72 h. Au cours des derniers 24 h., les ballons sont portés sur agitateur magnétique.

La répartition se fait sous un volume de 5 ml. par flacon type pénicilline de 20 ml. Au moment de l'emploi, le contenu de chaque flacon est reconstitué avec 20 ml. d'eau distillée froide (20 doses vaccinales). Dans ces conditions, le titrage du vaccin par la méthode des dilutions donne un résultat qui se situe au voisinage de 10^9 unités viables par ml.

2 - Test d'immunité :

Le test d'immunité a été réalisé en mettant en contact étroit :

- 11 bovins vaccinés par voie sous-cutanée, à la côte, avec 1 ml de vaccin KH 3J lyophilisé reconstitué (jour J₀)

(x) : Actuellement à Dakar, seul le lait écrémé sec est utilisé comme support de lyophilisation dans la préparation des vaccins lyophilisés contre la péripneumonie bovine.

. 11 bovins inoculés par voie endobronchique (jour $J_0 + 14$) après anesthésie au chloral intraveineux, chaque animal reçoit une injection intra-trachéale administrée à la sonde d'un mélange à parties égales de : broyat de lésions pulmonaires péripneumoniques, de lymphes péripneumoniques, de bouillon cœur-sérum.

. 11 bovins sensibles (témoins non vaccinés).

La mise en contact a eu lieu un mois après la vaccination ($J_0 + 28$), elle a duré 72 jours.

Pour les trois Lots d'animaux, l'évolution sérologique (agglutination sur lame, fixation du complément) a été suivie chaque semaine. Tous les animaux morts ont été soigneusement autopsiés et desensemencés des ganglions trachée-bronchiques effectués. Ne figure dans la présente note que le devenir des animaux vaccinés.

Sur 11 bovins vaccinés en vue de réaliser l'expérience :

. 1 meurt le jour de la mise en contact, sans présenter la moindre atteinte de péripneumonie.

. 5 succombent naturellement dans des temps variables, 4 n'offrent aucune lésion péripneumonique (x); par contre, un animal présente 34 jours après la mise en contact, un séquestre péripneumonique d'où Mycoplasma mycoides est isolé par culture.

. 5 sont sacrifiés en fin d'expérience : sur ces 5 bovins, 4 révèlent à l'autopsie des poumons indemnes de péripneumonie. Par contre le dernier montre deux séquestres péripneumoniques d'où M. mycoides est isolé par culture.

L'évolution de ces animaux est résumée dans le tableau 1.

./.

(x) : La disparition de ces animaux est consécutive aux conditions particulièrement sévères du stress qu'impose le confinement. Ces accidents proviennent du fait qu'à l'achat, les animaux ne sont pas toujours homogènes et que les sujets plus petits, plus faibles, ne peuvent s'alimenter convenablement. Écartés des mangeoires, ils se couchent et meurent après avoir été piétinés.

**Tableau_1 - Evolution des animaux vaccinés (KH 3J lyophilisé)
après la mise en contact.**

Nbre de jours après début expériences	Jo + 28	Jo + 42	Jo + 59	Jo + 71	Jo + 75	Jo + 82	Jo+89	Jo+95	
Nbre de jours après mise en contact	0	14	31	43	47	54	61	67	
0871	+ absence LPB			+					
1519				+ absence LPB					
0885				+ absence LPB					
0883						+ absence LPB			
0887							+ absenc LPB		
0002								+ prése LPB	
0001									sacrifié présence LPB
0900									sacrifié absence LPB
1505									sacrifié absence LPB
0003									sacrifié absence LPB
0896									sacrifié absence LPB

+
présence
LPB : mort présence des lésions de péripneumonie bovine.

Conclusion : L'expérience contact destinée à apprécier la valeur de l'immunité conférée par un vaccin lyophilisé préparé à partir de la souche KH 3J un mois après la vaccination montre :

- 1/- Qu'une immunité certaine s'est développée chez les sujets vaccinés (7 témoins morts de péripneumonie présentent des lésions volumineuses des plus caractéristiques, aucun vacciné n'offre des lésions d'une telle importance).
- 2/- Que cette immunité est loin d'être totale, 2 bovins présentent à l'autopsie effectuée, soit après la mort naturelle, soit après abattage, des séquestres de la grosseur d'une pomme d'où M. Mycoides est isolé par culture. Au contact d'animaux infectants, deux animaux porteurs chroniques ont ainsi été créés.

./.

3/- Que seule la répétition des vaccinations, au moins tous les 6 mois, peut entraîner l'installation d'une immunité valable au sein des troupeaux.

B - VACCIN LYOPHILISÉ PRÉPARÉ À PARTIR DE LA SOUCHE T1 :

1 - Vaccin utilisé :

Il résulte de la lyophilisation d'un mélange à volume égal d'une culture de M. mycoides souche T1 (44ème passage) et de mist dessicans.

Le milieu utilisé est le même que celui employé dans la préparation du vaccin lyophilisé KH 3J. Les conditions de culture sont également identiques, de même le mode de présentation.

Le vaccin reconstitué, titre par la méthode des dilutions, contient environ 10^9 unités viables par ml.

2 - Test d'immunité :

Trois expériences contact ont été réalisées. Elles avaient pour objet de déterminer la valeur de l'immunité :

- . 3 mois après la vaccination,
- . 7 mois et demi après la vaccination,
- . 14 mois après la vaccination.

Ce choix peut paraître curieux, en réalité, il résulte de la difficulté de pouvoir se procurer des animaux, destinés à devenir infectants ou à servir de témoins, à la date voulue. Le protocole initial prévoyait la mise en route des 3 tests : 3 mois, 6 mois et 12 mois après la vaccination.

a) Vaccination du troupeau d'expérience :

50 bovins N'dama ont été vaccinés (1 ml. de vaccin reconstitué inoculé à la côte) et conservés à la ferme de Sangalkam. Ces animaux provenaient du Sénégal Oriental.

À la suite de la vaccination, environ 50 p.100 des animaux ont présenté une réaction locale au point d'inoculation qui ne dépassa jamais la taille de la main. Aucune de ces réactions n'a présenté de caractère envahissant et n'a nécessité une intervention thérapeutique. Ce qui laisse supposer que les N'dama du Sénégal sont moins sensibles à l'inoculation sous-cutanée de la souche T1 que ceux de Côte d'Ivoire (3).

./.

La presque totalité des sujets immunisés a offert une réaction sérologique d'intensité variable selon les individus (2).

b) Valeur de l'immunité 3 mois après la vaccination :

L'expérience a été réalisée en mettant en contact étroit 15 bovins vaccinés depuis 3 mois, 15 témoins sensibles et deux lots successifs d'animaux infectants comprenant respectivement 15 et 12 bovins. Les animaux du premier lot ayant succombé trop rapidement de péripneumonie, une contamination insuffisante était à craindre. L'évolution sérologique de tous les animaux a été, comme à l'ordinaire, suivie chaque semaine. Les observations ont duré pendant 94 jours après la mise en contact. A ce moment tous les bovins survivants ont été sacrifiés.

L'évolution des vaccinés s'est déroulée ainsi : sur 15 animaux vaccinés, 3 ont succombé en cours d'expérience sans que l'examen post-mortem ne révèle la moindre lésion pulmonaire. Les 12 bovins vaccinés survivants ont été sacrifiés (95ème jour) aucun d'eux ne présentait la moindre atteinte pulmonaire et *M. mycoides* n'a pu être isolé d'aucun ganglion trachée-bronchique, Les résultats sont figurés dans le tableau 2.

Tableau 2.- Evolution des animaux vaccinés (T1 lyophilisé), (test d'immunité 3 mois après la vaccination).

Nbre de jours après la mise en contact	0	7	14	21	27	35	42	49	56	63	70	77	Abattage 95
N° des animaux													sacrifié P.I.
25													sacrifié P.I.
24													sacrifié P.I.
9					morts. lésions P.B.								
42							Mort sans lésion P.B.						
83													sacrifié P.I.
10													sacrifié P.I.
79													sacrifié P.I.
11 B													sacrifié P.I.
80													sacrifié P.I.
90													sacrifié P.I.
11													sacrifié P.I.
82													sacrifié P.I.
2													sacrifié P.I.
18 B													sacrifié P.I.
93							Mort sans lésion P.B.						

P.I. : poumon indemne.

Ainsi au bout de 3 mois, l'immunité conférée par le vaccin lyophilisé T1 est totale.

c) Valeur de l'immunité 7 mois et demi après la vaccination :

15 bovins vaccinés ont été utilisés dans cette seconde phase de l'expérience, tes animaux furent groupés avec le même nombre de témoins et d'intubés. Les observations ont été arrêtées 95 jours après le début

de la mise en contact (abattage).

Les 15 bovins vaccinés ont survécu aux conditions sévères du confinement. A l'abattage, ils offraient à l'autopsie un appareil pulmonaire indemne de toute atteinte pulmonaire et *M. mycoides* n'est isolé d'aucun ganglion trachéo-bronchique.

Sept mois et demi après la vaccination à l'aide du vaccin lyophilisé T1, 15 bovins mis en contact pendant 95 jours avec des animaux infectants ont présenté après abattage un appareil pulmonaire intact. Au bout de ce temps, l'immunité conférée par la vaccination est totale.

d) Valeur de l'immunité 14 mois après la vaccination :

Cette troisième phase a groupé 10 bovins vaccinés depuis 14 mois, 10 témoins sensibles et 15 bovins infectants. L'évolution sérologique des animaux a été suivie comme lors des expériences précédentes (2). Les observations ont été arrêtées 96 jours après le début de la mise en contact.

Sur les 10 bovins vaccinés, un est mort de péripneumonie 63 jours après le début de la mise en contact après avoir présenté une évolution sérologique traduisant l'existence de lésions, Les 9 autres ont été sacrifiés après 96 jours de contact infectant, 7 révèlent un appareil pulmonaire indemne, un présente des adhérences pleurétiques au niveau de la paroi costale, leur origine semble fort ancienne et la péripneumonie n'est pas à coup sûr en cause, le dernier offre un séquestre encapsulé de la grosseur d'une noix. Les ganglions trachéobronchiques de ces 9 bovinsensemencés, ne donnent aucune culture de *M. mycoides*. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 - Evolution des animaux vaccinés (T1 lyophilisé) (test d'immunité 14 mois après la vaccination).

Nbr de jours après la mise en contact	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	83	91	Abattage Υ6
N ^o des animaux														P.I.
V519														P.I.
v512														P.I.
V509														P.I.
v533														P.I.
V38 B														P.I.
V513														P.I.
vs31									Prés L.P.B +					
v517														P.I.
V582														séquestre (noix)
V595														P.I.

Ainsi 14 mois après la vaccination, l'immunité n'est pas totale, sur 10 animaux éprouvés, un a succombé de péripneumonie 63 jours après le début de la mise en contact, un présente un séquestre encapsulé minime et les 8 autres peuvent être considérés comme indemnes de toute atteinte de la maladie,

Les résultats qui viennent d'être énoncés permettent de garantir une immunité d'au moins 1 an à la suite de l'immunisation de bovins par le vaccin lyophilisé T1, préparé dans les conditions retenues par le laboratoire de Dakar.

C - VACCIN MIXTE PERIPNEUMONIE - PESTE BOVINE :

Les animaux qui sont actuellement éprouvés ont été vaccinés avec un vaccin mixte péripneumonie bovine, (souche 51 streptomycino-résistante fournie par le Laboratoire du siège central de l'I.E.M.V.T.) peste bovine (souche RP OK BK 65).

./.

Le vaccin est préparé en ajoutant à 9 parties d'une culture de 3 jours de M. mycoides, obtenue dans les conditions précédemment décrites, 1 partie d'une suspension de virus vaccinal cultivé sur épithélium rénal d'embryon de veau. Le lait écrémé sec est utilisé comme support de lyophilisation.

La répartition se fait sous un volume de 5 ml par flacon type pénicilline de 20 ml. La reconstitution est effectuée au moment de l'emploi avec 40 ml d'eau distillée froide (40 doses vaccinales). Dans ces conditions, le titrage du vaccin par la méthode des dilutions donne entre 10⁸ et 10^{8,5} unités viables de M. mycoides par ml. et 10^{3,5} DICT 50 unités virales vaccinales par ml. (minimum reconnu : 10^{2,5} DICT 50).

L'expérience en cours rassemble 15 bovins vaccinés avec le vaccin mixte décrit ci-dessus, 15 bovins vaccinés avec la souche T1 streptomycino-résistante, 15 bovins sensibles et 18 bovins infectants. Elle durera environ 3 mois.

CONCLUSION GENERALE :

Les résultats obtenus au cours des expériences décrites ci-dessus ont amené le Laboratoire de Dakar à recommander l'emploi du vaccin lyophilisé T1 dans la vaccination des troupeaux de l'Ouest africain. Aucune réaction vaccinale locale de caractère envahissant n'a jamais, jusqu'à ce jour, été rencontrée sur les zébus, les taurins (N'dama) ou métis taurin du Sénégal ou de Guinée. En Côte d'Ivoire, par contre, il semble qu'un faible pourcentage d'animaux vaccinés ait développé une réaction willemsienne au point d'inoculation nécessitant une intervention thérapeutique (3). Il convient donc de retenir comme impérative la nécessité de toujours contrôler sur un nombre restreint d'animaux la possibilité de réaction post-vaccinale au point d'inoculation avant d'utiliser la souche T1 dans une campagne généralisée et ceci tout particulièrement avec les taurins. Néanmoins, il apparaît que la garantie d'immunité que procure cette souche constitue un avantage considérable qu'illustre le chiffre des commandes passées par les utilisateurs ces deux dernières années :

	<u>1968</u>	<u>1969</u>	<u>1970</u>	<u>1971</u>
Sénégal	-	507.980	1.477.920	
Mauritanie	-	-	800.000	
Côte d'Ivoire	43.600	152.000	11.520	
Guinée	16.200	-		
Niger	225.000	-		
Haute Volta	-	285.000	212.000	
Dahomey	-	-	82.500	
Liberia	-		2.000	
Zambie				200.000

REFERENCES/ (1) DOUTRE, (M.P.)-Bull. Off. int. Epiz., 1969, 72, 103-129.

(2) DOUTRE, (M.P.) et CHAMBRON (J.)- Rev. Elev. Méd. vét. Pays Trop. 1970, 23, (2), 163-179.

(3) LINDLEY, (P.), - com. pers.