

Valeur de l'immunité conférée par un vaccin antipéri-pneumonique lyophilisé préparé à l'aide de la souche T₁

par M. P. DOUTRE et J. CHAMBRON

RESUME

Au cours des années 1968 et 1969, une série d'épreuves tendant à apprécier la valeur de l'immunité conférée par un vaccin lyophilisé préparé à l'aide de la souche T₁ (44^e passage) a été effectuée au Laboratoire de Dakar. La méthode dite de contact, mise au point par les chercheurs australiens, a été retenue. Trois mois et sept mois et demi après la vaccination, l'immunité est totale; quatorze mois après l'immunisation, elle est encore de 90 p. 100. Dans ces conditions, une période de protection minimale de un an peut être garantie.

A la suite des recommandations de la Conférence des Experts de la péri-pneumonie bovine tenue à Khartoum en février 1967, et des possibilités de mise au point 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 et 1969 une série d'expériences destinées à apprécier la valeur de l'immunité conférée par différents vaccins lyophilisés. Un premier travail concernant la souche KH₃J (86^e passage) a déjà fait l'objet d'une précédente publication (8). Le présent article se propose de rapporter les résultats obtenus avec un vaccin préparé à l'aide de la souche T₁ (44^e passage). Les épreuves ont eu lieu respectivement trois mois, sept mois et demi et quatorze mois après la vaccination. Ces temps correspondent à la période s'écoulant entre la date de la vaccination et la mise en contact d'un lot de vaccinés avec des bovins infectants et témoins. Les animaux utilisés appartenaient à la race Ndama, race bovine africaine particulièrement sensible à la péri-pneumonie. Ils provenaient de régions indemnes de péri-

pneumonie depuis de nombreuses années et n'avaient jamais été vaccinés.

1. VACCIN UTILISE

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

La composition du milieu de culture résulte des travaux effectués au Laboratoire de Fort-Lamy (milieu F 66, rapport présenté par A. PROVOST à la 3^e Réunion des Experts sur la péri-pneumonie bovine F.A.O./O.I.E./O.A.U. tenue à Khartoum en février 1967 (13) et de ceux des chercheurs australiens du C.S.I.R.O.

Quelques modifications ont été apportées; elles portent sur la suppression de l'acide palmitique pratiquement insoluble même dans une

(*) Actuellement, à Dakar, seul le lait écrémé sec est utilisé comme support de lyophilisation dans la préparation des vaccins lyophilisés contre la péri-pneumonie bovine.

solution de soude 0,1 M, et sur la préparation et la quantité d'extrait frais de levure ajouté :

— macération de cœur : on provoque la macération pendant une heure dans un litre d'eau à 50° C de 500 g de hachis de cœur de bœuf dégraissé, puis on porte à ébullition. Filtration à chaud sur papier. On ajoute par litre : 10 g de tryptose (Difco), 2 g de glucose et 2,5 g de phosphate disodique. On chauffe à 80° C; filtration à chaud.

— addition de :

Glycérol	0,3 g/l
Acide oléique	15 mg
Extrait frais de levure	100 ml
Sérum de cheval décomplémenté	100 ml
Pénicilline	1.000.000 unités

Le pH est amené à 8,1 avec une solution de soude 10 M. L'acide oléique est mélangé à 5 ml de soude 0,1 M; le gel formé est dissout par agitation magnétique.

— extrait de levure : l'extrait de levure préparé extemporanément présente des qualités supérieures aux produits correspondants que l'on trouve dans le commerce. La technique de préparation retenue est la suivante (I.E.M.V.T.-laboratoire de microbiologie) :

- mettre en suspension homogène 1 kg de levure fraîche de boulangerie dans un litre d'eau distillée en présence de 8 ml de chloroforme;
- laisser au bain-marie 24 heures à 50° C en agitant de temps en temps; centrifuger et recueillir un premier surnageant que l'on conserve au froid;
- reprendre les culots dans un litre d'eau distillée et les soumettre à quatre cycles gel-dégel;
- centrifuger à nouveau et recueillir le deuxième surnageant;
- mélanger les deux surnageants;
- filtrer sur filtre Seitz EKS 1, conservation à — 20° C.

Pour la préparation du vaccin, on utilise une culture de 72 heures à 37° C. Au cours des dernières 24 heures, 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 stérile froide (20 doses vaccinales). Dans ces conditions, le titrage des vaccins par la méthode des dilutions donne un minimum de 10⁹ unités viables par ml. Ce titre est égal à celui des meilleurs lots de vaccin-culture mesuré au moment de leur conditionnement.

2. VACCINATION DES ANIMAUX

Le 10 juillet 1968, 50 bovins Ndama ont été vaccinés (1 ml de vaccin reconstitué, inoculé à la côte) et conservés à la ferme de Sangalkam. Ils ont donné lieu à la constitution de trois lots, utilisés respectivement 3 mois, 7 mois et demi et 14 mois après la vaccination.

A 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. La presque totalité des sujets immunisés a offert une réaction sérologique (déviations du complément Kolmer) d'intensité variable selon les sujets. A titre indicatif, le tableau 1 indique l'évolution sérologique post-vaccinale des animaux vaccinés ayant été utilisés lors de la première phase de l'expérience (immunité 3 mois). On peut voir que le n° 25 qui n'a présenté aucune réaction locale fixe le complément au 1/160, 28 jours après la vaccination.

3. EPREUVE D'IMMUNITÉ

a) Principe de la méthode

Les animaux vaccinés ont été éprouvés en utilisant la méthode de mise en contact étroit décrite par les auteurs australiens. Cette technique consiste à mettre en présence, dans une enceinte close de volume restreint, un lot d'animaux vaccinés, un lot d'animaux témoins non vaccinés et un lot de bovins infectés expérimentalement par voie endobronchique. Pour que l'expérience soit concluante, dans l'absolu, il convient qu'en fin d'expérience les bovins intubés et les témoins non vaccinés succombent de péripneumonie alors que les animaux vaccinés résistent et présentent à l'autopsie un appareil pulmonaire indemne de toute atteinte péripneumonique.

Tableau n° 1 - Sérologie post-vaccinale des animaux vaccinés avec T₁ avant la mise en contact (déviations du complément Kolmer)

N° des animaux	Vaccination J ₀	J ₀ + 13	J ₀ + 20	J ₀ + 28	J ₀ + 41	Réaction locale au point d'inoculation
25	-	1/5	1/40	1/160	1/80	-
24	-	1/5	1/40	1/40	1/20	-
9	-	-	-	-	-	-
42	-	1/10	1/10	1/20	1/10	-
83	-	-	-	-	-	-
10	-	1/10	1/10	-	-	-
79	-	1/5	1/20	1/10	1/5	-
11 B	-	1/5	1/10	1/10	1/5	+++ (taille de la main)
80	-	1/10	1/80	1/160	1/320	+++
90	-	1/10	1/40	1/160	1/160	+++
11	-	1/10	1/40	1/80	1/20	+++
82	-	1/10	1/40	1/10	1/10	++
2	-	1/5	1/5	1/5	-	++
18 B	-	-	1/10	1/20	1/10	+++
93	-	1/5	1/10	1/5	-	+++

b) Bâtiment

En tenant compte des dimensions relatives du bâtiment construit par les chercheurs austro-allemands du C.S.I.R.O., une étable a été spécialement aménagée dans la ferme annexe du Laboratoire à Sangalkam pour réaliser les épreuves d'immunité par la méthode de contact. Actuellement, ses dimensions sont les suivantes :

- longueur : 10 m
- largeur : 10 m
- hauteur : 3 m

Pour assurer l'alimentation des animaux, quatre mangeoires de 5 m de long sont placées de chaque côté. Le foin stocké sur le faux-plafond en planches est directement descendu dans les mangeoires grâce à des trappes aménagées à cet effet.

L'aération est assurée par onze ouvertures de 1 m × 0,50 m, situées à 2,35 m du sol.

A l'extérieur, un parc de 120 m² pourvu d'un abreuvoir permet de sortir les animaux chaque matin pendant environ une demi-heure.

Une fois par semaine, lors des prises de sang, ce temps est prolongé de deux ou trois heures.

c) Alimentation des animaux

Au cours des différentes épreuves, les bovins ont été alimentés suivant la saison et les disponibilités avec :

- soit du foin et de la paille naturels;
- soit du maïs fourrager;
- soit du sorgho ensilé (*S. vulgare*);
- soit un concentré en granulés constitué par des sons de froment, de sorgho et de maïs;
- ou un aliment composé, préparé au Laboratoire, comprenant des coques d'arachide mélassées à 20 p. 100 auxquelles sont adjoints de la farine de riz et du son de maïs (*).

(*) CALVET (H.), VALENZA (J.) et BOUDERGUES (R.). Coque d'arachide et alimentation du bétail Colloque OCAM sur l'Élevage, Fort-Lamy, 8-13 décembre 1969, CE-FL n° 15, sect. 4-3.

VALENZA (J.), CALVET (H.), BOUDERGUES (R.) et ORUE (J.). Essais d'embouche intensive de zébus peulh sénégalais (Gobra). Colloque OCAM sur l'Élevage, Fort-Lamy, 8-13 décembre 1969, CE-FL n° 19, sect. 4-1.

A. VALEUR DE L'IMMUNITÉ TROIS MOIS APRES LA VACCINATION

1. Intubation des animaux destinés à devenir infectants

Inoculum

Après anesthésie en chloral intraveineux, chaque animal reçoit une injection intratrachéale administrée à la sonde, suivant la technique devenue classique, de 20 ml d'un mélange à parties égales de :

- broyat de lésions pulmonaires péripneumoniques,
- lymphé péripneumonique,
- bouillon cœur sérum (milieu F 66 modifié).

Les lésions pulmonaires et la lymphé péripneumonique sont récoltées auparavant sur un malade sacrifié sur le terrain au dernier stade de la maladie, et conservées jusqu'au moment de l'emploi à — 20° C.

Un isolement de *M. mycoides* à partir des lésions pulmonaires et de la lymphé est effectué au moment de la préparation de l'inoculum pour confirmer la qualité du matériel utilisé.

Pour la première phase de l'expérimentation, deux lots d'animaux ont été successivement rendus infectants. En effet, la mortalité très rapide des animaux du premier lot a fait craindre la possibilité d'une mauvaise contamination des témoins et des vaccinés. Un second lot de bovins infectants a donc été préparé. Ces animaux ont été introduits 21 jours après le début de la mise en contact; il ne restait alors plus que trois bovins infectants survivants du premier lot.

N ^{os} des bovins infectants du 1 ^{er} lot (15 bovins)	13, 88, 32, 44, 36, 29, 14, 26, 56, 23, 57, 15, 18, 76, 95
--	--

N ^{os} des bovins infectants du 1 ^{er} lot (12 bovins)	702, 709, 710, 721, 722, 724, 715, 34, 717, 716, 711, 718
--	---

2. Mise en contact étroit des animaux vaccinés, des témoins non vaccinés et des intubés

Trois mois après la vaccination, quinze bovins vaccinés ont été groupés avec quinze bovins infectants (1^{er} lot) en présence de quinze

témoins (n^{os} 75, 43, 38, 40, 22, 31, 50, 3, 63 B, 41, 5 B, 4, 91, 20, 74). Le deuxième lot de bovins infectants a été introduit dans l'étable expérimentale 21 jours après le début de la mise en contact.

3. Evolution des animaux

Les observations s'arrêtent 94 jours après le début de la mise en contact.

a) *Evolution des animaux infectants*

Seule l'évolution sérologique est rapportée dans les tableaux qui suivent. Le devenir des anticorps fixant le complément a été suivi par la méthode de KOLMER. La recherche de l'antigène circulant a été 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, merthiolaté à 0,04 p. 100). Le sérum anti-*M. mycoides* a été préparé par hyperimmunisation de moutons.

Les résultats obtenus figurent dans les tableaux 2, 3, 4 et 5 (1^{er} et 2^e lots d'animaux infectants). En matière de déviation du complément, seules les réactions ++++ ont été retenues.

Sur 27 bovins infectés par voie endobronchique, 23 ont succombé en présentant à l'autopsie des lésions péripneumoniques et 4 ont été sacrifiés en fin d'expérience. Le maximum des mortalités dues à la maladie expérimentale se situe vers le 20^e jour qui suit l'intubation. Chez les survivants, la présence de séquestres encapsulés a été constatée chez deux sujets (76 et 724). Le poumon était totalement indemne chez les deux autres (13 et 36). Le 36 fixait le complément à un taux élevé; de plus l'antigène circulant a été décelé entre le 35^e et le 75^e jour. Ces deux animaux, sérologiquement négatifs au départ, présentaient une immunité certaine. Dans ce cas, l'évolution sérologique ne semble traduire que la réaction de l'organisme à l'introduction d'une substance antigénique étrangère en quantité importante.

b) *Evolution des témoins*

L'évolution sérologique fait l'objet des tableaux 6 et 7 (déviation du complément, recherche de l'antigène circulant).

Sur 15 témoins, 11 sont morts de péripneumonie bovine entre le 35^e et le 63^e jour

Tableau 2 - Evolution sérologique des animaux intubés du premier lot
(Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après l'intubation	7	13	21	28	35	41	49	56	63	70	77	84	91	Abattage 109
N° des animaux														
13	1/10	1/320	1/320	1/160	1/80	1/40	1/40	1/40	1/10	1/10	1/5	1/5	1/5	Absence lésion péripneumonique
88	1/20	1/160	1/320	L.P.B. +										
32	1/40	L.P.B. +												
44	-	1/320	L.P.B. +											
36	1/5	1/80	1/320	1/640	1/320	1/80	1/80	1/80	1/40	1/20	1/20	1/20	1/20	Absence lésion péripneumonique
29	-	1/80	L.P.B. +											
14	1/5	1/40	L.P.B. +											
26	-	1/80	L.P.B. +											
56	-	1/40	L.P.B. +											
23	1/40	L.P.B. +												
57	-	1/320	L.P.B. +											
15	1/5	1/80	1/160	L.P.B. +										
18	-	1/80	L.P.B. +											
76	-	1/80	1/160	1/320	1/160	1/160	1/80	1/40	1/40	1/40	1/20	1/20	1/20	Gros séquestre péripneumonique
95	1/10	1/160	L.P.B. +											

L.P.B.
+ : mort avec lésions péripneumoniques

Tableau 3 - Evolution sérologique des animaux intubés du premier lot
(Antigène circulant décelé par précipito-diffusion en boîte de Pétri)

Nombre de jours après l'intubation	7	13	21	28	35	41	49	56	63	70	77	84	91
N° des animaux													
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	-	-	+	L.P.B. +									
32	+	L.P.B. +											
44	-	+	L.P.B. +										
36	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
29	-	+	L.P.B. +										
14	-	-	L.P.B. +										
26	-	-	L.P.B. +										
56	-	-	L.P.B. +										
23	+	L.P.B. +											
57	-	-	L.P.B. +										
15	-	-	+	L.P.B. +									
18	-	-	L.P.B. +										
76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
95	-	-	L.P.B. +										

L.P.B.
+ : Mort avec lésion de péripneumonie

+ : Présence d'antigène circulant

Tableau 4 - Evolution sérologique des animaux intubés du deuxième lot
(Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après intubation	0	7	10	16	24	31	38	45	52	59	66	Abattage 84
N° des animaux												
702	-	1/10	1/10	1/10	1/160	L.P.B. +						
709	-	1/80	1/80	L.P.B. +								
710	-	1/5	1/20	1/80	L.P.B. +							
721	-	1/5	1/20	1/80	1/320	1/160	1/160	L.P.B. +				
722	-	1/5	1/10	1/20	1/80	1/160	L.P.B. +					
724	-	-	1/20	1/40	1/160	1/80	1/40	1/10	1/10	1/10	1/10	Séquestre péri pneumonique
715	1/5	1/10	1/20	1/40	L.P.B. +							
34	-	1/20	1/160	L.P.B. +								
717	-	1/20	1/40	L.P.B. +								
716	-	1/5	1/5	1/40	L.P.B. +							
711	-	1/20	1/80	L.P.B. +								
718	-	1/5	1/40	1/160	L.P.B. +							

L.P.B.
+ : mort avec lésions péripneumoniques

Tableau 5 - Evolution sérologique des animaux intubés du deuxième lot
(Antigène circulant décelé par précipito-diffusion en boîte de Pétri)

Nombre de jours après intubation	0	7	10	16	24	31	38	45	52	59	66
N° des animaux											
702	-	-	-	+	+	L.P.B. +					
709	-	-	+	L.P.B. +							
710	-	-	-	-	L.P.B. +						
721	-	-	-	-	+	+	+	L.P.B. +			
722	-	-	-	-	-	+	L.P.B. +				
724	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
715	-	-	-	+	L.P.B. +						
34	-	-	-	L.P.B. +							
717	-	-	-	L.P.B. +							
716	-	-	-	+	L.P.B. +						
711	-	-	+	L.P.B. +							
718	-	-	-	+	L.P.B. +						

L.P.B.
+ : mort avec lésions péripneumoniques

Tableau n° 6 - Evolution sérologique des animaux témoins après la mise en contact (Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après la mise en contact	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	Abattage 95
N° des animaux 75	-	-	-	-	-	1/40	1/40	L.P.B. +				
43	-	1/10	1/10	1/20	1/40	1/20	1/10	1/10	1/10	1/20	1/20	Séquestre péri-pneumonique
38	-	-	-	-	1/5	1/5	1/40	1/80	1/320	1/640	1/320	Lésion péripneumonique imp.
40	-	-	-	-	1/40	1/160	1/160	1/160	1/320	1/160	1/160	2 séquestres péri-pneumoniques
22	-	-	-	-	L.P.B. +							
31	-	-	-	-	1/5	1/10	1/10	1/160	L.P.B. +			
50	-	-	-	1/5	1/80	1/160	L.P.B. +					
3	-	-	1/5	1/5	L.P.B. +							
63 B	-	-	1/5	1/5	1/5	1/5	L.P.B. +					
41	-	-	-	-	1/40	1/80	1/160	L.P.B. +				
5 B	-	-	-	-	1/10	L.P.B. +						
4	-	-	-	-	1/20	1/40	1/80	1/160	1/160	1/160	1/80	Séquestre péri-pneumonique
91	-	-	-	-	1/320	1/160	1/160	L.P.B. +				
20	-	-	-	-	1/20	1/20	1/80	L.P.B. +				
74	-	-	-	-	1/80	1/160	L.P.B. +					

L.P.B.
+ = mort avec lésions péripneumoniques.

Tableau 7 - Evolution sérologique des animaux témoins après la mise en contact
(Antigène circulant décelé par précipito-diffusion en boîte de Pétri)

Nombre de jours après la mise en contact	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77
N° des animaux											
75	-	-	-	-	-	-	-	Mort			
43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	+	Mort						
31	-	-	-	-	-	-	+	+	Mort		
50	-	-	-	-	-	+	Mort				
3	-	-	-	-	Mort						
63 B	-	-	-	-	-	-	Mort				
41	-	-	-	-	-	-	-	Mort			
5 B	-	-	-	-	-	Mort					
4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
91	-	-	-	-	-	-	-	Mort			
20	-	-	-	-	-	+	+	Mort			
74	-	-	-	-	-	-	Mort				

Tableau 8 - Evolution sérologique des animaux vaccinés après la mise en contact
(Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après la mise en contact	0	7	14	21	27	35	42	49	56	63	70	77	Abatlage 95
N° des animaux													
25	-	1/10	1/10	1/10	1/10	1/20	1/10	1/10	-	-	-	-	P.I.
24	-	-	-	-	1/5	1/5	1/5	-	-	-	-	-	P.I.
9	-	-	-	-	Mort sans lésion P.B								
42	1/5	1/5	1/5	1/5	-	-	Mort sans lésion P.B						
83	-	1/5	1/5	1/10	1/80	1/80	1/40	1/20	1/10	1/5	1/5	1/10	P.I.
10	-	-	-	-	1/5	1/5	1/5	1/10	-	-	-	1/5	P.I.
79	-	-	-	-	-	1/10	1/10	1/10	-	-	1/5	1/10	P.I.
11 B	-	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	-	-	-	-	-	-	P.I.
80	-	-	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	-	-	-	-	P.I.
90	1/5	1/20	1/20	1/20	1/10	1/10	1/5	1/5	-	-	-	-	P.I.
11	-	-	1/5	1/5	1/5	1/5	-	-	-	-	-	-	P.I.
82	-	-	-	-	-	1/5	-	-	-	-	1/5	1/5	P.I.
2	-	-	-	-	-	-	-	1/5	-	-	-	-	P.I.
18 B	-	-	-	-	1/5	1/40	1/40	1/80	1/40	1/20	1/20	1/20	P.I.
93	-	-	-	-	-	-	-	Mort sans lésion P.B					

P.I. : Pouron indemne

qui suivirent la mise en contact. Les 4 survivants ont été sacrifiés au 95^e jour; trois (43, 38 et 40) montraient des séquestres encapsulés, un (38) une lésion évolutive englobant la totalité d'un lobe pulmonaire.

c) *Evolution des animaux vaccinés*

L'évolution sérologique (déviations du complément) fait l'objet du tableau 8.

Sur 15 animaux vaccinés, trois (9, 42, 93) ont succombé en cours d'expérience sans que l'examen post-mortem ne révèle la moindre lésion pulmonaire. La mort de ces animaux peut s'expliquer par le fait que, dans les conditions difficiles imposées par le confinement, des différences de taille et de vitalité empêchent certains sujets d'atteindre les mangeoires et de s'alimenter normalement. La cachexie s'installe et la mort survient par épuisement.

Les 12 bovins vaccinés survivants ont été sacrifiés 95 jours après la mise en contact avec les animaux infectants. Aucun d'eux ne présentait la moindre atteinte pulmonaire et *M. mycoides* n'a pu être isolé d'aucun ganglion trachéo-bronchique.

Sur le plan sérologique, la presque totalité des animaux vaccinés a présenté une montée d'anticorps fixant le complément au cours du contact avec les animaux infectés expérimentalement et les témoins en cours d'infection. Cette évolution traduit l'existence d'un stimulus antigénique certain qui ne va pas, grâce à l'immunité existante, jusqu'au développement de lésion pulmonaire.

CONCLUSION

A la suite d'une expérience contact réalisée trois mois après la vaccination avec 15 bovins vaccinés à l'aide d'un vaccin lyophilisé préparé avec la souche T₁ (44^e passage), trois bovins ont succombé pour des raisons étrangères à la péripneumonie bovine; les douze survivants, sacrifiés 95 jours après le début de la mise en contact, on présenté à l'autopsie un appareil pulmonaire indemne de toute atteinte péripneumonique. Ce résultat a été observé à la fois chez des animaux qui avaient offert une réaction locale post-vaccinale au point d'inoculation et chez des individus où aucune réaction locale n'avait été enregistrée. Ainsi, trois

mois après la vaccination avec le vaccin T₁ lyophilisé, l'immunité conférée est totale.

B. VALEUR DE L'IMMUNITÉ SEPT MOIS ET DEMI APRÈS LA VACCINATION

La seconde phase de l'expérience débute en mars 1969. Lors de la mise en contact, les animaux immunisés, éprouvés, ont été vaccinés depuis 7 mois et demi.

1. Intubation des animaux destinés à devenir infectants

L'opération est effectuée comme précédemment. Elle porte sur 15 bovins: n^{os} I 170, I 171, I 167, I 165, I 162, I 189, I 174, I 169, I 175, I 160, I 177, I 161, I 164, I 188, I 196.

L'inoculum est préparé à partir de lésions péripneumoniques recueillies sur un animal malade, abattu sur le terrain une semaine plus tôt.

2. Mise en contact étroit des animaux vaccinés, des témoins non vaccinés et des intubés

Quinze bovins vaccinés sont prélevés dans le troupeau immunisé. Ce sont les n^{os} V 255 R, V 66 B, V 75 B, V 69 B, V 19 B, V 32 B, V 80 B, V 39, V 253 R, V 99 B, V 17 B, V 254 R, V 64, V 43 B.

Les 15 animaux témoins portent les n^{os}: T 183, T 168, T 139, T 199, T 179, T 181, T 186, T 190, T 187, T 185, T 149, T 166, T 163, T 1158 et T 176.

3. Evolution des animaux

Les observations s'arrêtent 95 jours après le début de la mise en contact (abattage).

a) *Evolution des animaux infectants*

L'évolution sérologique (déviations du complément Kolmer) est rapportée dans le tableau 9.

Sur les 15 animaux infectés expérimentalement, 8 ont succombé en présentant des lésions typiques de péripneumonie entre le 22^e et le 64^e jour à compter du jour de l'intubation. Les

Tableau n° 9 - Evolution sérologique des animaux intubés (Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après intubation	8	14	22	29	36	43	50	57	64	71	78	85	92	99	Abattage 110
N° des animaux 1 170	1/5	1/5	1/10	L.P.B. +											
1 171	1/40	1/80	1/160	L.P.B. +											
1 167	1/5	1/40	1/80	1/320	1/160	1/80	1/40	1/160	L.P.B. +						
1 165	1/10	1/10	1/320	1/320	1/320	1/640	1/160	1/80	1/40	1/80	1/80	1/80	1/80	1/40	Séquestre péripneumonique (noix)
1 162	1/10	1/10	-	-	-	-	-	1/10	L.P.B. +						
1 189	-	1/160	L.P.B. +												
1 174	1/20	1/20	-	-	1/10	-	-	-	1/40	1/20	1/320	1/160	1/160	1/80	Séquestre péripneumonique (noix)
1 169	1/10	1/80	1/160	1/320	1/320	1/160	1/80	1/160	1/80	1/40	1/80	1/160	1/40	1/40	Séquestre péripneumonique (orange)
1 175	1/5	1/20	1/40	1/160	1/80	1/80	1/40	1/40	1/40	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	Séquestre péripneumonique (orange)
1 160	1/20	1/20	1/80	1/80	1/80	1/20	1/20	1/20	1/20	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	Séquestre péripneumonique (noix)
1 177	1/5	1/40	1/160	1/320	1/640	L.P.B. +									
1 161	1/10	1/80	1/160	1/320	1/160	1/80	1/40	1/40	1/40	1/20	1/80	1/40	1/40	1/20	Séquestre péripneumonique volumineux
1 164	1/20	1/20	1/40	L.P.B. +											
1 188	1/10	1/80	1/160	1/640	1/640	1/320	1/160	1/160	1/160	1/80	1/80	1/40	1/40	1/40	Séquestre péripneumonique volumineux
1 196	1/20	1/80	L.P.B. +												

L.P.B.
+ = mort avec lésions péripneumoniques

7 autres, abattus 110 jours après l'infection endobronchique, offraient des séquestres pulmonaires de taille variable (tableau 9).

b) Evolution des témoins

L'évolution sérologique de ces animaux fait l'objet du tableau 10.

Sur 15 témoins, 10 ont succombé en montrant à l'autopsie des lésions typiques de péri-

pneumonie. Les morts s'étalent entre le 28^e et le 84^e jour suivant le début de la mise en contact; un maximum est observé autour du 56^e jour.

Les 5 témoins survivants sont sacrifiés 95 jours après le début de l'expérience: un présente un poumon indemne (T.168), les quatre autres des séquestres péripleuriques de taille variable (tableau 10).

Tableau 10 - Evolution sérologique des animaux témoins après la mise en contact (Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après la mise en contact	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	abattage 95
N° des animaux													
T 183	-	-	-	-	-	-	1/40	1/40	1/40	1/40	1/40	1/20	Séquestre péripleurique (noix)
T 168	-	-	-	1/5	-	1/5	1/10	-	1/10	-	1/10	-	Absence de lésions
T 139	-	-	-	-	-	-	1/20	1/80	1/160	1/80	1/80	1/20	Séquestre péripleurique volumineux
T 199	-	-	-	-	-	1/10	1/5	-	1/40	1/160	1/160	L.P.B. +	
T 179	-	-	-	-	-	-	1/40	L.P.B. +					
T 181	-	-	-	-	-	1/5	1/20	1/80	1/160	1/160	1/160	1/40	Séquestre péripleurique (noix)
T 186	-	-	1/5	1/20	1/40	L.P.B. +							
T 190	-	-	-	-	-	-	-	1/40	1/160	L.P.B. +			
T 187	-	-	-	-	1/10	1/40	1/40	1/40	1/40	1/40	1/40	1/20	Séquestre péripleurique (orange)
T 185	-	-	-	-	-	-	1/10	L.P.B. +					
T 149	-	-	-	-	1/20	L.P.B. +							
T 166	-	-	1/5	-	-	1/10	1/40	L.P.B. +					
T 163	-	-	-	-	-	1/5	1/40	L.P.B. +					
T 1155	-	-	1/20	S.L.P.B. +									
T 176	-	-	1/5	-	-	1/5	1/40	1/160	1/160	L.P.B. +			

L.P.B.
+ : Mort avec lésions péripleuriques

S.L.P.B.
+ : Mort sans lésion péripleurique

c) Evolution des animaux vaccinés

Les 15 bovins vaccinés ont survécu aux conditions sévères du confinement. Abattus 95 jours après le commencement de l'épreuve, ils offrent à l'autopsie un appareil pulmonaire indemne de toute atteinte pulmonaire et *M. mycoides* n'est isolé d'aucun ganglion trachéo-bronchique. L'évolution sérologique figure dans le tableau 11.

CONCLUSION

Sept mois et demi après la vaccination à l'aide du vaccin lyophilisé T₁, quinze 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.

Tableau 11 - Evolution sérologique des animaux vaccinés après la mise en contact (Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après la mise en contact	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	Abattage 95
N° des animaux													
V 255 R	-	-	-	-	-	-	-	-	1/5	-	1/10	-	P.I.
V 66 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P.I.
V 75 B	-	-	-	-	-	-	1/10	-	-	-	-	-	P.I.
V 69 B	-	-	1/5	-	-	-	-	-	1/10	-	-	-	P.I.
V 19 B	-	-	-	-	-	-	-	-	1/10	-	-	-	P.I.
V 32 B	-	-	1/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P.I.
V 80 B	-	-	-	-	-	1/20	1/5	-	1/5	-	-	-	P.I.
V 39	-	-	1/5	-	-	-	-	-	1/10	-	1/5	-	P.I.
V 253 R	-	-	-	-	-	-	-	-	1/5	-	-	-	P.I.
V 99 B	-	-	-	-	-	-	1/5	-	-	1/10	-	-	P.I.
V 17 B	-	-	-	-	-	-	-	-	1/5	-	1/5	-	P.I.
V 254 R	-	-	-	-	-	-	1/5	-	-	-	1/5	-	P.I.
V 64	1/10	1/5	1/10	1/5	-	-	1/5	-	1/10	1/10	1/10	-	P.I.
V 94	-	1/10	1/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P.I.
V 43 B	-	-	-	-	-	-	-	-	1/10	-	-	-	P.I.

P.I. : Poumon indemne

C. VALEUR DE L'IMMUNITE QUATORZE MOIS APRES LA VACCINATION

La troisième phase de l'expérience débute en septembre 1969. Lors de la mise en contact, les animaux immunisés, éprouvés, ont été vaccinés depuis 14 mois. Il était prévu, à l'origine, d'effectuer l'épreuve deux mois plus tôt (test d'immunité un an après la vaccination). La difficulté de se procurer des animaux pendant la saison des pluies est responsable du changement apporté au protocole.

1. Intubation des animaux destinés à devenir infectants

L'inoculum est préparé à partir des lésions péripneumoniques recueillies sur un animal malade, abattu en brousse (Nioro du Rip) une semaine avant l'opération.

Cette dernière porte sur 15 bovins : n°s I 08, I 87, I 41, I 57, I 45, I 73, I 47, I 31, I 24, I 58, I 97, I 85, I 22, I 40, I 51.

2. Mise en contact étroit des animaux vaccinés, des témoins non vaccinés et des intubés

Les 10 bovins restants du troupeau immunisé sont utilisés (à l'origine 50 bovins avaient été vaccinés, 30 ont été prélevés pour les deux premières expériences, 10 ont donc disparu pendant les 14 mois d'entretien pour des raisons diverses). Ce sont les n°s V 519, V 512, V 509, V 533, V 38 B, V 513, V 581, V 517, V 582, V 595.

Les dix animaux témoins portent les N°s : T 509, T 520, T 526, T 516, T 532, T 518, T 528, T 504, T 523, T 527.

3. Evolution des animaux

Les observations s'arrêtent 96 jours après le début de la mise en contact (abattage).

a) Evolution des animaux infectants

L'évolution sérologique est rapportée dans les tableaux 12 (déviations du complément Kolmer) et 13 (antigène circulant). Des précipitines

Tableau 12 - Evolution sérologique des animaux intubés
(Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après intubation	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
N° des animaux												
I 08	-	1/10	1/160	L.P.B +								
I 87	-	1/10	1/160	1/80	1/80	1/10	1/10	S.P. +				
I 41	-	1/5	1/320	1/640	1/640	1/320	1/40	1/20	L.P.B			
I 57	-	1/5	1/160	L.P.B +								
I 45	-	1/10	1/10	1/80	1/160	1/160	1/160	L.P.B +				
I 73	-	1/5	1/40	L.P.B +								
I 47	-	1/10	1/160	L.P.B +								
I 31	1/5	1/10	1/320	1/320	L.P.B +							
I 24	1/5	1/5	1/10	1/320	1/320	1/640	1/640	L.P.B +				
I 58	1/5	1/10	1/10	1/10	1/20	1/80	1/640	1/320	L.P.B +			
I 97	1/5	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/40	1/10	1/10	1/10	1/10	S.P. +
I 85	1/5	1/5	1/5	1/40	1/80	L.P.B +						
I 22	-	1/20	C.P. +									
I 40	1/5	C.P. +										
I 51	-	C.P. +										

C.P. : Mort, congestion pulmonaire
+
S.P. : Mort, séquestre péripleurmonique
+
L.P.B. : Mort, lésion péripleurmonique
+



Etat du troupeau d'expérience (3^e phase : immunité 14 mois) 56 jours après le début de la mise en contact. A cette date, il restait un bovin infectant, 5 témoins et les 10 bovins vaccinés.

Tableau 13 - Evolution sérologique des animaux intubés
(Antigène circulant décelé par précipito-diffusion en boîte de Pétri)

Nombre de jours après intubation	7	14	21	26	35	42	49	56	63	77	84
N° des animaux											
I 08	-	-	L.P.B +								
I 87	-	-	-	-	-	-	-	S.P +			
I 41	-	-	+	+	+	+	+	+	L.P.B +		
I 57	-	-	+	L.P.B +							
I 45	-	-	-	-	+	+	+	L.P.B +			
I 73	-	-	+	L.P.B +							
I 47	-	-	+	L.P.B. +							
I 31	-	-	+	+	L.P.B +						
I 24	-	-	-	-	-	+	+	L.P.B +			
I 58	-	-	-	-	+	+	+	+	L.P.B +		
I 97	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S.P +
I 85	-	-	-	-	+	L.P.B +					
I 22	-	-	C.P +								
I 40	-	C.P +									
I 51	-	C.P +									

C.P
+ : mort , congestion pulmonaire
S.P.
+ : mort, séquestre péripleurmonique
L.P.B.
+ : mort, lésion péripleurmonique

Tableau 14 - Evolution sérologique des animaux témoins après la mise en contact
(Déviation du complément Kolmer)

Nombre de jours après la mise en contact	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	83	91	Abattage 96
N° des animaux														
T 509	1/5	1/5	1/5	1/10	L.P.B +									
T 520	1/5	1/5	-	-	-	-	-	1/5	1/20	1/320	L.P.B +			
T 526	1/5	1/5	1/5	-	-	1/80	1/320	1/80	L.P.B +					
T 516	1/5	1/5	1/5	-	-	1/40	1/160	L.P.B +						
T 532	1/5	1/5	1/5	1/10	1/10	1/40	L.P.B +							
T 518	1/5	-	-	-	-	1/10	1/40	1/40	1/160	1/80	1/40	1/40	1/40	Séquestre (orange)
T 528	-	1/5	-	-	L.P.B +									
T 504	1/10	1/10	L.P.B +											
T 523	-	1/5	1/5	-	-	-	1/5	1/40	1/160	L.P.B +				
T 527	1/5	-	1/5	-	-	-	-	-	1/10	1/5	1/5	L.P.B +		

L.P.B.
+ : Mort avec lésions péripleurmoniques



Lésions pulmonaires d'un témoin mort de péripneumonie.

(antigalactane) ont été décelées chez le T 24, 28 jours après l'intubation. Aucun des bovins infectés expérimentalement n'a atteint le terme de l'expérience. La mort des animaux ayant présenté des lésions péripneumoniques caractéristiques se situe entre le 28^e et le 63^e jour suivant l'intubation. Cette évolution recoupe les observations effectuées lors de la deuxième expérience.

b) *Evolution des témoins*

L'évolution sérologique est rapportée dans les tableaux 14 (déviations du complément Kolmer) et 15 (antigène circulant). Sur 10 témoins, 9 ont succombé en montrant à l'autopsie des lésions caractéristiques (photo 2). Les morts s'étalent entre le 21^e et le 77^e jour suivant la mise en contact. Un bovin qui fixe le complément au 1/160, 63 jours après le début de

Tableau 15 - Evolution sérologique des animaux témoins après la mise en contact (antigène circulant décelé par précipito-diffusion en boîte de Pétri)

Nombre de jours après la mise en contact	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	83	91	Abattage 96
N° des animaux														
T 509	-	-	-	-	L.P.B. +									
T 520	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	L.P.B. +			
T 526	-	-	-	-	-	+	+	+	L.P.B. +					
T 516	-	-	-	-	-	-	-	L.P.B. +						
T 532	-	-	-	-	-	-	L.P.B. +							
T 518	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
T 528	-	-	-	-	L.P.B. +									
T 504	-	-	L.P.B. +											
T 523	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L.P.B. +				
T 527	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L.P.B. +		

L.P.B.
+ : mort avec lésions péripneumoniques

Tableau 16 - Evolution sérologique des animaux vaccinés après la mise en contact (déviaton du complément Kolmer)

Nombre de jours après la mise en contact	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	83	91	Abattage 96
R ^o des animaux V 519	1/5	1/5	1/5	-	1/5	-	-	-	1/5	1/5	-	1/5	-	P.I.
V 512	1/5	1/5	1/5	-	1/5	1/5	1/5	-	-	1/5	-	-	-	P.I.
V 509	1/5	1/5	-	-	1/5	-	-	-	1/5	1/5	-	-	-	P.I.
V 533	1/5	1/5	-	-	-	-	-	-	-	1/5	-	1/5	1/5	P.I.
V 38 B	1/5	1/5	-	-	1/5	-	-	-	1/5	-	-	-	-	P.I.
V 513	1/5	1/5	-	1/5	1/5	-	-	-	-	-	-	-	-	P.I.
V 581	-	1/5	-	-	1/5	1/5	1/160	1/160	L.P.B. +					
V 517	1/5	1/5	-	1/5	-	1/5	1/20	-	1/5	1/5	-	-	-	P.I.
V 582	1/5	1/5	-	-	1/5	1/5	1/5	-	-	-	-	1/20	1/10	séquestre (noix)
V 595	1/5	1/5	-	-	-	-	-	-	1/5	1/20	1/20	1/20	1/5	P.I.

L.P.B.
+ : mort avec lésions péripneumoniques

P.I. : poumon indemne

l'expérience, ne présente à l'autopsie qu'un séquestre de la grosseur d'une orange. Néanmoins *M. mycoides* est isolé des ganglions trachéo-bronchiques.

c) Evolution des animaux vaccinés

L'évolution sérologique figure dans le tableau 16 (déviaton du complément Kolmer). 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 (V 581). 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 (V 509); leur origine semble fort ancienne et la péripneumonie n'est pas à coup sûr en cause, le dernier (V 582) offre un séquestre encapsulé de la grosseur d'une noix. Les ganglions trachéo-bronchiques de ces 9 bovins, ensemencés, ne donnent aucune culture de *M. mycoides*.

CONCLUSION

Sur les 10 bovins vaccinés depuis quatorze mois avec le vaccin lyophilisé T₁ et mis en

contact avec des animaux infectants, un a succombé de péripneumonie bovine deux mois après le début de l'expérience, un présente un séquestre encapsulé minime et les huit autres peuvent être considérés comme indemnes de toute atteinte de la maladie.

CONCLUSION GENERALE

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

En 1970, une expérience analogue à celle qui vient d'être décrite sera poursuivie pour apprécier la valeur de l'immunité conférée par un vaccin mixte péripneumonie bovine — peste bovine (T₁ streptomycino-résistant — souche de culture cellulaire RP OK BK 99).

Institut d'Élevage et de Médecine
vétérinaire des Pays tropicaux,
Maisons-Alfort.

Laboratoire national de l'Élevage
et de Recherches vétérinaires,
Dakar-Hann.

SUMMARY

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

During 1968 and 1969, a series of experiments to test the immunity produced by a freeze-dried vaccine prepared with the T₁ strain of *Mycoplasma mycoides* (44th passage) has been carried out in the Laboratory of Dakar. The in-contact method described by the australians workers has been utilized. Three and four months and half after vaccination the immunity is complete; fourteen months after immunization, 90 per cent of the animals are still protected. In those conditions, a minimum protection period of one year is warranted.

RESUMEN

Valor de la inmunidad producida por una vacuna contra la perineumonía, liofilizada, preparada mediante la cepa T₁

Durante los años 1968 y 1969, se efectuó, en el Laboratorio de Dakar, una serie de pruebas para determinar el valor de la inmunidad producida por una vacuna liofilizada preparada mediante la cepa T₁ (44^o pasaje). Se utilizó el método llamado de contacto descrito por los buscadores de Australia. Es total la inmunidad tres meses y siete y media meses después de la vacunación. Sigue de 90 p. 100, catorce meses después de la inmunización. En estas condiciones, se puede garantizar un periodo mínimo de protección de un año.

BIBLIOGRAPHIE

- BROWN (R. D.), « Endobronchial inoculation of cattle with various strains of *Mycoplasma mycoides* and the effects of stress », *Res. vet. Sci.*, 1964, **5**, 393-404.
- BROWN (R. D.), GOURLAY (R. N.) et MACLEOD (A. K.), « The production of T₁ broth culture contagious bovine pleuropneumonia vaccine », *Bull. epiz. Dis. Afr.* 1965, **13**, 149-155.
- CAMPBELL (A. D.), « A preliminary note on the experimental reproduction of bovine pleuropneumonia », *J. Counc. Sci. Ind. Res.*, 1938, *II*, (2), 103-111.
- DAVIES (G.), « Note on the T₁ broth vaccine for the inaugural technical conference of the JP/15/phase IV Rinderpest Campaign », Nairobi (Kenya) — November 1968.
- DAVIES (G.), MASIGA (W. N.), SHIFRINE (M.) et READ (W. C. S.), « The efficacy of T₁ strain broth vaccine against CBPP: preliminary in-contact trials », *Vet. Rec.*, 1968, **83**, 239-244.
- DAVIES (G.) et GILBERT (F. R.), « Vaccination contre la péripneumonie contagieuse bovine dans l'Est africain », XXXVII^e session générale du Comité de l'O.I.E., Paris, 1968.
- DAVIES (G.), « The persistence of *Mycoplasma mycoides* in the host after vaccination with T₁ broth vaccine », *Res. vet. Sci.*, 1969, **10**, 225-231.
- DOUTRE (M. P.), « Valeur de l'immunité conférée par deux vaccins lyophilisés préparés à l'aide des souches KH 3 J et T₁ », XXXVII^e session générale du Comité de l'O.I.E., Paris, 1969.
- HUDDART (J. E.), « Outline of work on CBPP in Tanzania, 1964 to 1966 », Working paper n° 18, 3^e Réunion des Experts de la Péripneumonie bovine F.A.O./O.I.E./O.A.U., Khartoum, 1967.
- HUDSON (J. R.) et TURNER (A. W.), « Contagious bovine pleuropneumonia. — A comparison of the efficiency of two types of vaccine », *Aust. vet. J.*, 1963, **39**, 373-385.
- HUDSON (J. R.), « Contagious bovine pleuropneumonia. — The immunizing value of the attenuated strain KH 3 J », *Aust. vet. J.*, 1965, **41**, 43-49.
- HUDSON (J. R.), « Contagious bovine pleuropneumonia. — Experiments on the susceptibility and protection by vaccination of different types of cattle », *Aust. vet. J.*, 1968, **44**, 83-89.
- PROVOST (A.), « Rapport sur les recherches entreprises sur la péripneumonie bovine au Laboratoire de Recherches vétérinaires de Farcha, Fort-Lamy (Tchad), de 1964 à 1966 », 3^e Réunion du Groupe d'Experts F.A.O./O.I.E./O.A.U. sur la péripneumonie bovine, 12-15 février 1967.
- « Rapport de la 3^e Réunion des Experts de la Péripneumonie bovine F.A.O./O.I.E./O.A.U. », Khartoum, 1967.
- REGNOULT (M.) et ORUE (J.), « Valeur de la méthode d'infection expérimentale à *Mycoplasma mycoides* par intubation intra-bronchique pour l'obtention de malades et de porteurs de germes », 2^e Réunion des Experts de la Péripneumonie bovine F.A.O./O.I.E./C.C.T.A., Muguga, 1964.
- SHIFRINE (M.), STONE (S. S.) et DAVIES (G.), « CBPP: serologic response of cattle after single and double vaccination with T₁ culture vaccine », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1968, **21**, (1), 49-58.