

RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR LE VIRUS CLAVELEUX. METHODE D'IMMUNISATION EMPLOYEE EN IRAN

par L. P. DELPY et A. RAFYI.

En 1932, époque où nous avons entrepris l'étude de la clavelée en Iran, les procédés d'immunisation par virus modifiés étaient soit d'efficacité incertaine, soit trop coûteux pour être employés dans un pays où les vaccinations devaient être effectuées aux frais de l'Etat.

Nous aurions donc eu recours à la clavelisation, avec le virus indigène, si nous n'avions été immédiatement arrêtés par l'impossibilité d'accoutumer ce virus à l'hypoderme du mouton persan.

♦♦

COMPORTEMENT DU VIRUS LOCAL SUR DES MOUTONS PERSANS

Il fut relativement facile d'isoler plusieurs souches « sauvages » en raclant la face interne de lésions cutanées sur des sujets sacrifiés en période d'éruption et en inoculant des agneaux par injections multiples dans le derme. Mais, lorsqu'après quatre ou cinq passages nous inoculions dans l'hypoderme 100 cc. ou plus de matériel dilué, nous n'obtenions qu'une réaction inflammatoire nulle ou très faible.

Les tentatives furent répétées avec persévérance en utilisant des claveaux prélevés en diverses régions du pays et des agneaux de races locales diverses. Dans les cas les plus heureux, nous vîmes évoluer, au premier passage sous-cutané, une tumeur inflammatoire donnant à l'autopsie une petite quantité de pulpe infiltrée ; mais, au deuxième passage, la réaction était à peu près nulle.

* Bulletin de l'Académie Vétérinaire 1947, 20, 347-353.

Ces échecs sont à l'origine d'une première série de recherches dont nous avons tiré les renseignements suivants :

1. Le mouton persan à queue grasse est très sensible à l'infection clavelleuse telle qu'elle se produit dans les conditions naturelles : pénétration par la voie pulmonaire de virus plus ou moins desséchés adhérant aux poussières. Chaque année éclatent de graves épidémies, au cours desquelles la morbidité atteint 100 pour 100 des sujets neufs, avec une mortalité moyenne de 40 pour 100. La maladie revêt la forme aiguë classique avec localisation du virus au poumon et au derme cutané.

Le mouton persan n'est donc pas réfractaire à la clavelée, comme le serait par exemple le mouton breton (NOCARD 1888).

Expérimentalement les essais d'infection par voie pulmonaire sont souvent négatifs, en raison sans doute de l'absence de facteurs adjuvants difficiles à réaliser ; mais si, par cette voie, le virus pénètre l'économie, il détermine une infection générale grave, identique à la maladie naturelle.

2. Le mouton persan est également sensible à l'inoculation intra-cutanée. La réaction consiste en une pustule dont l'importance varie avec la concentration et le volume du matériel inoculé. Il peut y avoir une réaction thermique, mais il n'y a jamais de généralisation. L'évolution de la pustule confère une immunité solide qui met les sujets à l'abri de l'infection par voie cutanée ou pulmonaire.

3. Par contre, l'hypoderme du mouton persan constitue pour le virus clavelleux un très mauvais terrain. Il est pratiquement impossible d'acclimater ce virus à l'hypoderme et d'obtenir en série par la technique de Borrel des tumeurs inflammatoires infiltrées de claveau. Il suffit d'un ou deux passages pour que le virus perde tout pouvoir de diffusion. Il est possible par certains artifices de renforcer temporairement ce pouvoir, mais ceci ne change rien à la marche générale du phénomène (DELPY et RAFYI, 1936).

4. Le passage dans l'hypoderme entraîne également une atténuation de la virulence, qui se traduit par la nécessité d'employer des doses de virus plus fortes pour faire évoluer une pustule par inoculation intradermique.

..

Pour savoir si ce comportement anormal était dû aux moutons ou au claveau, nous avons, dans de nouvelles expériences, employé

le claveau persan sur des moutons de race étrangère, et des claveaux étrangers sur des moutons persans. En ce qui concerne les moutons, nous avons pu disposer d'un petit nombre de mérinos d'Arles ou de Rambouillet importés récemment et d'une quantité suffisante de métis de première ou deuxième génération, que nous appellerons ici Mérinos-persans.

Les claveaux furent empruntés à la collection probablement unique de l'Institut Pasteur d'Algérie (1). Ces claveaux, provenant de divers pays, sont entretenus à Alger par passages dans l'hypoderme de moutons Algériens et fournissent le matériel nécessaire à la préparation du vaccin sensibilisé, selon la technique de BORREL et BROQUET (1913). Nous résumons ci-dessous les résultats obtenus.

*
**

COMPORTEMENT DU VIRUS IRANIEN SUR DES MOUTONS DE RACE ETRANGERE.

1. Sur mérinos ou sur moutons algériens (expériences d'Alger), les claveaux iraniens se comportent dans l'ensemble comme les claveaux d'autre provenance. Ils passent facilement dans l'hypoderme et leur adaptation progressive se traduit par la possibilité d'obtenir par passages de volumineuses pustules Borrel, en utilisant un matériel virulent de plus en plus dilué.

Au cours de ces passages hypodermiques, la virulence n'est atténuée que très lentement: à Alger, vingt passages n'ont pas suffi pour transformer un virus iranien sauvage en virus «sensibilisable» (2).

2. Sur métis Mérinos-persans, les claveaux iraniens inoculés sous la peau déterminent au premier passage une réaction forte (500 à 800 grammes de pulpe); mais loin de s'accoutumer à l'hypoderme,

(1) Avec l'autorisation de M. le Professeur E. Sergent, notre collègue et ami A. Donatien ainsi que le regretté F. Lestoquard nous ont envoyé, chaque fois que ce fut nécessaire depuis 1935, des souches claveuses. Ils nous ont également apporté une aide considérable non seulement par leur conseils, mais encore en faisant à Alger certaines expériences qu'il eut été malaisé de mener à bien en Iran.

(2) Rappelons que la virulence d'un claveau peut être appréciée par les techniques de l'Institut Pasteur d'Alger (Donatien et Lestoquard 1936). Le principe consiste à rechercher le volume d'un sérum standard nécessaire pour neutraliser *in vitro* ou *in vivo* un volume déterminé de claveau.

ils perdent très vite leur pouvoir de diffusion et dès le troisième passage ne provoquent qu'une réaction faible et passagère.

Un claveau iranien, accoutumé à l'hypoderme par passages sur moutons algériens, s'est montré plus agressif et a permis d'obtenir des pustules Borrel de moyenne importance pendant 4 passages.

..

COMPORTEMENT DES VIRUS ETRANGERS SUR DES MOUTONS PERSANS ET METIS.

Nous avons utilisé les claveaux suivants, mis à notre disposition par l'Institut Pasteur d'Alger :

Alger Perregault, Alger Delbosc, Alger Draria, Maroc Français I, Bulgare, Roumain, Turc, Iran-Alger, Indo-Chine.

Une telle série permet d'apprécier les variations éventuelles du virus claveaux de l'ouest à l'est de l'ancien continent.

Tous ces virus, acclimatés par passages à l'hypoderme du mouton algérien, permettaient d'obtenir à Alger, par la technique de Borrel, de 1.000 à 1.500 grammes de pulpe infiltrée. Leur virulence s'était montrée variable, les uns se « civilisant » assez rapidement, d'autres, tel l'Indo-Chine, n'étant point sensibilisables après plus de 50 passages. Le tableau I résume les caractéristiques de ces claveaux, et montre (colonne 4) que les passages sur métis mérinos-persan ont altéré leur pouvoir de diffusion, parfois dès le premier passage et au plus au cinquième passage.

TABLEAU I

Souches	Nombre de passages (Alger)	Virulence appréciée par l'aptitude à la sensibilisation	Nombre de passages chez métis Mérinos-Iran, entraînant la perte du pouvoir de diffusion
Indo-Chine .	58	Non sensibilisable	4
Perregault . .	57	Sensibilisable	5
Delbosc. . . .	23	Sensibilisable	5
Maroc.	22	Non sensibilisable	2
Français I. . .	35	Sensibilisable	1
Roumain. . . .	?	Non sensibilisable	4
Bulgare. . . .	?	Non sensibilisable	1
Draria.	81	Sensibilisable	1
Iran-Alger. . .	19	Non sensibilisable	1
Turc.	20	Variable	3

Les passages préalables sur moutons algériens n'ont pas une influence constante: le claveau Draria passé 81 fois en Algérie n'a pu être passé qu'une fois sur nos métis. Par contre, le Delbosc qui n'avait subi que 23 passages à Alger a pu être passé 4 fois en Iran.

L'influence du degré de virulence n'est pas plus constante: l'Indo-Chine encore très virulent et le Perregault sensibilisable ont permis tous deux 5 passages dans l'hypoderme de mérinos-persans. Le Bulgare et l'Iran-Alger, encore très virulents, n'ont pu être passés qu'une fois. Le Delbosc, peu virulent, a pu être passé trois fois.

Les passages sur mérinos-persans atténuent très rapidement la virulence. L'exemple suivant est démonstratif:

en 1926, A. DONATIEN vous envoya un claveau «Maroc» qui, après 18 passages sur mouton algérien, n'était point devenu sensibilisable et donnait de très belles réactions hypodermiques (1.500 grammes de pulpe ou davantage). Le premier passage sur métis mérinos-persan donna 600 grammes de pulpe, le second 100 grammes et le troisième une réaction très bénigne. Le virus fut alors renvoyé à Alger et titré comparativement avec le claveau original entretenu sur moutons algériens. Les résultats donnés par le tableau II montrent qu'il a suffi de 3 passages sur nos métis pour atténuer nettement un virus qui s'était montré insensible à 18 passages sur mouton algérien.

TABLEAU II

	Claveau Maroc Alger original	Claveau Maroc Alger passé sur mouton persan
Sensibilisation	Négative	Positive
Action du sérum . .	0,1 cc. de virus provoque une pustule malgré 50 cc. de sérum	10 cc. de sérum empêchent la for- mation de la pustule
Pustule Borrel sur mouton algérien		

Ainsi il est permis de conclure que les claveaux iraniens ne diffèrent pas sensiblement des autres claveaux. Les passages sur moutons de réceptivité normale (mérinos ou algériens) entraînent l'exaltation de leur pouvoir de diffusion dans l'hypoderme et l'atténuation lente de leur virulence.

Les échecs enregistrés dans la première série de nos recherches ont pour cause l'extraordinaire résistance au virus claveux de l'hypoderme du mouton persan. Cette résistance est moindre, comme on pouvait s'y attendre, chez les métis, mais reste cependant marquée. Elle entraîne une disparition rapide du pouvoir de diffusion et de la virulence de tous les claveaux que nous avons inoculés.

Les claveaux «civilisés», atténuée dans leur virulence par passages dans l'hypoderme, restent capables de déterminer l'évolution d'une pustule si on les inocule à dose convenable dans le derme du mouton persan. Toutefois, quelles que soient les doses inoculées et les voies d'inoculation, ils ne peuvent récupérer leur virulence initiale ni provoquer une infection généralisée.

♦♦

APPLICATION PRATIQUE.

Nous utilisons, depuis 1938, trois souches : Delbosc, Indo-Chine et Roumain. Ces souches, passées sur métis, ne perdent leur pouvoir de diffusion qu'après 4 ou 5 passages, de sorte qu'il est facile, en inoculant simultanément un nombre suffisant de métis, d'obtenir une réserve de claveau qui, non dilué, peut être conservé à la glacière au moins un an. En cas de besoin, nous demandons à l'Institut Pasteur d'Alger les souches qui, entretenues sur moutons algériens, ont conservé leur pouvoir de diffusion.

D'autre part, ces souches ont *pour le mouton persan* une faible virulence et, répétons-le, il est impossible dans les conditions expérimentales de leur faire provoquer une infection généralisée. Il suffit donc, pour obtenir un vaccin, de rechercher par des titrages *in vivo* la dilution convenable. La dose vaccinale ayant été fixée à 0,2 cc., ce sont généralement les claveaux dilués à 1 p. 200 qui donnent les meilleurs résultats. Les dilutions à 1 p. 500 fraîchement préparées sont suffisamment actives, mais, si elles sont conservées sans précautions pendant plus d'un mois, elles ne renferment plus suffisamment de virus. Les dilutions à 1 p. 100 provoquent, quand elles sont fraîches, des réactions volumineuses compliquées de nécrose cutanée. Les dilutions à 1 p. 200, que nous adoptons, ne donnent que des réactions modérées et restent suffisamment actives pendant deux mois, même si elles sont conservées dans de mauvaises conditions, ce qui est de règle dans la pratique iranienne.

Les épreuves de laboratoire des lots successifs préparés depuis dix ans ont montré que le vaccin convenablement titré ne provoque jamais aucune réaction générale et n'influence en aucune façon l'évolution de la clavelée naturelle. Il n'y a donc point de sérieux inconvénients si un vaccinateur opère en milieu infecté. Les animaux vaccinés sont solidement immunisés pour au moins un an. Ils supportent sans aucune réaction l'inoculation d'une dose de virus iranien «sauvage» qui provoque chez les témoins une forte réaction locale et une hyperthermie nette.

Ce vaccin a subi la consécration de la pratique, puisque 15.000.000 de vaccinations ont pu être effectuées sans accidents.

Le seul inconvénient sérieux est la nécessité de limiter la validité à 2 mois. En raison des difficultés de transport, le vaccin ne parvient souvent aux vaccinateurs qu'après 30 ou 40 jours et ils se trouvent dans la nécessité de l'utiliser sans retard.

CONCLUSIONS

1. L'infection clavelleuse généralisée ne peut être provoquée chez le mouton persan que par introduction par la voie pulmonaire d'un virus sauvage non atténué. L'inoculation intradermique de virus sauvages ou atténués provoque une pustule sans généralisation. L'inoculation sous-cutanée ne provoque, quel que soit le volume de l'inoculat, qu'une réaction inflammatoire discrète, sans diffusion dans le tissu hypodermique.

2. Les particularités de comportement de plusieurs souches iraniennes et étrangères de claveau chez des moutons persans, étrangers et métis, sont étudiées. Il n'y a pas de différences immunologiques entre les diverses souches, mais elles peuvent présenter des différences en ce qui concerne la persistance du pouvoir de diffusion et de la virulence, au cours des passages.

3. Nous utilisons pour préparer un claveau-vaccin des souches qui possèdent les propriétés suivantes :

a) pouvoir de diffusion suffisant pour donner de volumineuses pustules Borrel dans l'hypoderme des métis mérinos-persans ;

b) virulence telle que l'inoculation dans le derme du mouton persan de claveau convenablement dilué confère une immunité solide

et que les inoculations expérimentales les plus sévères ne peuvent entraîner de généralisations.

4. 15.000.000 de vaccinations ont été pratiquées sans accidents, le plus souvent en milieu infecté. Le seul inconvénient du claveau-vaccin est que, dans les conditions où il est utilisé en Iran, sa validité doit être limitée à deux mois.