

**Progrès réalisés dans la lutte  
contre les varioles ovine et caprine  
par la vaccination (1)**

par



A. RAFYI (2)

La variole ovine et caprine ou clavelée est encore de nos jours l'une des maladies graves dans certaines parties du monde, notamment au Proche-Orient.

Il n'y a pas lieu de s'en étonner puisque, malgré tous les progrès réalisés dans le domaine de la science médicale et la facilité de la mise en vigueur des divers procédés de prophylaxie à l'égard de l'homme, des cas de variole humaine s'observent encore fréquemment dans plusieurs Pays et l'homme est toujours menacé par cet horrible fléau.

La prophylaxie de la variole ovine basée sur la vaccination en utilisant le virus claveleux est, et reste, le seul moyen efficace et pratique en médecine vétérinaire.

Nous allons résumer et analyser dans les feuilles qui suivent les méthodes diverses utilisées jusqu'à ce jour et nous donnerons à la fin de cette Communication le détail de la préparation du vaccin anti-claveleux, tel qu'il est préparé à l'Institut Razi.

**Clavelisation.**

Comme la variolisation, la clavelisation a été le procédé le plus ancien dont se servaient les bergers et les éleveurs en vue de vacciner les moutons.

1- Off. Int. Epiz.-Communication à la XXVIII<sup>e</sup> Session (1960; C. N<sup>o</sup> 566)

2- Je dois remercier mon collègue le Dr H. RAMYAR pour l'aide qu'il m'a apportée dans la préparation de cette Communication.

Dans cet ordre d'idée, on se servait soit des croûtes prélevées sur les animaux malades, soit du liquide des vésicules claveleuses qu'on provoquait expérimentalement.

Le matériel contenant le virus claveleux était introduit sous la peau de l'oreille ou de la queue des animaux à l'aide d'une lancette ou d'une seringue munie d'une aiguille spéciale.

Cette méthode, quoique utile à l'époque, avait des inconvénients, notamment la généralisation de la maladie, la propagation du virus et l'avortement chez les brebis pleines et c'est pourquoi *elle fut abandonnée à peu près dans tous les Pays du monde.*

### **Sérothérapie et séro-clavelisation.**

En 1896, Duclert avait constaté que le sérum des moutons guéris d'une clavelée grave était doué de propriétés préventives et curatives. Il rend les animaux réfractaires à l'inoculation d'un demi-centimètre cube de claveau actif en leur injectant au préalable, pendant 10-12 jours, 190 cent. cubes du sérum.

Borrel, en 1903, a montré la possibilité d'obtenir du sérum hyperimmun en inoculant aux animaux guéris du virus claveleux pur et virulent. Borrel a étudié également l'action du sérum sur le virus *in vitro*.

Le sérum injecté seul donne une immunité de courte durée; il n'est utilisé, en vue de la prévention de la maladie ou à titre curatif, qu'exceptionnellement (3 et 15).

Borrel, après ses travaux sur l'activité préventive et curative du sérum, fut le premier à employer la méthode de séro-inoculation dans des régions où la maladie était à l'état enzootique.

L'inoculation du sérum anti-claveleux (5 cent. cubes) avant ou après la clavelisation, ou mieux en même temps, donne des résultats les plus divers suivant les animaux.

Chefik Kolayli et Nicolaki Mavrides expérimentent leur méthode dite «claveau sérumisé». Le mélange conserve sa propriété durant 12 heures. Les Auteurs insistent sur l'avantage d'un virus fixe.

### **Virus sensibilisé.**

Bridré et Boquet ont découvert le virus sensibilisé qui, à l'époque, avait des avantages nettement supérieurs à tous les procédés qu'on connaissait.

Le mélange du virus et du sérum très judicieusement préparé selon

la méthode de l'Institut Pasteur d'Alger, inoculé les quelques premiers jours de sa préparation, donne une réaction locale fugace, avec une légère réaction thermique; l'immunité est assurée dès la 48<sup>e</sup> heure et, d'après les Auteurs, la durée de cette immunité est supérieure à un an (15).

### Vaccination par le virus claveleux dilué.

Pour éviter une réaction grave qui se produisait fréquemment à la suite de la clavelisation, de nombreux Auteurs ont eu recours à la dilution du virus claveleux. En Iran, en 1938, en collaboration avec L.-P. Delpy, nous utilisions un virus connu, dilué au 1/200 dans de l'eau physiologique; un cinquième de cent. cube de cette solution était injecté dans le derme de la queue des moutons; le vaccin ainsi préparé se conservait mal et sa validité ne dépassait pas deux mois si on le conservait dans les conditions favorables (7). Le procédé a ses avantages à la suite de la raréfaction du virus, mais il a également ses inconvénients, puisque sur certains animaux sensibles il est toujours capable de provoquer une généralisation.

#### A. — *Vaccination par le virus atténué.*

On a cherché à diminuer la virulence du virus claveleux par différents procédés.

Les produits chimiques divers, tels que l'eau oxygénée, le formol, l'éthanol, la saponine, l'éther éthylique, ont été ajoutés au virus claveleux en vue de son atténuation. Aygün croit que les vaccins formolés n'ont pas une valeur bien connue.

Sabban, en Egypte, a utilisé un virus claveleux reçu de l'Iran. L'inoculation de ce virus aux moutons égyptiens donne une réaction locale de la grosseur d'un pois sans causer la généralisation, alors que l'injection d'un virus égyptien aboutit, sur ces mêmes moutons, à une généralisation (17).

#### B. — *Vaccination*

##### *par l'utilisation d'autres virus varioliques.*

*Virus vaccinal.* — Kasai, Gins et Kunret ont étudié la valeur du virus vaccinal comme agent immunisant à l'égard de la variole ovine avec un certain degré de l'immunité (11).

*Virus caprinisé.* — Divers Auteurs ont essayé d'effectuer des passages

du virus claveleux sur la chèvre (*Caprina*). Ilhami et coll. constatent que le virus ne se généralise jamais et que l'immunité acquise chez les moutons dure 9 mois.

Kasai, selon une expérience considérant la valeur du virus claveleux adapté aux chèvres, déclare que la moitié des moutons vaccinés montre des lésions claveleuses à la suite de l'épreuve effectuée (11).

Le «*Caprina*» a été utilisé avec certain succès en Russie, en Turquie, en Syrie et au Liban.

En collaboration avec H. Ramyar, nous avons vacciné les moutons avec le virus caprin. Les animaux vaccinés et quelques témoins sont éprouvés avec le virus claveleux virulent; les vaccinés n'ont présenté aucune réaction, alors que les témoins ont présenté une réaction spécifique de la clavelée. La durée de l'immunité de ce vaccin chez les moutons n'a pas encore été déterminée (13).

*Virus lapinisé.* — Kasai, après avoir effectué des passages du virus claveleux dans les testicules du lapin et du mouton, prétend qu'un virus claveleux est transformé en virus vaccinal (cow-pox).

*Virus avianisé.* — Le virus claveleux peut être cultivé dans la membrane chorio-allantoïdienne de l'embryon du poulet (10 et 16). Sabban a effectué 21 passages alternatifs avec la souche virulente en passant de l'embryon au mouton et vice versa. La titre du virus a été  $10^5 - 10^6$ . Gins et Kunret sont d'avis que le virus avianisé perd sa virulence et son pouvoir immunisant.

### Viruses adsorbés sur le gel d'alumine.

Balozet, en 1938, considère que le virus claveleux aluminé produit chez le mouton une réaction légère suivie de l'immunité (2).

Manninger a inactivé le virus adsorbé avec le formol et il a constaté que le pouvoir antigénique du virus s'est bien conservé (12). En collaboration avec L.-P. Delpy et Mirchamsy, nous avons mis au point un vaccin adsorbé sur le gel d'alumine en y ajoutant du formol à raison de 1 p. 10.000 (8).

Wynohradnyk et Cristet utilisent un vaccin adsorbé sur  $Al(OH)_3$  qui donne une immunité solide après 3-4 jours et qui dans 89 p. 100 des cas dure 9 mois (18).

Fedyushina et Shain ont inactivé par la chaleur le virus adsorbé et sont d'avis que le vaccin se conserve bien et a la même propriété que le vaccin préparé avec le virus non chauffé (9).

Kolayli, Mavrioglu et Ilhami ont utilisé le vaccin adsorbé et formolé et admettent que l'immunité dure 3 mois.

### **Vaccins mixtes.**

Dubois, en 1920, a inoculé aux moutons dans la même séance le vaccin claveleux sensibilisé et le vaccin anticharbonneux couramment employé.

Cordier a adsorbé le mélange de deux virus claveleux et aphteux sur le charbon animal. Ce mélange a donné de bons résultats contre la clavelée.

Delpy et Mirchamsy ont préparé un vaccin lyophilisé avec le virus claveleux et les spores du charbon bactérien. Ce vaccin, qui se conserve bien, donne une immunité solide et rapide contre ces deux maladies, mais il donne parfois des réactions sévères claveleuses chez les moutons sensibles (5 et 6).

Placidi et coll. ont vacciné les moutons marocains avec succès avec un vaccin mixte composé du virus claveleux et du virus aphteux.

### **Méthodes diverses de production du virus.**

La production du virus est essentielle en vue de la préparation des divers vaccins utilisés.

Au début, on avait recours à des croûtes ou de la sérosité prélevées sur des animaux atteints de la maladie naturelle.

Soulié a introduit la méthode expérimentale de la production du virus en rasant la laine de la région thoracique du mouton et en inoculant le virus claveleux en plusieurs endroits par voie intradermique.

#### *Méthode Borrel.*

La méthode consiste à injecter sous la peau de la région thoracique d'une brebis 300-400 cent. cubes d'un mélange de claveau et d'eau physiologique. Cette méthode très largement utilisée dans les Instituts qui préparent du vaccin anti-claveleux provoque une réaction intense chez les animaux sensibles. La récolte se fait aseptiquement vers le 5-10<sup>e</sup> jour suivant le virus et l'on peut obtenir parfois plus de 1.500 g de tissu virulent.

Avec L.-P. Delpy, nous avons essayé de renforcer la production du virus en ajoutant au liquide virulent une quantité d'extrait testiculaire (18).

#### *Culture du virus sur l'embryon de poulet.*

Le virus claveleux peut être cultivé dans la membrane chorio-allan-

toïdienne de l'embryon de poulet âgé de 12 jours.

Le matériel récolté, broyé et passé à l'Atomix peut être conservé à l'état lyophilisé dans une température de 0°. Pour les usages courants, il faut titrer le virus après la lyophilisation.

Rao, après avoir filtré le virus claveleux, l'a inoculé dans la membrane chorio-allantoïdienne avec 9 passages successifs. Il a constaté l'hypertrophie du mésoderme et la prolifération considérable accompagnée d'œdème dans l'ectoderme.

Sabban a fait 21 passages alternatifs avec le virus égyptien sur les moutons et l'embryon de poulet.

#### *Culture du virus dans les tissus "in vitro".*

Déjà, en 1933, Bridré avait tenté de cultiver le virus claveleux *in vitro*. Le milieu de culture était le liquide de Drew, auquel on avait ajouté des petits fragments de tissu testiculaire.

Aygün a essayé de cultiver le virus claveleux sur le tissu pulmonaire et le tissu cutané du fœtus d'agneau. Il pense qu'après 12 passages le virus de culture n'est plus dangereux pour le mouton (1).

En Iran, Boué, Baltazard et Vieuchange ont cultivé le virus claveleux sur les tissus cutanés et la rate de l'embryon ovin. L'injection de 1/5 de cent. cube de cette culture a provoqué une pustule typique au niveau de l'inoculation (4).

Plowright et Ferris, d'une part, et Celli et Boldelli, d'autre part, ont réussi à cultiver le virus claveleux dans les tissus testiculaires du fœtus d'agneau.

Il y a lieu d'envisager dans la production du virus claveleux l'obtention d'une quantité considérable de virus suffisante pour produire le vaccin nécessaire qui dépasse parfois des millions de doses et, d'autre part, d'éviter toute souillure probable, notamment par l'agent de l'agalaxie contagieuse.

#### *Méthode actuelle de la préparation du vaccin anti-claveleux à l'Institut Razi.*

Le matériel virulent est obtenu en injectant dans la paroi thoracique des moutons réceptifs, selon la méthode de Borrel, du virus claveleux dont la virulence est connue à la suite des titrages successifs.

La récolte du tissu réactionnel, obtenue aseptiquement, est broyée dans les appareils broyeurs, tels que Latapie et Atomix, en ajoutant de l'eau

physiologique stérile à raison de 3 fois le volume du matériel; le mélange virulent ainsi obtenu est titré de la façon suivante (14):

Les deux côtés des parois thoraciques de 4 moutons sont rasés et les dilutions de 1/20.000 allant jusqu'au milliardième sont préparées. On injecte 1 cent. cube de chacune de ces dilutions dans quatre points verticaux dans un ordre déterminé, de sorte que chaque mouton reçoit 12 injections du côté droit et 12 injections du côté gauche, selon le schéma suivant:

1/20.000	1/50.000	1/100.000	1/200.000	1/500.000	1/1.000.000
1/20.000	1/50.000	1/100.000	1/200.000	1/500.000	1/1.000.000
1/20.000	1/50.000	1/100.000	1/200.000	1/500.000	1/1.000.000
1/20.000	1/50.000	1/100.000	1/200.000	1/500.000	1/1.000.000
<i>Côté droit.</i>			<i>Côté gauche.</i>		

A partir du 4<sup>e</sup> ou 5<sup>e</sup> jour, on note l'apparition et la formation de la réaction spécifique au niveau des points d'inoculation.

Nous appelons dose réactionnelle, la dilution qui produit une réaction spécifique d'un diamètre de 15 mm dans 50 p. 100 des injections effectuées.

D'autre part, nous savons qu'une dose réactionnelle injectée au mouton par la voie intradermique est capable de provoquer une réaction locale typique avec de la fièvre et qui confère aux animaux une immunité solide contre l'épreuve du virus claveleux; on peut admettre qu'une dose réactionnelle est égale à une dose immunisante.

En considérant l'adsorption du virus sur le gel d'alumine et la libération graduelle de l'antigène dans le corps de l'animal et à la suite des expériences répétées, nous avons adopté une dose vaccinale 100 fois supérieure à la dose réactionnelle.

Lorsque la dose réactionnelle est déterminée, on commence immédiatement la préparation du vaccin.

Le gel d'alumine nécessaire, préparé d'avance, d'après la méthode de Willstätter, est mis dans un récipient muni d'un agitateur mécanique.

La quantité du virus nécessaire est ajoutée au gel en agitant continuellement; une solution de merthiolate à raison de 1 p. 10.000 est ajoutée au gel virus. Le vaccin ainsi préparé est distribué dans des flacons de 100 cent. cubes; le vaccin est injecté sous la peau à raison d'un demi cent. cube.

Le contrôle de la stérilité du vaccin au point de vue des souillures microbiennes, et notamment de celles du virus de l'agalaxie contagieuse, sera effectué à plusieurs reprises.

Les épreuves d'innocuité et d'efficacité se font de la façon suivante:

10 moutons réceptifs, mis en observation pendant 48 heures, sont

inoculés par la voie sous-cutanée chacun avec un demi cent. cube du vaccin; ces animaux, ainsi que 5 moutons témoins non vaccinés, seront inoculés 14 jours plus tard.

Les vaccinés reçoivent un demi cent. cube du claveau virulent, non dilué, dans le derme, alors qu'on injecte aux témoins un demi cent. cube d'une dilution à 1 p. 200 du même virus par la même voie.

Les moutons vaccinés ne montrent aucune réaction locale, ni thermique, alors que les témoins présentent une réaction locale caractéristique avec de la fièvre.

Depuis que le vaccin adsorbé sur le gel d'alumine est préparé à l'Institut Razi, nous avons livré jusqu'à la fin de l'année 1959 plus de 22.400.000 doses de vaccin.

#### *Choix des moutons réceptifs.*

Dans les Pays infectés par la clavelée, le choix des animaux producteurs du virus ou en vue d'éprouver le vaccin présente une certaine difficulté.

Donatien et Lestoquard, en 1933, pour contrôler l'efficacité de la vaccination, injectaient dans le derme d'un des plis de la queue 0,2 cent. cube d'un mélange à volumes égaux de glycérine et du claveau stérilisé par un chauffage à 60° et dilué au moment de l'emploi dans deux parties d'eau physiologique. Chez les animaux immunisés, le pli qui a reçu l'antigène est plus ou moins épais et peut atteindre et dépasser 2 cm d'épaisseur. Nous n'avons pas pu tirer profit de cette méthode en vue de choisir les animaux réceptifs. Actuellement, nous avons recours couramment à l'épreuve de la séro-neutralisation:

On prend 10 cent. cubes du sang de chacun des moutons à examiner; au sérum ainsi obtenu, on ajoute une quantité égale d'une dilution à 1 p. 30 du virus claveleux, le mélange est conservé pendant une demi-heure à la température du Laboratoire.

Un ou deux moutons de sensibilité connue, provenant de l'élevage appartenant à l'Institut et qui sont à l'abri de toute infection claveleuse et qui ne reçoivent jamais de vaccin anti-claveleux sont rasés des deux côtés de la paroi thoracique; on injecte dans le derme 1 cent. cube du mélange virus + sérum suspect; chaque mouton reçoit plus de 10 échantillons ainsi préparés; pour plus de sûreté, chaque mélange est injecté dans quatre points différents.

Avec le sérum des moutons qui contient une certaine quantité d'anticorps neutralisant le virus, aucune réaction n'apparaîtra au lieu d'inoculation; par contre, le sérum des animaux sensibles ne pouvant neutraliser le virus donnera lieu à une réaction nette et spécifique.



Nous avons entrepris quelques recherches utilisant la méthode du gel diffusion, ainsi que l'emploi de l'électrophorèse dans cet ordre d'idée. Les travaux sont en cours.

### **Conservation du virus.**

Nous conservons le virus claveleux soit à l'état liquide à + 4°, ou à l'état congelé à — 30°, ou bien à l'état lyophilisé à + 4°. Notre préférence va aux deux dernières méthodes.

### **La variole caprine.**

La variole caprine est aussi une maladie fréquente chez les chèvres au Moyen-Orient.

Plusieurs chercheurs ont étudié la relation existant entre la clavelée et la variole des chèvres en vue de préparer un seul vaccin capable de protéger le mouton et la chèvre contre ces maladies.

Pendant les trois dernières années, en collaboration avec H. Ramyar, nous avons étudié et cultivé le virus caprin et avons entrepris des expériences en vue de contrôler l'immunité croisée.

Nous pouvons conclure que le virus caprin peut être facilement isolé des chèvres infectées; le virus est cultivable dans l'embryon de poulet. Un vaccin adsorbé sur gel d'alumine est préparé à l'Institut Razi qui donne une immunité solide à l'égard de la variole caprine. 3.531.000 doses de ce vaccin ont été livrées par l'Institut Razi.

Le vaccin anti-claveleux ne protège pas les chèvres contre la variole caprine; par contre, le vaccin variolique des chèvres a un pouvoir immunisant à l'égard de la clavelée et de la variole caprine (13).

\*  
\*   \*   \*

### **RÉSUMÉ**

La clavelée et la variole caprine sont encore des maladies épizootiques graves dans certains Pays, notamment au Proche-Orient.

Le contrôle de ces maladies est basé sur une vaccination méthodique de tout le cheptel ovin et caprin d'un Pays atteint de la maladie.

L'obtention du virus claveleux et celle du virus caprin en vue de la

production du vaccin se fait le plus couramment en utilisant la méthode de Borrel. Il y a lieu de prendre toutes les précautions nécessaires pour éviter la souillure du virus, notamment avec le virus de l'agalaxie contagieuse.

La culture sur embryon de poulet, ainsi que la culture sur tissu sont expérimentées par quelques Auteurs.

Des progrès incontestables ont été réalisées dans la préparation du vaccin anti-claveleux, actif et non dangereux, avec le virus claveleux adsorbé sur le gel d'alumine.

22.400.000 doses de ce vaccin ont été livrées par l'Institut Razi pour vacciner le cheptel ovin en Iran.

Le vaccin préparé contre la variole caprine et adsorbé sur le gel est capable de conférer une immunité solide contre la variole des chèvres et la clavelée, alors que le vaccin claveleux n'est actif que contre la variole ovine.

Dans les Pays infectés, au point de vue économique et pour gagner du temps, la séro-neutralisation peut rendre service pour le dépistage des animaux sensibles en vue de la production du virus ou du contrôle du vaccin.

\*  
\*   \*   \*

## BIBLIOGRAPHIE

1. AYGUN (S. T.) (1955). — *Bull. I. P.*, 55-2836.
2. BALOZET (L.) (1938). — *C. R. Ac. Sc.*, 207-349.
3. BLANC et MARTIN (1938). — *C. R. Soc. Biol.*, 127-1426.
4. BOUE (E.), BALTAZARD (M.) et VIEUCHANGE (J.) (1956). — *C. R. Ac. Sc.*, 244-1571.
5. DELPY (L.-P.) et MIRCHAMSY (H.) (1947). — *C. R. Ac. Sc.*, 225-158.
6. DELPY (L.-P.), RAFYI (A.) et MIRCHAMSY (H.) (1951). — *Bull. Ac. Vét.*, 24-50.
7. DELPY (L.-P.) et RAFYI (A.) (1947). — *Bull. Ac. Vét.*, 20-56.
8. DELPY (L.-P.), RAFYI (A.) et MIRCHAMSY (H.) (1951). — *Bull. Ac. Vét.*, 24-56.
9. FEDYUSHINA (I. M.) et SHAIN (D. A.) (1955). — *Abst. Vet. Bull.*, 26-267.
10. GERLACH (Fr.) (1953). — *Turk Vet. Dergesi*, 23-1038.
11. KASAI (H.) (1931). — *Abst. Vet. Bull.*, 2-286.
12. MANNINGER (R.) (1948). — *Bull. Off. Int. Epiz.*, 29-237.
13. RAFYI (A.) et RAMYAR (H.) (1959). — *I. Comp. Path.*, 69-141.
14. RAFYI (A.) et MIRCHAMSY (H.) (1956). — *Br. Vet. J.*, 112-541.
15. RAFYI (A.) (1935). — *Thèse Vét.*, Toulouse.
16. RAO (R. S.) (1938). — *Abst. Vet. Bull.*, 9-542.
17. SABBAN (M. S.) (1955). — *Am. J. Vet. Res.*, 16-209.
18. WYNOHRADMYK (V.) et CRISTET (I.) (1956). — *Abst. Vet. Bull.*, 27-73