

ESSAIS D'IMMUNISATION DU LAPERAU DE CHAIR CONTRE LA
MYXOMATOSE A L'AIDE D'UN VACCIN HOMOLOGUE ATTENUÉ.*

PICAVET D.P.*, LEBAS F.**, GILBERT Y.*, CHANTAL J.*, PEULET. M.J.,
BRIGNOLE.*

* Ecole Nationale Vétérinaire , Laboratoire des Maladies Contagieuses
F.31076 TOULOUSE CEDEX.

** Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Recherches sur
l'élevage du lapin
B.P.12 F.31320 CASTANET TOLOSAN

RESUME

5 groupes de lapereaux de chair sont vaccinés contre la myxomatose selon des protocoles différents avec une souche homologue modifiée SG33. Le développement de la réponse immunitaire est contrôlé par la recherche d'anticorps spécifiques par immunofluorescence indirecte. La protection obtenue est estimée lors d'épreuves virulentes. Elle apparaît précocement (7 jours après la vaccination) et persiste plusieurs semaines. Pour 4 groupes, elle est cependant insuffisante, incomplète et hétérogène au delà de la 10ème semaine. Les raisons de cette insuffisance sont discutées.

INTRODUCTION :

La myxomatose, poxvirose spécifique du lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*) est une maladie entretenue au sein de la population de lapins sauvages et transmise aux lapins domestiques par l'intermédiaire d'arthropodes vecteurs (moustiques et puces) (4). Elle constitue une menace réelle pour l'élevage cunicole qui, en France, compte 6000 éleveurs professionnels, 420 000 éleveurs "traditionnels" et 54 000 intermédiaires (2). Elle est le facteur limitant essentiel de l'élevage en plein air du lapin de chair, du sevrage, réalisé à 4 semaines, jusqu'à l'abattage qui a lieu à la 12ème semaine au plus tard. La lutte contre cette maladie ne peut alors faire appel qu'à la vaccination, l'application de mesures sanitaires seules se révélant difficile et infructueuse dans ces conditions d'élevage.

Nous étudions la protection conférée à la 12ème semaine par des vaccinations précoces (4 semaines, 6 semaines ou 4 et 7 semaines) sur trois lots de lapereaux.

Le développement de l'immunité est suivi sur deux autres groupes, vaccinés à 4 ou 6 semaines et soumis à des épreuves virulentes échelonnées de la 5ème à la 12ème semaine.

Nos conditions expérimentales sont volontairement très proches de celle de l'élevage intensif, tant en ce qui concerne le logement et l'alimentation que la vaccination.

Travail réalisé avec le soutien financier de l'Institut National de la Recherche Agronomique, Département de Pathologie Animale.

I - MATERIEL ET METHODES

1. Animaux d'expérience

Les lapins utilisés sont issus de croisement entre des mères de souche INRA 1067 (californien - néo-zélandais) et de pères de souche INRA 9077 (néo-zélandais).

Ils sont répartis en 5 groupes d'expérimentation dont les effectifs sont donnés dans le tableau n°1.

GROUPES	LAPINS VACCINES ET SOUMIS A L'EPREUVE VIRULENTE	TEMOINS
1	121	10
2	96	9
3	57	4
4	60	12
5	110	22

TABLEAU N°1 : EFFECTIFS DES GROUPES D'ANIMAUX D'EXPERIENCE

Les lapins "témoins" sont choisis au hasard dans les mêmes portées que les lapins vaccinés et élevés avec eux jusqu'à l'épreuve virulente.

Du sevrage à l'épreuve virulente, les lapins sont élevés dans les locaux d'engraissement de la station **INRA de TOULOUSE-AUZÉVILLE**. Ils sont ensuite transportés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE pour y être soumis, en locaux protégés, à l'épreuve virulente et au suivi clinique.

2. Vaccin

Nous utilisons le vaccin homologué à virus modifié **SG33** sous sa forme commerciale.*

* **DERVAXIMYXO SG 33 Rappel (N.D.) Laboratoires RHONE-MERIEUX**

Pour des raisons pratiques exposées plus loin, nous avons délibérément choisi de ne pas suivre le protocole d'utilisation du fabricant qui réserve ce vaccin aux injections de rappel à partir de la 10^e - 12^e semaine après une primo-vaccination avec un vaccin hétérologue modifié (Fibrome de Shope) (1).

3. Souche virale d'épreuve.

La souche Toulouse 1, isolée en 1954 d'un cas de myxomatose naturel, est conservée depuis cette date, dans notre laboratoire, par lyophilisation et congélation et régulièrement réinoculée au lapin pour vérifier la stabilité de ces caractères pathogènes. C'est une souche très virulente : inoculée à des lapins neufs, elle provoque l'apparition en 3-4 jours d'une lésion, qualifiée de myxome primaire, au point d'inoculation. La maladie généralise à partir du 6^{ème} jour avec l'apparition d'une blépharoonjonctivite, d'une rhinite, de lésions oedémateuses et nodulaires de la sphère anogénitale et de lésions nodulaires cutanées, de caractère exsudatif et hémorragique marqués, les myxomes secondaires, localisées essentiellement à la face, aux oreilles, aux membres antérieurs et sur le dos. La mort survient pour la quasi-totalité des lapins entre le 10^e et le 15^e jour.

4. Protocoles de vaccination et d'épreuve virulente.

2 types de protocoles ont été utilisés.

Dans les groupes 1, 2 et 3 les lapereaux sont vaccinés à des âges variant de 4 à 7 semaines (jour J0). Les lapins sont soumis à l'épreuve virulente à l'âge de 12 semaines (EV : J42 ou J56). La dose de souche virale d'épreuve est de 1000 DIL sous un volume de 0,1 ml administré par voie intradermique à la face externe de l'oreille gauche. (1 DIL : dose infectante lapin : dose suffisante pour provoquer l'évolution d'une myxomatose généralisée mortelle chez un lapin neuf).

Dans les groupes 4 et 5, le protocole général est le suivant :

- vaccination au jour V0 ;

- épreuves virulentes (EV) échelonnées tous les 7 jours jusqu'à l'âge de 12 semaines. (Elles sont désignées par la lettre V suivie en indice du chiffre correspondant au nombre de jours qui les séparent de la vaccination : ex : V7, V14 etc.). Les lapins soumis à l'EV sont choisis au hasard dans les différentes portées de chaque groupe. La dose de souche virale d'épreuve est de 100 DIL sous un volume de 0,1 ml, administré par voie intradermique (face externe de l'oreille).

3 lapins du groupe 4 et 9 lapins du groupe 5 ont été soumis à l'épreuve virulente à l'âge de 13 semaines.

Pour tous les groupes :

- la réalité de la vaccination est contrôlée par un suivi sérologique (apparition d'anticorps sériques spécifiques attestant le contact avec le virus myxomateux vaccinal). Les prises de sang, réalisées sur papier buvard, ont lieu avant la vaccination puis sont échelonnées jusqu'à l'EV, avec une périodicité variable selon les différents groupes. Les anticorps sont recherchés, de façon qualitative, par une technique d'immunofluorescence indirecte spécifique, mise au point dans notre laboratoire et décrite par ailleurs ainsi que la méthode de prise de sang sur papier buvard. (2).

En outre, dans les jours qui suivent la vaccination, on note l'apparition ou non et l'intensité d'une réaction inflammatoire locale (RIL) au point d'inoculation, témoignant de la multiplication de la souche vaccinale.

- le titre de la souche virale d'épreuve est vérifié, lors de chaque EV, par un titrage in vivo sur les lapins témoins inoculés avec la même suspension virale que les lapins vaccinés.

- les lapins soumis à l'EV sont soumis à une surveillance clinique de 21 jours, délai très supérieur à la période d'incubation de la maladie, durant laquelle sont notées :

- . l'apparition ou non du myxome primaire ;
- . l'apparition ou non d'une généralisation qualifiée de bénigne ou de grave selon les critères exposés dans le tableau n°2 ;
- . la mortalité due à d'autres causes que la myxomatose.

SIGNES CLINIQUES	GENERALISATION BENIGNE	GENERALISATION GRAVE
Sphère anogénitale	pas d'atteinte grave	atteinte grave
Lésions secondaires	peu nombreuses petite taille (grain de mil à pois)	nombreuses, volumineuses exsudatives hémorragiques
évolution	rapide vers la guérison avec dessiccation des lésions et formation de croûtes	Mortalité par myxomatose

TABLEAU N°2 : Critères cliniques de classification des généralisations.

GROUPES	AGE VACCINATION (semaines)	PRISE DE SANG	EPREUVE VIRULENTE (12 Semaines)
1	4 (J0)	J0, J7, J 21, J35, J 56	J 56
2	6 (J0)	J0, J7, J21, J42 ou J0, J14 , J21, J42	J42

Tableau n°3 - Protocole des groupes 1 et 2

Age du sevrage : 4 semaines
Dose d'épreuve virulente : 1000 DIL

GROUPES	AGE VACCINATION (semaines)		PRISE DE SANG	EPREUVE VIRULENTE (12 Semaines)
	J0	J21		
3			J0, J14, J21, J28, J56	J56
	4	7		

Tableau n°4 - Protocole du groupe 3

Age du sevrage : 4 semaines
Dose d'épreuve virulente : 1000 DIL

	V0	V7	V14	V21	V28	V35	V42	V49
Age des lapins (semaines)	6	7	8	9	10	11	12	13
Effectif des groupes	60	10	10	9	10	11	7	3
TEMOINS		2	1	2	2	2	2	1

TABLEAU N°5 - Protocole groupe 4 - Vaccinés à 6 semaines
V0 : Vaccination - V7 à V49 : Prises de sang et épreuves virulentes

	V0	V7	V14	V21	V28	V35	V12	V19	V56	V63
Age des lapins (semaines)	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Effectif des groupes	110	10	20	10	10	10	15	15	14	10
TEMOINS		1	4	2	3	2	2	4	3	1

TABLEAU N°6 - Protocole groupe 5 - Vaccinés à 4 semaines
V0 : Vaccination
V7 à V63 : Prises de sang et épreuves virulentes

II - RESULTATS

A - VACCINATION

1. Innocuité de la vaccination

Seuls 10 lapereaux du groupe 1, dont huit de la même portée, ont montré quelques signes très bénins de myxomatose après la vaccination : lésions de la taille d'un grain de mil ou d'un pois localisées aux yeux, aux oreilles ou aux organes génitaux pour 3 lapereaux, conjonctivite associée à un léger oedème des paupières. L'évolution vers la guérison est rapide dans tous les cas.

Aucun trouble de croissance n'est noté lorsqu'on compare les lots de lapereaux vaccinés à des lots de lapereaux non vaccinés de même origine élevés dans les mêmes conditions.

2. Réactions inflammatoire locale

L'immense majorité des lapereaux présente dans les jours qui suivent l'intervention vaccinale une réaction inflammatoire d'intensité modérée au point d'inoculation du vaccin. Cette réaction disparaît en un dizaine de jours.

Cependant, dans le groupe 3, si 56 lapins développent cette réaction après la 1ère injection de vaccin, seuls 36 la présentent après la 2ème injection (dont le lapin resté sans RIL lors de la 1ère injection).

3. Résultats sérologiques.

Avant la vaccination, aucun lapin n'a d'anticorps sériques décelables : il n'y a eu ni contact antérieur avec un virus myxomateux vaccinal ou sauvage, ni persistance d'anticorps d'origine maternelle.

Le tableau n°6 donne les résultats sérologiques des différents groupes :

GROUPES	EFFECTIF TOTAL	RESULTATS SEROLOGIQUE LORS DE L'EPREUVE VIRULENTE	
		+	-
1	121	121	0
2	96	92	4
3	57	56	1
4	60	51	9
5	110	94	16

TABLEAU N°7 - RESULTATS SEROLOGIQUES

Ces anticorps apparaissent entre le 7ème et le 21ème jour après la vaccination, suivant les groupes.

Dans le groupe 4, les 9 lapins négatifs appartiennent aux lots soumis à l'EV au 14ème jour après la vaccination.

Dans le groupe 5, 5 lapins sont négatifs à V7, 4 à V49 et on trouve un lapin négatif dans chacun des lots soumis à épreuve virulente à V14, V21, V28, V35, V42, V56, V63.

Pour tous les groupes, aucun lapins témoin ne développe d'anticorps : ils n'ont pas été vaccinés par erreur, et la souche SG33 n'a pas diffusé des lapins vaccinés à leurs congénères élevés dans les mêmes cages.

Dans le groupe 5, 1 témoin sur 22 survit à l'épreuve virulente (V14).

Il faut noter que, pour ces groupes, la dose d'EV a été réduite à 100 DIL par lapin.

	GROUPES		
	1*	2*	3*
EFFECTIF TOTAL	121	96	57
PAS DE SYMPTOMES	6	8	1
MYXOME PRIMAIRE	37	21	9
GENERALISATION BENIGNE	37	23	15
GENERALISATION GRAVE	33	40	32
MORTALITE MYXOMATOSE	28	17	13
TAUX DE MORBIDITE (%)	57,8	65,6	82,4
TAUX DE LETALITE (%)	23,1	26,9	27,7
MORTALITE AUTRE CAUSE	8	4	0
NOMBRE DE SURVIVANTS	85 (70,2 %)	77 (80,2 %)	44 (77,2 %)
MORTALITE TEMOINS	10/10	9/9	4/4

**TABLEAU N°8 : Résultats de l'observation clinique 21 jours après l'EV
(groupes 1,2,3)**

*** Groupe 1 : vaccination à 4 semaines - Groupe 2 : vaccination à 6 semaines
Groupe 3 : vaccination à 4 et 7 semaines**

EFFECTIF TOTAL (VO)	DATES E.V.	V7	V14	V21	V28	V35	V42	V49
		EFFECTIF	10	10	9	10	11	7
60	Absence de symptômes	9	10	9	8	8	4	
	Myxome primaire				1	2	3	
	Généralisation bénigne				1	1		3
	Généralisation grave							
	Mortalité Myxomatose							
	Mortalité autre cause	1						
	Mortalité témoins	2/2	1/1	2/2	2/2	0/2	0/2	1/1

TABLEAU N°9 : Résultats de l'observation clinique 21 jours après l'EV (groupe 4 : vaccination à 6 semaines)

EFFECTIF TOTAL (VO)	DATE E.V.	V7	V14	V21	V28	V35	V42	V49	V56	V63
		EFFECTIF	10	20	10	10	10	15	15	14
110	Absence de symptômes	10	20	10	10	7	13	8	1	5
	Myxome Primaire					1	2	2	5	2
	Généralisation Bénigne					2			2	
	Généralisation grave							3	4	2
	Mortalité Myxomatose							1	2	1
	Mortalité autre cause							1		
	Mortalité témoins	1/1	3/4	2/2	3/3	2/2	2/2	4/4	3/3	1/1

III - DISCUSSION :

Les différents protocoles de vaccination appliqués aux groupes 1, 2 et 3 tentaient de répondre aux impératifs suivants, dictés par les contraintes d'élevage du lapin de chair :

- âge de vaccination le plus précoce possible ;
- réduction du nombre de manipulations des animaux, donc du nombre d'injections de vaccin effectuées, si possible, au sevrage ou lors d'un changement de local d'élevage ou de la mise à l'extérieur des lapins jusqu'à la fin de l'engraissement.
- protection satisfaisante contre une contamination naturelle par le virus de la myxomatose jusqu'à l'abattage des lapins que nous avons fixé pour cette expérimentation à l'âge de 12 semaines.

Pour ces raisons, nous avons choisi d'élever les lapins dans les conditions habituelles du terrain jusqu'à l'épreuve virulente et d'utiliser un vaccin du commerce, sans respecter le protocole préconisé par le fabricant qui aurait obligé à multiplier le nombre d'interventions. Malgré cela, l'innocuité de la souche vaccinale est satisfaisante : seuls 10 lapereaux ont montré quelques signes cliniques bénins et transitoires après la vaccination. Le développement pondéral et l'état de santé des lapereaux durant la croissance ne semblent pas affectés par la vaccination même lorsqu'elle a lieu au sevrage.

Dans ces groupes, l'EV est sévère (1000 DIL par lapin) et entraîne la mort de la totalité des témoins. En revanche 85 lapins vaccinés du groupe 1 (70,2 %), 77 du groupe 2 (80,2 %) et 44 du groupe 3 (77,2 %) y survivent.

La protection conférée par la vaccination est donc réelle. Elle n'est cependant pas satisfaisante, car des généralisations graves mêmes curables ne sont pas acceptables.

Dans les conditions naturelles, la maladie est transmise par des insectes piqueurs, vecteurs mécaniques (le virus ne se multiplie pas dans leur organisme) : la dose inoculée au lapin est donc très inférieure à notre dose d'EV. En outre, la majorité des souches sauvages qui circulent actuellement en France sont d'un degré de virulence moindre que notre souche d'épreuve (4).

On peut donc faire l'hypothèse que les lapins ne présentant au plus qu'une généralisation bénigne, résisteraient à une contamination naturelle sans montrer de symptômes soient 80 lapins du groupe 1 (66,1 %), 52 du groupe 2 (54,2 %), 25 lapins du groupe 3 (43,8 %).

Quel que soit le protocole de vaccination utilisé, la protection est donc :

- incomplète : tous les individus d'un groupe ne sont pas protégés (absence de symptômes ou généralisation bénigne) ;
- hétérogène : les degrés de protection sont variables dans chaque groupe selon les individus. Certains meurent, d'autres font une généralisation grave retardée et survivent, d'autres font une généralisation bénigne, d'autres ne présentent pas de symptômes ou seulement un myxome primaire alors que les conditions d'expérimentations sont identiques pour tous.

Différentes raisons peuvent être invoquées pour tenter d'expliquer cette insuffisance, tenant à la vaccination, au lapin ou aux conditions de l'épreuve virulente.

Les lots de vaccins utilisés dans ces expérimentations ont été contrôlés par vaccination de lapins adultes, éprouvés 1 ou 2 mois après par 1000 DIL de notre souche Toulouse 1 : tous les lapins résistent à cette épreuve virulente et développent, au plus, un myxome primaire au point d'inoculation de la souche d'épreuve.

Le mode d'administration ne semble pas influencer sur le degré de protection : les lapins du groupe 1 et 37 lapins du groupe 2 ont été vaccinés à l'aide d'un dispositif à injection sans aiguille (Dermojet), les autres lapins avec seringue et aiguille intradermique permettant de mieux contrôler la dose injectée. Toutes les injections sont faites dans le derme de l'oreille droite.

La cause de l'insuffisance et de l'hétérogénéité des degrés de protection obtenus est plutôt à rechercher ch

La cause de l'insuffisance et de l'hétérogénéité des degrés de protection obtenus est plutôt à rechercher chez le lapin.

L'âge semble jouer un rôle : cette vaccination précoce met en lumière la variabilité des réponses individuelles à l'EV dans chacun des groupes. Il est possible d'immuniser des lapins à 4 semaines, ou à 6 semaines. En revanche le recours à un protocole de primo vaccination en deux injections (groupes 3) n'apporte aucune amélioration dans la solidité de la protection.

Cette hétérogénéité des réponses individuelles provient probablement en partie de l'existence cellulaire de la réponse immunitaire chez le jeune, et extrinsèques liés aux conditions d'élevage, à d'éventuelles infections intercurrentes, au stress lié au sevrage ou au transport des lapins avant la vaccination, par exemple (4,6).

Enfin, la sévérité de l'épreuve virulente peut contribuer à renforcer l'importance de ces variations individuelles de sensibilité au virus myxomateux ou de capacité de réponse à la vaccination.

Ces variations individuelles ont été souvent mises en évidence lors de l'évolution de myxomatose naturelle (4) ou signalées lors d'études sur le vaccin SG33 effectuées dans les conditions du terrain (1).

Pour préciser en partie les caractères de la protection obtenue (date d'apparition, durée notamment) nous avons mis sur pied les protocoles des **groupes 4 et 5**. La sévérité de l'épreuve virulente a été volontairement atténuée mais reste grande (100 DIL).

La protection conférée après EV par la vaccination, donc le pouvoir immunogène du vaccin, peut être quantifiée d'après ces critères :

- bonne protection : pas d'apparition de symptômes ou développement du seul myxome primaire au point d'inoculation de la souche d'épreuve ;
- protection insuffisante : généralisation bénigne durant les 21 jours de surveillance clinique ;
- Absence de protection : généralisation grave ou mort du lapin.

150 lapins sur 170 sont bien protégés quel que soit l'âge de vaccination. Cette protection existe dès le 7^{ème} jour et persiste jusqu'au 42^{ème} jour après vaccination. Dans le groupe 4 (vaccination à 6 semaines), aucune généralisation grave n'apparaît et 5 lapins seulement développent une généralisation bénigne. Ce résultat très favorable est peut être à nuancer car les témoins V35 et V42 ne sont pas morts, malgré une généralisation grave. Au total, 54 lapins sur 60 que comptait ce groupe sont bien protégés.

Dans le groupe 5 (vaccination à 4 semaines), 9 lapins présentent une généralisation grave à partir du 49^{ème} jour après vaccination et 4 lapins développent une généralisation bénigne. Au total, 96 lapins de ce groupe sur 110 sont bien protégés, 7 sur 9 l'étant encore 63 jours après la vaccination.

Les taux de protection obtenus dans ces groupes sont satisfaisants : 91,5 % dans le groupe 4, 85, 3 % dans le groupe 5. La dose de virus pathogène inoculée lors des EV est probablement supérieure à la dose de contamination des lapins dans les conditions naturelles. Il est donc possible de conclure à l'efficacité de la vaccination contre la myxomatose par la souche homologue modifiée SG33, dans nos conditions expérimentales.

Ces résultats demandent à être complétés par des travaux ultérieurs prenant notamment en compte le statut immunitaire de la mère et la composante cellulaire de la réponse immunitaire.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - GODARD (A.) - La myxomatose : une maladie à tenir sous haute surveillance.
Cuniculture. Novembre - Décembre 1987 n°78 14 (6)**
- 2 - HENAFF (R.) - La filière cunicole - Cuniculture - Mars-Avril 1988 -
80, 15 (2) - 93-95**
- 3 - GILBERT (Y.), PICAUVET (D.P.), CHANTAL (J.) - Diagnostic de la myxomatose : mise
au point d'une technique d'immunofluorescence indirecte. Utilisation de prélèvements
sur papier buvard pour la recherche d'anticorps.
Rev. Sci. Techn. Off. Int. Epiz., 1989, 8, 209-220**
- 4- JOUBERT (L.), LEFTHERIOTIS (E.), MOUCHET (J.) : La myxomatose (2 tomes).
Expansion Scientifique Editeur - Paris 1972.**
- 5 - SAURAT (P.), GILBERT (Y.), GANIERE (J.P.) : Etude d'une souche de virus
myxomateux modifiée.
Rev. Méd. Vét. 1978, 129, 415-451**
- 6 - SAURAT (P.), CHANTAL (J.), GANIERE (J.P.), GILBERT (Y.), PICAUVET (D.P.),
LEFORT (C.) : La réponse immunitaire dans la myxomatose. Etude de la réponse
humorale.
Bull. Mens. Off. Nation. Chasse - n°Sp Scien. Tech. Décembre 1980, 297-309**