

# Préparation d'un autovaccin contre les salmonelles et les colibacilles

S. Scalzo\*

## Résumé

Une méthode est décrite pour la préparation d'un autovaccin contre les Salmonelloses et les Colibacilloses bovines; elle possède l'avantage d'une facile réalisation technique et ne demande pas d'équipements sophistiqués.

## Summary

A method is described for manufacturing a self-vaccine against Salmonellae and Coli enteritis of cattle, characterized by a simple technique not requiring any sophisticated equipment.

## Introduction

Les Salmonelloses et les Colibacilloses sont des maladies d'une grande importance économique et sanitaire, tant dans les élevages intensifs même bien gérés, que dans les élevages semi-extensifs pratiqués dans de mauvaises conditions d'hygiène.

Dans les deux cas, les possibilités d'infection des animaux, notamment des veaux, sont très importantes, étant donnée la large distribution des bactéries, leur capacité de survie et la facilité de contamination.

La maladie peut prendre une allure clinique particulièrement grave chez les veaux nouveaux-nés (forme septicémique) avec mortalité qui peut dépasser les 75 %.

Les Salmonelloses bovines constituent un ensemble épidémiologique particulier favorisé par l'intensification des élevages en vue d'une productivité plus performante. Très important se révèle dans ce cas la présence d'animaux infectés en forme latente et l'utilisation de concentrés souvent porteurs de Salmonelles même en faible quantité.

En ce qui concerne les Colibacilloses, il faut rappeler que *E. coli*, germe normalement présent dans les intestins, présente des caractéristiques pathogènes en relation avec l'état immunitaire de l'hôte et avec la présence de certains composants antigéniques: un "facteur d'attachement" (p.e. K88, K99, des appendices filamenteux protéiques à localisation capsulaire) et la production d'entérotoxines (thermosensibles et thermostables). L'existence simultanée de ces deux facteurs de virulence est indispensable pour que la maladie se déclenche.

Il ne faut pas oublier en outre que les bactéries interviennent souvent comme germes de complication des viroses intestinales et erreurs diététiques.

Dans le cadre de la prophylaxie contre les Salmonelloses et les Colibacilloses bovines, on peut envisager l'utilisation d'un autovaccin fabriqué par des petits laboratoires modestement équipés.

Les raisons pour lesquelles ce type de vaccin est souhaitable sont liées tout d'abord à une certaine spécificité que l'on peut atteindre (la souche utilisée est la souche locale) ensuite par le fait que peu de grandes sociétés pharmaceutiques s'intéressent à ce genre de vaccin.

Dans les pages qui suivent est décrite la technique utilisée dans le Centre de dépistage des maladies animales à Erpent (Namur-Belgique) (1)

## Matériels et méthodes

### 1) Milieux

— **BHI** (Brain Heart Infusion), obtenu par Conforma S.A., Zenderstraat 10, B-9120 Destelbergen

|                            |              |
|----------------------------|--------------|
| Composition :              |              |
| Calf brain infusion solids | 12,5 g/litre |
| Beef heart infusion solids | 5,0 g/litre  |
| Proteose peptone           | 10,0 g/litre |
| Dextrose                   | 2,0 g/litre  |
| Sodium chloride            | 5,0 g/litre  |
| Disodium phosphate         | 2,5 g/litre  |
| pH = 7,4 ± 0,2             |              |

— **Milieu de Girardeau**, obtenu par Gibco Europe S.A., Drongensessesteenweg 68, B-9000 Gent

|  |              |
|--|--------------|
| Composition :  |              |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 2H <sub>2</sub> O | 10,1 g/litre |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                      | 1,36 g/litre |
| Solution minérale*                                   | 1 ml         |
| Casaminoacides                                       | 2 g/litre    |
| Glucose  | 1,5 g/litre  |
| Ac. aspartique                                       | 3 g/litre    |
| Désoxycholate de sodium                              | 1 g/litre    |
| Extrait de levure                                    | 0,3 g/litre  |

\* Celim Bergamo B.P. 218 - Koudougou - Burkina Faso.

\* : composition de la solution minérale

|  |        |
|--|--------|
| MgSO <sub>4</sub>                      | 5 g    |
| MnCl <sub>2</sub>                      | 0,5 g  |
| FeCl <sub>3</sub>                      | 0,5 g  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,001 N | 100 ml |

— **PSB** 0,025 molaire, pH 7,2

|   |              |
|---|--------------|
| NaCl  | 8,5 g/litre  |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O | 3,56 g/litre |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 0,68 g/litre |
| + Formol 40 %                                       | 2 ml         |

— **Tween 80** (Fluka), **Arlacel A** (Sigma), fournis par Vel/Geldenaaksebaan 464/ B-3030 Leuven,

— **Marcol 52** (ESSO)

## 2) Matériels

Ballons Pyrex fond plat, tubes à essais, boîtes de Petri, tubes à cultures avec capuchon, ultraturax ou appareil à ultrasons.

## 3) Souches vaccinales utilisées et préparation des vaccins

**Isolement de la souche vaccinale.** Les souches, *E. coli* ou *Salmonella*, sont isolées à partir des échantillons provenant des fermes atteintes, en utilisant les méthodes bactériologiques classiques.

**Préparation du vaccin.** La souche est ensemencée dans un tube contenant 5 ml de BHI; la culture est incubée à 37°C et placée à l'étuve pendant 24 heures. Après ce délai, le contenu du tube est transféré dans 1,5 l de milieu de Girardeau, que l'on incube dans les mêmes conditions que ci-dessus durant 24-72 heures. Le milieu de culture Girardeau permet une bonne expression des structures d'attachement de *E. coli*.

Deux ml de bouillon sont prélevés pour compter les germes, en mesurant la transmission de la suspension (néphélométrie; 2 ml dans 9 ml de sérum physiologique). La numération est nécessaire pour déterminer la quantité de formol à ajouter à la suspension et la dose du vaccin à administrer. On utilisera 5 ml de formol 40 % pour 1,5 l de bouillon contenant environ 6 x 10<sup>8</sup> germes/ml.

La suspension formolée est placée à l'étuve (37°C) pendant encore 24 heures. Pour que le formol soit vraiment efficace il est nécessaire de le faire agir à une température minimale de 20°C (donc dans les tropiques pendant la saison chaude, on peut laisser les ballons à température ambiante).

Ensuite, le bouillon formolé est soumis à un test de stérilité: 2 gouttes dans 5 ml de BHI à l'étuve pendant 24 heures. Si le test est négatif, deux applications sont alors possibles:

### a) Vaccin-bouillon

Celui-ci n'est plus utilisé comme vaccin injectable en raison du risque de choc dû d'une part aux protéines du bouillon et d'autre part à une diffusion trop

rapide du vaccin. On ajoute alors un colorant (ceci permet une plus facile identification vis-à-vis des vaccins injectables) et on l'administre aux veaux comme **vaccin buvable** à la dose de 15 ml/jour pendant 10 jours. Il faut commencer à administrer le vaccin quelques jours avant la date habituelle d'apparition des troubles (c.à.d. vers les 7ème et 8ème jours pour le vaccin *Salmonella*). Ce vaccin confère une immunité à IgA dans l'intestin, et il est souvent utilisé pour les veaux nés de vaches non vaccinées. Le vaccin est administré mélangé au lait. Il n'est pas affecté par les antibiotiques (2). La protection vaccinale locale est déjà installée 24-48 heures après la première vaccination (3).

### b) Vaccins injectables

On utilise deux types de vaccins: le vaccin tamponné et le vaccin adjuvé. Les vaches à vacciner reçoivent les deux vaccins, dans le but de donner une première stimulation antigénique relativement faible (vaccin tamponné) suivie d'une deuxième plus forte et de plus longue durée par le vaccin adjuvé.

Le bouillon formolé est centrifugé à 5000 g pendant 30 mn. La centrifugation est effectuée à l'aide d'une centrifugeuse réfrigérée. Les culots sont utilisés pour la préparation du vaccin définitif.

b1) La fraction destinée à la préparation du **vaccin tamponné** est reprise dans du PBS formolé puis placée à l'étuve pendant quelques heures pour permettre au formol de mieux agir. Le volume de PBS formolé est déterminé suite à la numération des germes, pour obtenir la concentration finale désirée. Avant d'être mis en flacon le vaccin est encore soumis à un test de stérilité. Le vaccin final contient 2,5 x 10<sup>8</sup> germes par ml, administrable aux vaches au 7ème mois de gestation à la dose de 10 ml par voie sous-cutanée.

b2) La fraction destinée à la préparation du **vaccin adjuvé** est reprise dans une solution composée de:

|              |      |
|--------------|------|
| Tween 80 (*) | 50 % |
| Marcol       | 45 % |
| Arlacel A    | 5 %  |

(\*) = solution 2 % dans du sérum physiologique

L'émulsion est réalisée par passage pendant 5-6 mn à l'Ultraturax à 10.000 tours ou bien à l'aide d'un appareil à ultrasons. On place à l'étuve pendant quelques heures et on fait de nouveau le test de stérilité. Dans le cas du vaccin adjuvé, le résultat de ce test est pratiquement illisible (présence de l'émulsion à la surface du BHI). On fait alors un deuxième test à partir du premier. Si le deuxième test est négatif, on peut placer le vaccin dans des flacons et le distribuer. Le vaccin final contient 1,2 x 10<sup>9</sup> germes par ml, administrable par voie sous-cutanée 7 à 10 jours après le vaccin tamponné à la dose de 10 ml (2).

#### 4) Posologie de l'autovaccin contre les Salmonelles chez les veaux :

veaux nés de vaches vaccinées :

|            |               |    |
|------------|---------------|----|
| 15ème jour | 2 ml tamponné | SC |
| 21ème jour | 6 ml tamponné | SC |
| 27ème jour | 5 ml adjuvé   | SC |

veaux nés de vaches non vaccinées :

vaccin buvable dès le 1er jour pendant 15 j (15 ml/j)

|            |               |    |
|------------|---------------|----|
| 4ème jour  | 2 ml tamponné | SC |
| 10ème jour | 6 ml tamponné | SC |
| 15ème jour | 5 ml adjuvé   | SC |

voie de développement lorsque les nécessités économiques et la surpopulation ne leur laissent comme choix que la pratique des élevages intensifs ou semi-intensifs où les Salmonelloses et Colibacilloses trouvent un milieu idéal.

Dans tous les cas, il ne faut pas oublier que l'efficacité de n'importe quel vaccin ne sera jamais entièrement atteinte si on n'intervient pas en même temps sur les conditions hygiéniques de l'élevage, sur l'alimentation, sur le confort des animaux, en vue d'augmenter leur propre défense immunitaire non spécifique.

#### Conclusion

L'introduction de cette méthode de production d'autovaccin, qui n'exige pas un équipement sophistiqué et qui possède l'avantage de la spécificité de la souche vaccinale est souhaitable dans les pays en

#### Remerciements

J'adresse mes remerciements au Docteur Professeur P. Kageruka et au Docteur Vétérinaire Y. Botton pour leur précieuse collaboration dans la réalisation de ce travail.

### Références bibliographiques

1. Botton Y., communication personnelle
2. Botton Y., 1981, communication à l'IMT d'Anvers .
3. Cahiers Bleus Vétérinaires Hoechst, 1980, n° 28.

S Scaizo, Burkina Bé. Docteur en Médecine Vétérinaire.

The opinions expressed are the sole responsibility of the author(s) concerned.

Les opinions émises sont sous la seule responsabilité de leurs auteurs.

De geformuleerde stellingen zijn op de verantwoordelijkheid van de betrokken auteur(s).

Las opiniones presentadas estan a la responsabilidad unica de los autores concernados.