

2V0000920

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES  
AGRICOLES (I.S.R.A.)

-----  
LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE  
ET VE RECHERCHES VETERINAIRES

DAKAR - HANN

DEPARTEMENT DE RECHERCHES  
SUR LES PRODUCTIONS  
ET LA SANTE ANIMALES

**SEMINAIRE F.A.O.**

RAPPORT DE STAGE SUR LA PRODUCTION  
DES VACCINS AVIAIRES A VIRUS AU LABORATOIRE  
DE PATHOLOGIE ANIMALE DE BINGERVILLE (COTE D'IVOIRE)  
DU 03 AU 07 OCTOBRE 1988

Par Sayla DIAGNE

REC. MS. 001, 001  
AUG 1989

## INTRODUCTION

Dans le cadre d'aide aux pays en voie de développement, la F.A.O. ne cesse d'apporter son concours à l'amélioration des équipements utilisés et a toujours mis l'accent sur la formation aussi bien pratique que technique d'un personnel compétent.

C'est dans cet esprit que se situe le séminaire sur la production des vaccins aviaires qui a été récemment organisé à Bingerville (Côte d'Ivoire) du 03 au 07 octobre 1988.

### I - VOYAGE ET ACCUEIL

a) Départ de Dakar, le dimanche 02 octobre 1988 à 20 H 15, Vol RK 112  
Arrivée à Abidjan Port Bouet vers 22 H 40 le même jour.

b) Accueil par le Docteur SYLLA chargé du contrôle de qualité des vaccins à Dakar.

La Police de l'aéroport ayant égaré notre passeport au cours des formalités d'entrée, nous avons pu obtenir un récépissé grâce à l'intervention du Docteur SYLLA à 02 H 15 mn du matin.

Le Docteur SYLLA devant nous conduire au grand hôtel pour notre hébergement. Nous devions déménager le 05.10.88 pour l'hôtel Korankhro de Mucory, à cause du coût élevé par rapport au taux calculé pour Bingerville.

Le vendredi 07.10.88, un montant nous a été versé pour compenser l'écart.

### II - DEROULEMENT DU SEMINAIRE

La séance officielle d'ouverture s'est déroulée en présence du représentant du Ministre de la Production animale de la Côte d'Ivoire, des représentants et experts de la F.A.O., et des autorités administratives de la ville de Bouaké.

Après les cérémonies officielles d'ouverture des travaux par le représentant du Ministre de la Production animale de la Côte d'Ivoire :

Le Docteur Antonio a traité de :

- l'importance des maladies aviaires et des vaccins
- la Prophylaxie de la maladie du Newcastle et de la Variole aviaire
- la méthodologie générale de la Production du vaccin
- la technologie de la Production du vaccin
- la lyophilisation et son principe .
- une projection de diapositives sur l'élevage (S.P.F.) a suivi cet exposé.

Après cette projection, il nous a causé de

- l'approvisionnement en oeufs embryonnés. S.P.F. et semi S.P.F.
- la visite du laboratoire et démonstration pratique
- du test de l'hémogglutination et de l'inhibition de l'hémogglutination
- l'autopsie et diangostic.

Le Docteur ANGBA, Directeur du Laboratoire, n'a pas ménagé ses efforts pour le bon déroulement du séminaire. Il nous a guidé dans les deux visites et travaux pratiques (T.P.) que nous avons effectués dans les locaux du laboratoire.

Le Docteur SYLLA nous a entretenu :

- de l'introduction du contrôle de qualité
- du principe du contrôle
- du titrage et calcul du titre
- la copie de chaque cours nous a été remise
- un film sur la maladie du Newcastle a été projeté

Une discussion très animée a suivi.

Au dernier jour du séminaire, il a été demandé à chaque participant de présenter rapidement ce qui se fait dans son laboratoire en matière de production des vaccins aviaires.

// SEMINAIRE F.A.O. SUR LA  
PRODUCTION DES VACCINS  
AVIAIRES

-----  
3 - 7 OCTOBRE 1988

BINGERVILLE - COTE D'IVOIRE  
-----

LISTE DES PARTICIPANTS

CAMEROUN

: Dr. ZOYEM NORBERT  
Laboratoire National Vétérinaire  
(LANAVET) B.P. 503 - GAROUA

GUINEE

: Dr. MAMADOU BOYE DIALLO  
Laboratoire de Production de Vaccins de KINDIA  
B.P. 146 - GUINEE

Dr. ALHASSANE DIALLO  
Laboratoire de Production de Vaccins de KINDIA  
B.P. 146 - GUINEE

MALI

: SIDI DIAWARA  
Laboratoire Central. Vétérinaire  
B.P. 2295 - BAMAKO

NIGER

: OUMAROU HAOUKOYE  
LABOCEI, B.P. 485 - NIAMEY

.../...

SENEGAL : **DIAGNE BAYLA**  
L. NERV DE HANN  
B.P. 2057 - DAKAR

TCHAD : **ADAM HASSANE YACOB**  
Laboratoire de FARCHA  
B.P. 433 - N'DJAMENA

ZAIRE : **Dr. BANZA MWANA**  
Laboratoire Vétérinaire de LUBUMBASHI  
B.P. 7298 - TÉL. 3514 - LUBUMBASHI

COTE D'IVOIRE : Laboratoire de Pathologie Animale  
B.P. 206 - BINGERVILLE -

**Dr. ANGBA ASSY**  
" **OUATTARA MAMADOU**  
**Mr. SANOGO BAZOUMANA**  
" **BONI YAPO**  
" **ADON GNANGUI**  
" **CHUI ALEPO HYACINTHE**

F.A.O. : **Dr. ANTONIO DI MARIA**  
National Veterinary Institute  
P.O. BOX 19  
DEBRE-ZEIT  
ETHIOPIE

**Dr. SYLLA DACUDA**  
s/c F.A.O B.P. 154  
DAKAR - SENEGAL

FAO - CENTRE REGIONAL  
DE CONTROLE DE QUALITE  
DES VACCINS  
BP 154 DAKAR  
TEL. : 32-60-49  
TELEX 61138 FOODAG SG.

SEMINAIRE SUR LA PRODUCTION DES VACCINS AVIAIRES A VIRUS

AU LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ANIMALE (LPA) BINGERVILLE

03 - 07 OCTOBRE 1988

LUNDI 03 OCTOBRE 1988 : 08.00 - INSCRIPTION DES PARTICIPANTS  
09.00 - OUVERTURE OFFICIELLE DU SEMINAIRE  
09.30 - SUSPENSION DE SEANCE  
10.08 - INTRODUCTION - IMPORTANCE DES MALADIES AVIAIRES ANTONIO  
10.30 - PAUSE CAFE  
11.00 - PROJECTION FILM OU DIAPOSITIVES - COMMENTAIRES NAWATHE  
SYMPTOMES DE LA MALADIE DE NEWCASTLE (NDV)  
SYMPTOMES DE LA VARIOLE AVIAIRE (VA)  
12.30 - VISITE DU LPA RESP.LPA  
15.00 - FIN DE JOURNEE

MARDI 04 OCTOBRE 1988 : 03.90 - DIAGNOSTIC : DEMONSTRATION PRATIQUE NAWATHE  
AUTOPSIE  
PROJECTION DE DIAPOSITIVES NAWATHE  
10.30 - PAUSE CAFE:  
11.00 - DIAGNOSTIC : DEMONSTRATIONS PRATIQUES NAWATHE  
TEST D'HEMAGGLUTINATION (HA)  
TEST D'INHIBITION DE L'HEMAGGLUTINATION  
AUTRES TESTS DE DIAGNOSTIC  
12.30 - PAUSE CAFE  
13.00 - ISOLEMENT DU VIRUS NDV ET VA NAWATHE  
15.00 - FIN DE JOURNEE

MERCREDI 05 OCTOBRE 1988 : 09.00 - PROPHYLAXIE DE LA NDV ET VA ANTONIO  
METHODOLOGIE GENERALE DE LA PRODUCTION  
DU VACCIN NDV ET VA ANTONIO  
10.30 - PAUSE CAFE  
11.00 - TECHNOLOGIE DE LA PRODUCTION DU VACCIN  
NDV ET VA ANTONIO  
12.00 - VISITE DU SERVICE DE PRODUCTION  
DES VACCINS RESP.LPA  
12.30 - PAUSE CAFE  
13.00 - LYOPHILISATION - PRINCIPE ANTONIO  
14.00 - LYOPHILISATION D'UN LOT DE VACCIN RESP.LPA  
15.00 - FIN DE JOURNEE (Supervisé par ANTONIO/NAWATHE)

JEUDI 06 OCTOBRE 1988 : 09.00 - APPROVISIONNEMENT EN OEUF EMBRYONNE ANTONIO  
OEUF SPF ET SEMI SPF  
10.30 - PAUSE CAFE  
11.00 - CONTROLE DE QUALITE - INTRODUCTION SYLLA  
PRINCIPE DU CONTROLE  
TITRAGE ET CALCUL DU TITRE ANTONIO/  
AUTRES ELEMENTS DU CONTROLE DE QUALITE NAWATHE  
12.30 - PAUSE CAFE  
13.00 - PRESENTATION DES PARTICIPANTS PAR PAYS  
14.00 - FIN DE JOURNEE

VENDREDI 07 OCTOBRE 1988 : 09.00 - PRESENTATION DES PARTICIPANTS PAR PAYS  
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION  
10.30 - PAUSE CAFE  
11.00 - SEANCE OFFICIELLE DE CLOTURE.

SEMINAIRE SUR LA PRODUCTION  
DES VACCINS AVIAIRES A VIRUS

---

AU LABORATOIRE DE PATHOLOGIE  
ANIMALE (L.P.A.) BINGERVILLE  
3 - 7 OCTOBRE 1988

---

PAR DOCTEUR ANTONIO DI MARIA

---



# IMPORTANCE DES MALADIES VIRALES ANIMALES ET DES VACCINS

---

## INTRODUCTION :

Parmi les maladies des volailles les viroses virales représentent un des facteurs limitant de la rentabilité des élevages avicoles, aussi bien en milieu tropical qu'en milieu tempéré, d'autant plus que la tendance actuelle à développer des élevages industriels rassemblant sur une faible surface un nombre considérable d'animaux, constitue un facteur favorable au développement des affections de diverses natures.

Nous allons dans un premier temps aborder cet exposé en passant en revue les principales viroses aviaires, tout en essayant de dégager leur mode de transmission et leur conséquence sur la rentabilité, et dans une deuxième partie : les vaccins, non pas en traitant de façon systématique les vaccins viraux, mais plutôt l'utilisation pratique des vaccins.

## I.) LES MALADIES VIRALES AVIAIRES

### 1./ La Maladie de Newcastle

Cette maladie est causée par un myxovirus, qui affecte principalement les poulets et les dindons. Le virus est transmis par les expectorations et les poussières de l'air. Il est véhiculé de ferme en ferme par les équipements, le personnel et les oiseaux sauvages.

La maladie peut causer une mortalité pouvant atteindre 90 % des jeunes sujets, alors que chez les sujets âgés, elle dépend de la virulence du virus.

.../...

## 2/ La Variole Aviaire

Cette virose est **causée** par un virus du groupe **pox**.

Elle est très répandue, les sujets **porteurs** semblent être à la base de l'infection. D'autre part, il est **démontré** que les insectes piqueurs tels que les moustiques, sont des agents de transmission. La **mortalité** peut atteindre 40 à 50 % quand les muqueuses buccales et nasales sont gravement atteintes. La forme **cutanée** ne **provoque** pas souvent de **mortalité**, mais elle est toutefois responsable d'une chute de ponte chez les **pondeuses**.

## 3/ La bronchite infectieuse

est causée par un virus du groupe **corona**. La transmission s'effectue par des **poussières contaminées** qui, véhiculées par le vent, peuvent **transmettre** la maladie dans les exploitations où toutes les précautions sont prises par ailleurs. Il **en** est de **même** par le personnel et le matériel.

La mortalité chez les sujets de **moins** de 6 semaines peut atteindre 25 % ; elle est négligeable chez les sujets âgés, mais elle **entraîne** une forte **chute** de ponte, un grand nombre d'oeufs déformés, **coquille** rugueuse, blanc de l'oeuf aqueux. La **convalescence** demande plusieurs semaines et la **ponte** n'atteint jamais le niveau normal.

## 4/ La Laryngo Trachéite Infectieuse :

est causée par un virus du groupe **herpes**. L'infection intervient le plus souvent par les voies respiratoires et le vent. La transmission par le matériel d'élevage ou les oiseaux sauvages semblent de peu d'importance.

.../...

La mortalité, dans le cadre d'une **épidémie** donnée, dépend de l'**état** sanitaire du **troupeau** et de la virulence de la souche.

Elle peut varier de 5 à 70 %, la **moyenne** semble se situer à 12 % environ. Chez les pondeuses, on remarque une chute de ponte de 10 à 60 %. La production est à nouveau normale après 4 semaines.

#### 5/ La maladie de Mareck.

causée par un **herpes** virus, est une maladie très **contagieuse** transmise **principalement** par les cellules desquamées des follicules **plumeux**. Elle apparaît **surtout** entre la 10<sup>e</sup> et la 20<sup>e</sup> semaine de la vie de la poule, et elle entraîne une **mortalité** pouvant varier entre 5 à 60 %, avec une moyenne de 15 %.

#### 6/ L'Encephalomyelite aviaire

est causée par un virus du **groupe** Picorna. La **transmission** se fait verticalement ; par l'oeuf, d'où réduction de la capacité d'éclosion. Chez les **pondeuses** et les reproductrices, la **maladie** entraîne une **importante** chute de ponte pouvant atteindre 60 %, la **remontée** est lente et **incomplète**, nécessite plus de 3 semaines. Les **œufs** de reproductrices malades ont un taux d'éclosion faible, la mortalité en **coquille** peut atteindre 75 %.

#### 7/ La Maladie de Gumboro

Cette maladie serait **transmise** par les volailles eux-mêmes, le matériel, le personnel. La **mortalité** est de l'ordre de 20 %, et la **mortalité** dépendrait de l'âge des sujets atteints, et varierait de 1 à 15 % ; chez les poussins de 3 à 5 semaines : 5 % en **moyenne**, et chez les sujets âgés, elle serait moins élevée.

#### 8/ La Leucose Aviaire

est causée par un **myxovirus**, et elle se **transmettrait** verticalement par l'oeuf. Elle peut également se propager entre les jeunes sujets par la salive et le jetage. La **mortalité** varie entre 5 à 40 % et peut dépendre de l'espèce et de la souche.

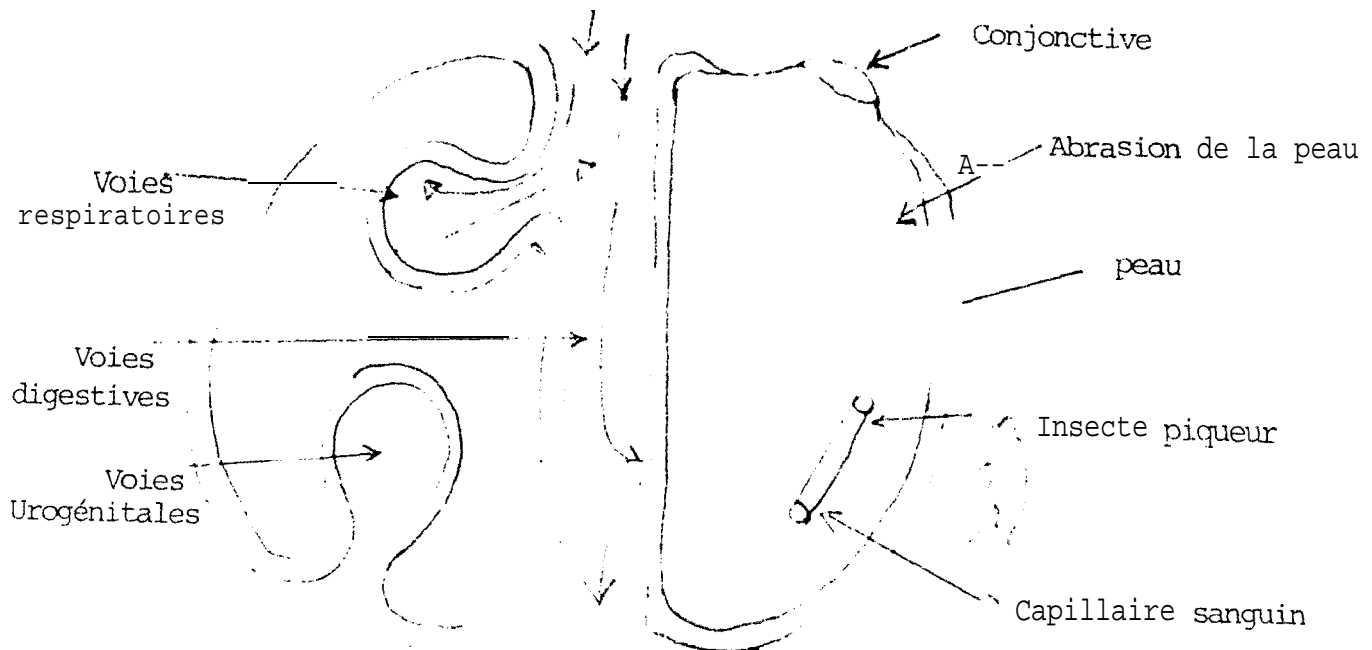
## II.) IA VACCINATION EN AVICULTURE

Dans un premier temps, nous allons essayer d'aborder cet aspect du sujet en exposant brièvement l'étude du processus infectieux afin d'identifier par une démarche logique, les voies possibles d'adminis-tration des antigènes vaccinants, et dans un deuxième temps, la vaccination proprement dite.

### 1/ Caractérisation d'antigènes vaccinants à partir du processus infectieux

Le déclenchement d'une maladie infectieuse se déroule essentiellement en deux étapes :

#### 1.1.- L'entrée du microorganisme dans le corps, ou fixation sur une muqueuse



Différentes modalités d'entrée d'un microbe dans un organisme.

## 1.2.- Multiplication du microbe soit sur place, soit après diffusion dans l'organisme

Après avoir franchi la barrière cutanée ou s'être fixé sur une muqueuse, le microbe peut :

### 1.2.1. Soit rester sur place en se multipliant :

A ce niveau du processus infectieux, peuvent intervenir l'immunité cellulaire, ou l'immunité humorale.

Les antigènes impliqués dans ces réactions sont soit les éléments de surface du microbe, soit les produits de dégradation ou de sécrétion des microbes.

### 1.1.2. Soit diffuser dans l'organisme

A côté des microbes qui restent sur place, il y a ceux qui passent à travers de la couche épithéliale et qui diffusent dans le corps. Cette diffusion peut se faire soit directement, soit par voie lymphatique ou par voie sanguine.

## 2/ Vaccination

Définition : La vaccination c'est "l'introduction dans l'organisme d'un vaccin". LE LAROUSSE

### 2.1. : Le Vaccin

La mise au point des vaccins microbiens a le plus souvent été réalisée de façon relativement empirique, soit en essayant de provoquer une maladie atténuée, voie de recherche qui a été particulièrement fructueuse pour les vaccins viraux, puisque c'est elle qui a donné son nom à la vaccination, soit en essayant d'introduire une protection avec des organismes complets inactivés.

**Les maladies** virales sont sans doute les maladies infectieuses pour lesquelles les vaccins utilisés sont les plus efficaces.

Aussi, des **progrès** importants ont été **accomplis** dans l'étude des antigènes viraux , progrès qui ont **abouti** ces dernières années à la mise au point dans le **domaine** vétérinaire d'un vaccin vivant contre la maladie de **Mareck**.

## 2.2.- Pourquoi vacciner

Deux maladies surtout la maladie de Newcastle, depuis une soixantaine **d'années**, et la variole aviaire, sont depuis plusieurs **années** signalées dans tous les pays africains à quelques rares exceptions. Les autres maladies virales **comme** la bronchite infectieuse, la maladie de **Mareck**, la laryngotrachéite, la **maladie** du **Gumboro** ou la leucose sont rencontrées, elles touchent surtout les élevages industriels , lesquels en Afrique ne connaissent pas encore une grande diffusion.

A côté de la **mortalité**, les viroses aviaires ont **pour** effet :

### - Chez les pondeuses

- . Baisse de ponte prolongée
- . Oeufs **anormaux**, fragiles, invendables.

### - Chez les poulets de chair

- . Augmentation des indices de **consommation**
- . Courbe de croissance allongée.

De ce fait, **pour** assurer une bonne rentabilité, un seul **moyen** : vacciner.

## 2-3.- Choix du vaccin

La vaccination contre une maladie aviaire virale consiste à introduire dans l'organisme de la volaille, un "matériel viral" dont on attend un effet protecteur. Ce matériel peut être :

- un vaccin **inactivé** : **inerté c'est-à-dire** incapable de se multiplier
- un vaccin vivant **attenué**, mis infectieux, capable de **provoquer** une **maladie** inapparente qui sera **à l'origine** de **l'immunité**.

Le choix d'un vaccin, quand il est possible, se fait en fonction des avantages et des inconvénients de **l'une** et de **l'autre forme**. Il se différencie par :

- la facilité de production
- l'emploi de souches vaccinales **attenuées** et **parfaitement tolérées**
- le risque de contamination par des virus adventices
- le **type de réponse immunologique**
- la complexité des **contrôles**
- et aussi par le prix de revient.

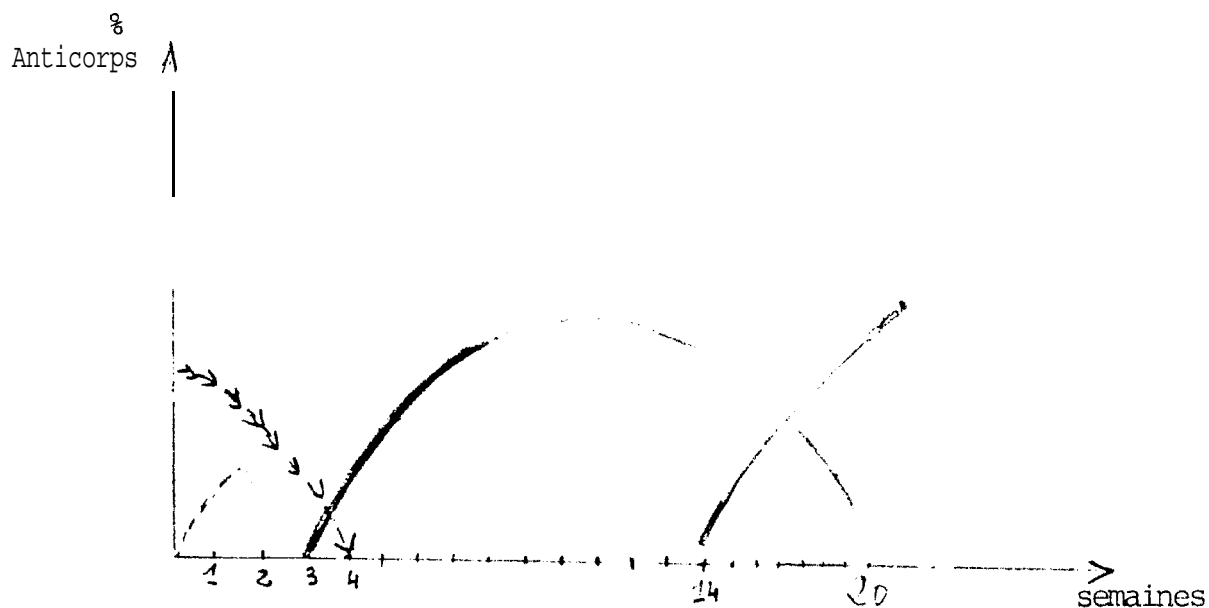
#### 2.4.- Quand vacciner

A sa naissance, le poussin bénéficie de la protection des anticorps maternels, mais le taux de ceux-ci est **très variable** et fonction de **l'état immunitaire** de la poule.

Le poussin est incapable de fabriquer des anticorps pendant les deux premières semaines de son existence,

- La vaccination au **premier jour** ne suscite pas la formation d'anticorps (le virus vaccinal **occupe** les cellules sensibles et en interdit l'invasion par le virus sauvage, c'est le phénomène de **hlcccage cellulaire**).

- A partir de la 2<sup>e</sup> semaine, le poussin est capable de produire ses propres anticorps. Il est donc possible de la vacciner.
- Après le 3<sup>e</sup> mis, les réponses aux vaccinations sont optimales
- Les rappels effectués entre la 16<sup>e</sup> et la 20<sup>e</sup> semaine avant l'entrée en ponte, procurent l'immunité la plus solide et la plus durable.



>>>>>> Immunité parentale

----- Vaccination au 1<sup>er</sup> jour

\_\_\_\_\_ Vaccinations normales : a) primo vaccination  
b) rappel.

## 2.5.- La voie de vaccination

Il s'agit d'un aspect de la vaccination qui est souvent considéré comme secondaire, alors qu'il est en fait très important pour des raisons :

.../...



- Pratiques :

- . rapidité pour la vaccination de **masse** (voie orale, voie intradermique)
- . prix de revient.

Immunologiques : le choix de la voie sera en fonction de 2 critères :

- . efficacité
- . innocuité

2.4.1.- Les différentes voies de vaccination

- Voies générales ( par effraction du revêtement cutanée

- . Intra musculaire
- . Intra dermique

- Voies locales (dépôt de l'antigène, sur les conjonctions)

muqueuses

- Conjonctive
- . digestive
- . respiratoires (installation nasale, aérosol).

Pour être efficace par voie locale, il faut connaître Les mécanismes de défense locaux, afin de pouvoir, soit les contourner (défense non immunologiques), soit les utiliser au profit de la vaccination (défenses immunologiques).

.../...

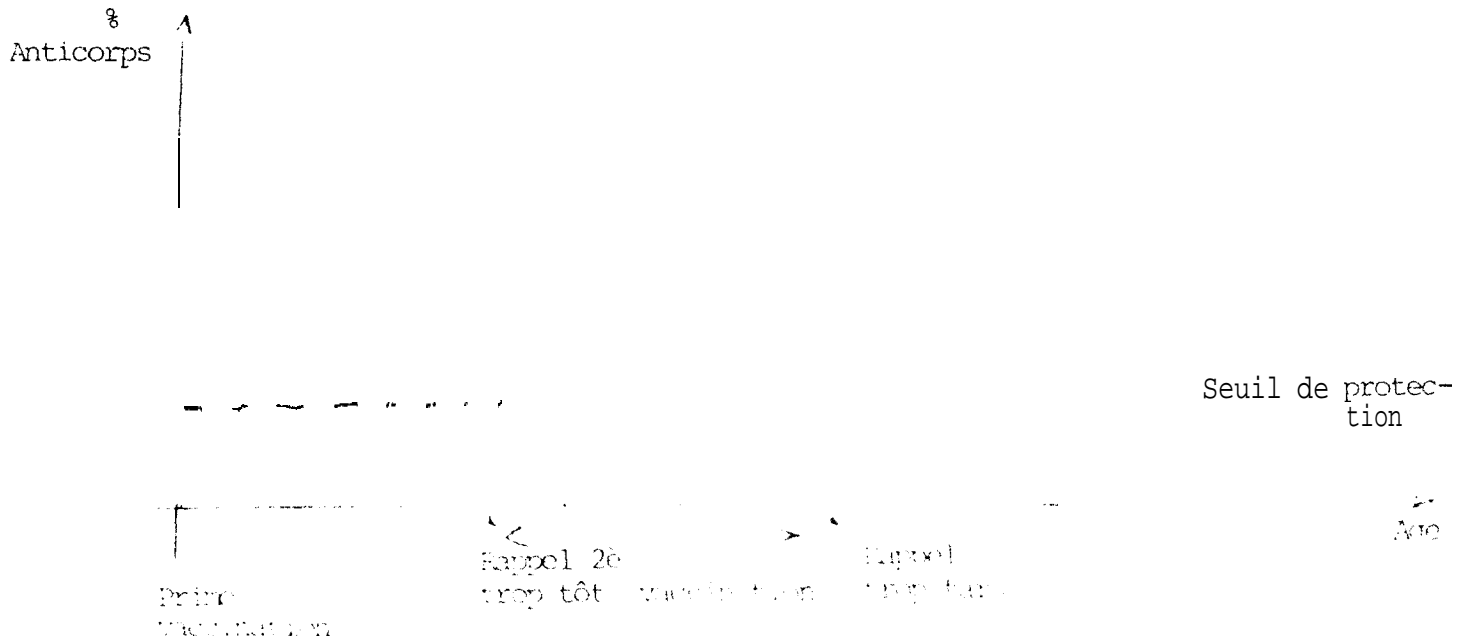
### 2.4.2.- Inocuité

Pour ce qui concerne le **problème** de la nocivité des vaccins viraux vivants ou inactivés en fonction de la voie de vaccination, il semble que :

- si l'antigène se multiplie, la voie est **moins** importante dans la **mesure** où le virus ira  **finalement** se multiplier dans les tissus pour lesquels il a un **tropisme**.
- Si l'antigène ne peut se multiplier, il est **possible** que la voie locale soit préférable, dans la **mesure où**, si elle est bien utilisée, elle peut **entrainer** une **immunité** locale, mais aussi générale.

### 2.6.- Intervalle entre les vaccinations

Après la première vaccination, le titrage des anticorps peut être représenté par un tracé (courbe). Les anticorps diminuent progressivement jusqu'à un niveau que l'on peut considérer comme le seuil de protection.



La période la plus favorable pour effectuer le rappel devra coïncider avec le passage de la courbe au niveau du seuil

- . Si le rappel est effectué trop tôt, l'immunité obtenue sera moins élevée et durera moins longtemps.
- . Si le rappel est effectué trop tard, l'immunité sera nulle pendant la période A <---> B, et les volailles pourront être contaminées à ce moment.

De nombreux contrôles ont permis de déterminer l'intervalle à respecter entre deux vaccinations qui est de 10 semaines (?)

## 2 - 7 - Choix d'une méthode de vaccination

### 2.7.1.- Les vaccinations individuelles

Installation oculaire ou nasale : pour la vaccination d'urgence des poussins de moins de 3 semaines.

Préparation du vaccin : dissoudre le vaccin dans le solvant (soluté physiologique normal)

Dosage :

( Nombre de doses	( Nombre de poussins moins de 3 semaines	( Quantité de Solvant
( 1.000	( 2.000	( 125 ml

#### - Administration :

A l'aide d'un compte goutte standardisé, on laisse tomber une goutte dans la narine ou dans l'oeil ;  
Veillez à ce que la goutte dans la narine soit inhalée.

- L'installation oculaire ou nasale provoque une réponse en anticorps plus prononcée et plus uniforme.

.../...

Trempage du bec

Pour la vaccination d'urgence de poussin

- Préparation du vaccin : dissoudre le vaccin dans de l'eau fraîche et claire.

- Dosage :

Nombre de doses	:	Quantité d'eau
1.000 doses	:	200 ml

- Administration : mettre la solution obtenue dans un récipient de façon que le liquide atteigne une hauteur d'environ 1 cm et s'y maintienne en ajoutant la solution vaccinale fraîchement préparée. Tremper le bec et les narines dans la solution (PAS LES YEUX).

Méthode folliculaire

Seulement pour la vaccination contre la variole.

La méthode folliculaire se pratique sur la face antérieure de la cuisse entre le genou et le jarret pour les poules ayant plus de 10 semaines, car avant cet âge, les follicules ne sont pas suffisamment développés. Enlever au moins une dizaine de plumes et appliquer à l'aide d'une petite brosse le vaccin sur les follicules vides.

Pour enlever les plumes, les extraire d'un mouvement sec et dans le sens de l'implantation. Les follicules ne doivent pas saigner, le sang éliminant le vaccin. Au cas où cet incident se produirait, recommencer l'intervention à un autre endroit.

.../...

Méthode de Wing Web (contre la variole aviaire)

Pour la vaccination d'urgence des poussins de 1 jour à 10 semaines.

- Préparation de la solution vaccinale : dissoudre **complètement** le vaccin
- Administration :
  - . Plonger avant chaque vaccination le stylet de vaccination de façon à ce qu'il soit bien **trempe**
  - . Piquer dans le dessous de la **palmure** de l'aile (**Wing-Web**) en prenant bien soin de ne pas toucher les plumes
  - . Eviter les muscles, les articulations voisines ainsi que les vaisseaux sanguins. Dans ce but, il faut agir avec précaution en tirant un peu sur la **palmure** de l'aile.

Remarques : (concernant les 2 méthodes utilisées contre la variole)

- Eviter de vacciner les volailles pendant la mue.
- Pour éviter toute transmission de **maladies infectieuses**, une **même** brosse ou stylet ne sera pas utilisé dans plusieurs exploitations différentes.

Conclusion sur les méthodes individuelles

(	(	Maladie de Newcastle	!	Variole	)
(	(	- Instillation	!	- Méthode folliculaire	)
(	(	- Trempage du bec	!		)
(	(		!		)



Une demi-heure plus tard, on dissout le reste des flacons et remplir de nouveaux les abreuvoirs en s'assurant que tous les oiseaux reçoivent la dose correcte pendant que la solution vaccinale est disponible.

- Dosage :

(	(	:	Volailles de 2 - 4	:	Volailles de plus de	)
(	Nombre de doses	:	semaines	:	4 semaines	)
(		:	Quantité d'eau	:	Quantité d'eau	)
(	1.000	:	10 - 20 litres	:	20 - 40 litres	)
(		:		:		)

Remarques :

- Veiller à ce que toute la solution vaccinale soit consommée en deux heures.
- Si nécessaire, multiplier le nombre d'abreuvoirs pour que les poules puissent y accéder sans peine
- Si le nombre d'oiseaux ne correspond pas aux présentations proposées, utiliser le dosage immédiatement supérieur.

- Vaccination par Nébulation

Elle est rapide, efficace, économique, nécessite des gouttelettes assez grosses. Elle est appliquée dans les couvoirs ou dans les élevages avicoles dès l'arrivée des poussins en boîte.

2.8.- Choix du programme

Il doit être

- Rationnel
- Economique
- adapté à l'exploitation.

-----

METHODOLOGIE GENERALE DE  
PRODUCTION DE VACCINS VIRAUX

-----

1. SUBSTRATS UTILISES POUR LA PREPARATION DES DEUXVACCINS

- Oeuf SPF (oeufs exempts d'agents pathogènes spécifiques)
  - . embryonnés de 10 à 11 jours
  - . Récolte de liquide allantoïdien (N.D.V)
  - . " des membranes chorio allantoïdiennes
  - . Culture de fibroblastes de poulets.

Lors du choix de substrat pour la préparation de vaccins, il est important de définir le procédé de culture assurant le meilleur rendement.

II. VACCINS VIVANTS ET VACCINS INACTIVES

Le choix de vaccin se fait en fonction des avantages et des inconvénients de l'une et de l'autre forme. Ils se différencient :

- par la facilité de production
- par le nombre d'intervention nécessaire
- par le type de réponse immunologique
- par la complexité du contrôle
- par le prix de revient.

111. SELECTION DE LA SOUCHE VIRALE

1) Les vaccins vivants (souches atténuées)

Les souches atténuées utilisées pour la préparation NCD et v ont été obtenues empiriquement.

Pour ces souches, la stabilité des caractères d'atténuation est un important critère de choix.

.../...



M2

2) Vaccins inactivés

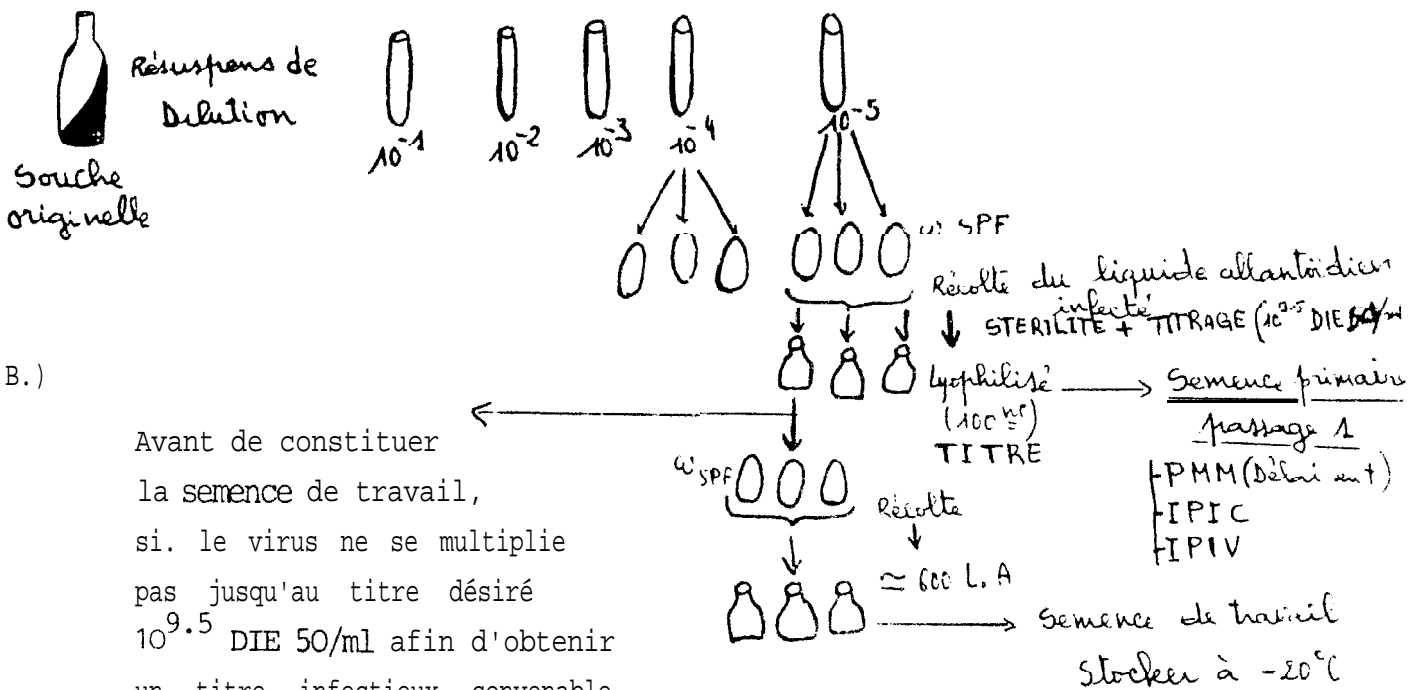
La **composition** antigénique et le pouvoir **immunogène** sont les **éléments** essentiels qui seront pris en considération dans le choix des souches.

Iv. PRINCIPE DE PREPARATION

1) Préparation de lot de semence de travail

Le choix des souches de **semence** pour la production de vaccin est très **important**. Aussi il est **recommandé** de se procurer du virus de **semence** ayant subi un **nombre** de passages aussi faibles que possible, car la souche qui a subi de nombreux passages sur **oeuf**, perd une partie de sa capacité d'infection pour les **poulets**.

Exemple : Constitution d'un lot de semence NCD

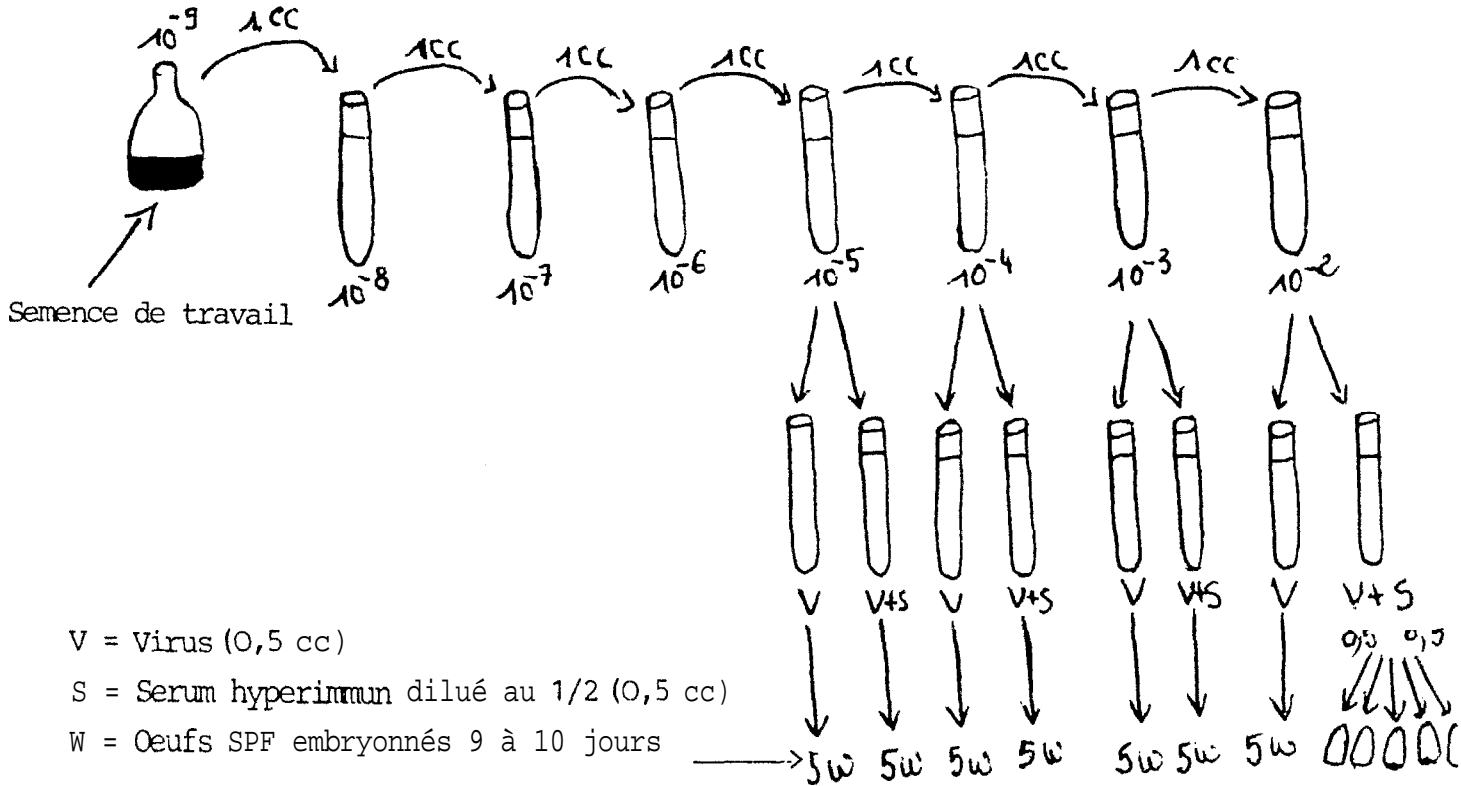


N.B.)

Avant de constituer la semence de travail, si le virus ne se multiplie pas jusqu'au titre désiré  $10^{9.5}$  DIE 50/ml afin d'obtenir un titre infectieux convenable, pratiquer 2 à 3 passages consécutifs sur oeuf SPF.

2) Contrôle de la pureté du virus de semence

Par neutralisation de l'agent spécifique, par un immunosérum de titre connu suivie de l'inoculation du mélange virus immunosérum à des œufs SPF.



3) Utilisation des souches de vaccins

L'immunité procurée par un vaccin vivant est en relation directe avec le degré de virulence du virus.

De ce fait, plus la souche de vaccin sera virulente, plus l'immunité sera bonne.

Dans le cas de la vaccination contre la maladie de Newcastle, l'immunisation jusqu'à l'âge de 3 mois sera effectuée par des souches lentogènes, et les rappels ultérieurs avec un vaccin du type mésogène.

.../...

#### 4) Vaccin inactivé

Afin de détruire l'infectivité, tout en conservant l'antigénicité, utiliser l'agent d'inactivation le mieux approprié (  $\beta$  propiolactone , Formol, phénol).

Recours aux adjuvants, minéraux ou huileux en vue d'obtenir une meilleure réponse immunitaire.

### V. CONTROLES DES VACCINS VIRAUX

#### 1) Pureté :

- Absence de contaminants microbiens : bactéries, champignons, mycoplasmes
- Absence du virus contaminant provenant du substrat (oeufs SPF embryonnés).

#### 2) Inccuité

Epreuve de routine, commune à tous les vaccins

#### 3) Identité

Contrôle de la nature de l'antigène viral ou du virus infectieux présent dans le produit final, il doit être identique au virus du lot de semence.

#### 4) Inactivation

Un vaccin inactivé, sous sa forme finale, ne doit contenir aucune particule virale infectieuse décolable par les épreuves les plus sensibles : inoculation d'oeufs embryonnés ou de systèmes cellulaires.

#### 5) Antigénicité : (Témoin du pouvoir immunisant) .

- Vaccins vivants : Evaluation du titre par détermination du nombre de doses infectantes minimum.
- Vaccins inactives : Titrage d'un antigène particulier (hémagglutinine) dans le cas NCD) .

TECHNIQUE D'INOCULATION DANS  
LA CAVITE ALLANTOÏDE  
( TECHNIQUE DE REVERIDGE & BURNET )

-----

- 1.- Désinfecter la région de la chambre à air avec de l'alcool à 70°
- 2.- Percer la coquille au centre de la chambre à air
- 3.- L'inoculation de la suspension virale est faite à l'aide d'une aiguille courte (15 mm de longueur et grosse (1,0 - 1,2mm de diamètre, au lieu d'une aiguille normale 3/10 - 4/10), sectionnée pour **supprimer** le biseau
- 4.- Pour injecter la suspension virale dans la cavité **allantoïde**, traverser la membrane **coquillière** et la **chorio-allantoïde (m.c.a.)** de quelques millimètres
- 5.- Au lieu où l'aiguille touche et traverse la **m.a.c.**, le virus se développe dans les cellules du chorion, et des lésions caractéristiques **confluentes** se produisent à ce niveau **comme** si le virus était **déposé** sur la **membrane**. D'autre part le virus inoculé dans la cavité **allantoïde** se fixe et se **replique** dans les cellules qui tapissent la m.c.a. **entraînant** la formation d'un grand nombre de lésions à l'aspect **miliaire**, envahissant la **membrane** entière.

EXPLICATION :

L'injection de l'inoculation dans la cavité **allantoïde** à l'aide d'une aiguille courte, grosse et sans biseau, permet d'un seul coup l'effet d'une double inoculation dans la cavité **allantoïde** et sur la m.c.a.

Car, étant donné la grande ouverture de l'aiguille au moment où l'aiguille est dirigée vers la cavité **allantoïde**, elle touche les membranes **coquillières** et **chorio allantoïde** sous-jacente, une gouttelette d'inoculum scuinte et diffuse entre elles aux alentours du point de pénétration. A ce niveau, on constate la présence constante de lésions confluentes agglomérées sur une surface de 10 à 15 mm de diamètre alors qu'avec une aiguille normale cette air est très réduite. D'autre part, en dehors du point de pénétration de l'aiguille, des foyers généralisés sur la m.c.a. entière sont observés.

AVANTAGES :

- Cette **méthode** réduit de moitié les difficultés et le risque de contamination rencontrées par la méthode d'inoculation du virus variolique sur la m.c.a..
- Le taux de mortalité est également réduit de 8 à 10 %
- Economie de **temps**, grâce à la rapidité **d'exécution**, notamment lorsqu'on a à incuber un grand nombre d'oeufs en production
- Le titre en virus est au moins égal à celui obtenu par la méthode de m.c.a.

Réf. : RECUEIL DE MEDECINE VETERINAIRE.

TOME 150 N° : 3, 1974 p 207 - 213

# METHODOLOGIE DE PRODUCTION DE VACCINS VIRAUX

## I SUBSTRATS UTILISÉS POUR LA PRÉPARATION DES DEUX VACCINS

## II VACCINS VIVANTS & VACCINS INACTIVÉS

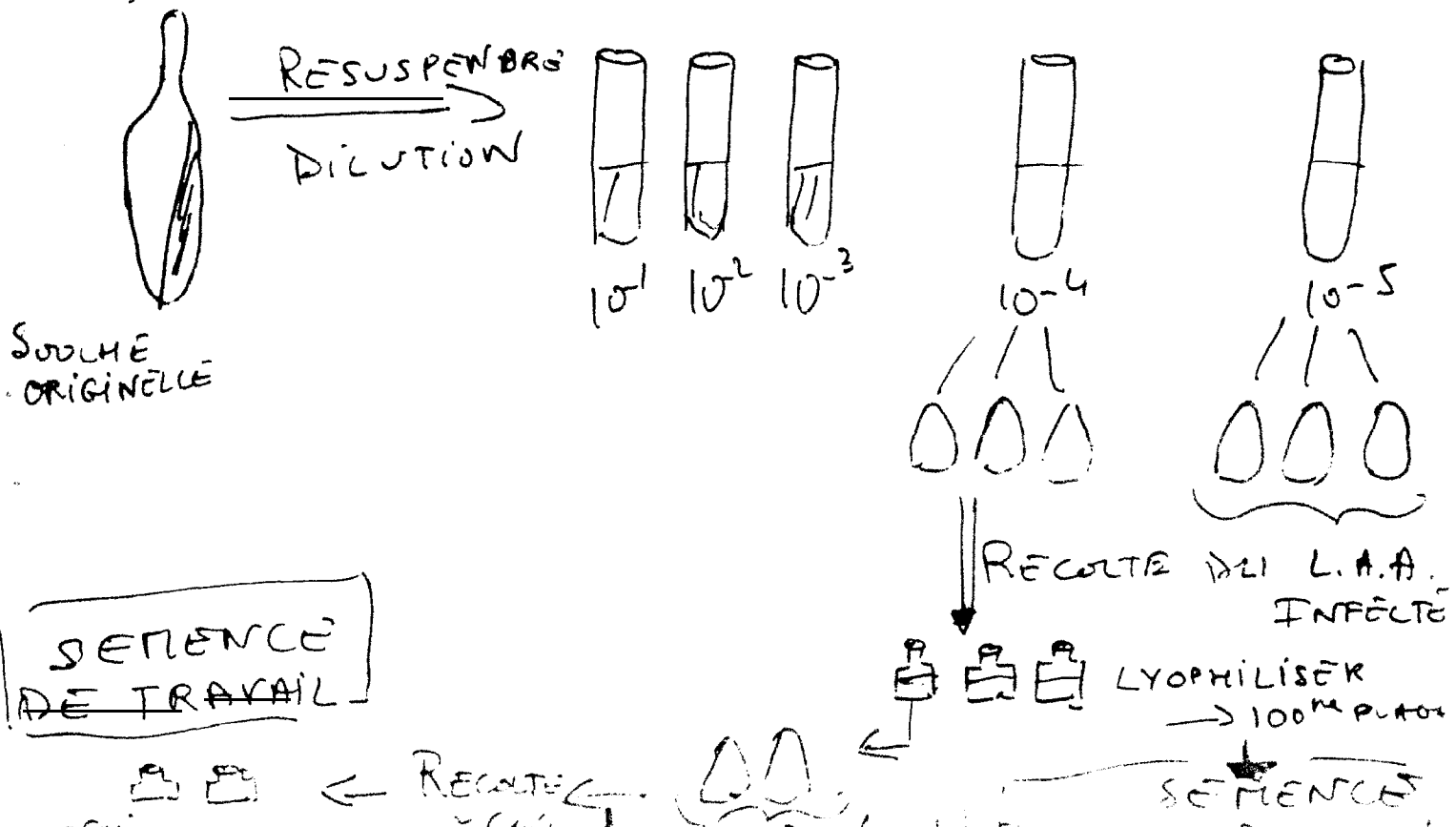
- AVANTAGE - Facilité de Prod.  
- Nb. d'Interven.  
- Complexité du contrôle  
- Prix de revient.

## III SÉLECTION DE LA SOUCHE VIRALE

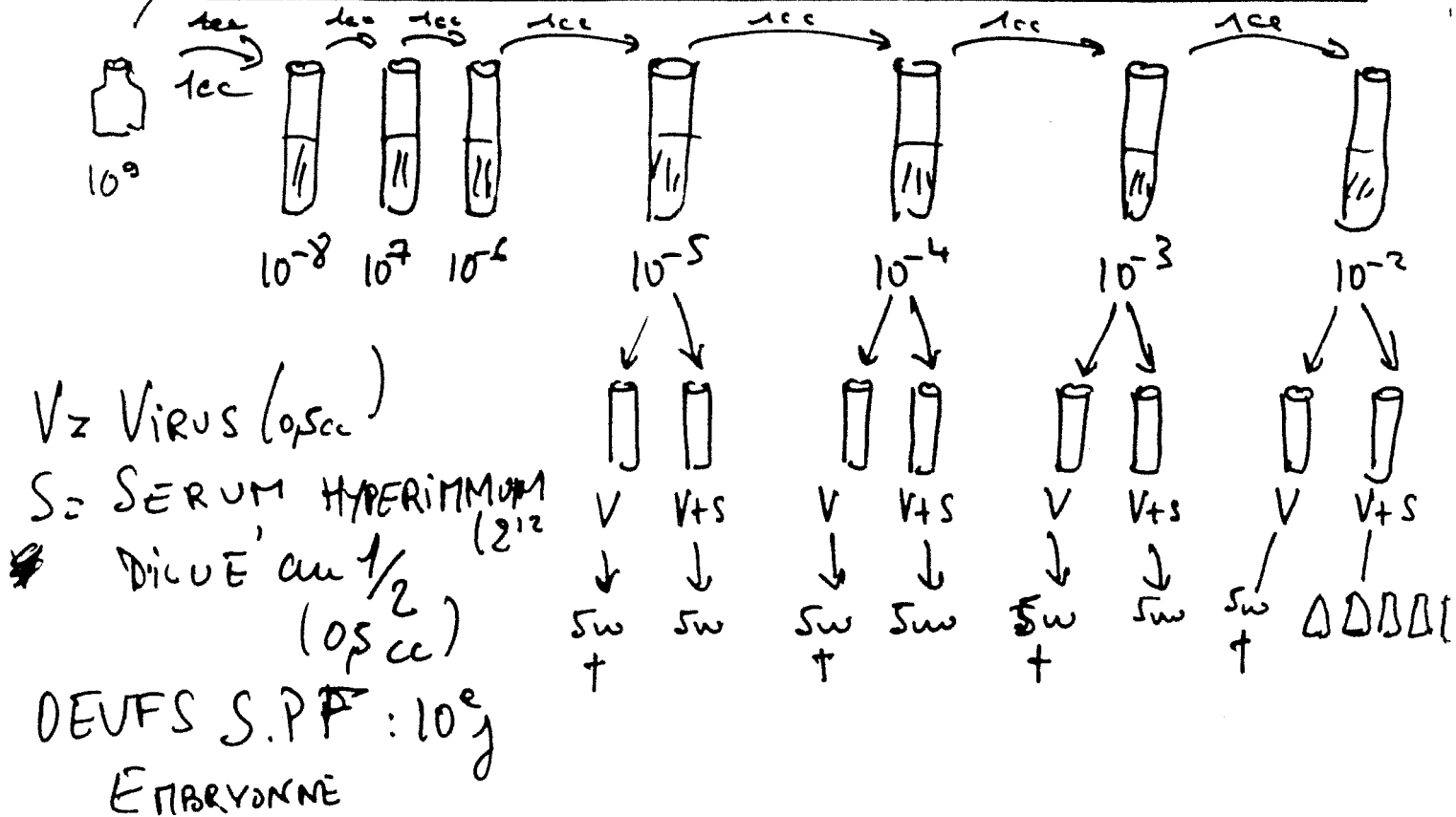
- 1) VACCINS VIVANTS
- 2) " INACTIVÉS

## IV PRINCIPE DE PRÉPARATION

### 1) PRÉPARATION DE LOT DE SÉRIENCE DE TRAVAIL



## 2, CONTRÔLE DE LA PURETÉ DE VIRUS DE SITES



## 3, UTILISATION DES BOUCHES DE VACCIN

## 4, VACCIN INACTIVÉ

## V CONTROLES DES VACCINS VIRAUX

- 1, PURITÉ
- 2, INOCUITÉ
- 3, IDENTITÉ
- 4, INACTIVATION
- 5, ANTIGÉNICITÉ

# LA VARIOLE AVIAIRE

- Conséquences de la variole
- PROPHYLAXIE PPT DITE

- 1) Mesures Hygiéniques
- 2) Vaccination
  - a) - Types de Vaccin
  - b) - Quand faut-il vacciner
  - c) - Méthode de Vaccination
  - d) - Choix d'une Méthode
- 3) Contrôle de la réaction
  - ↓
  - Absence de Réaction p. à durée
- 4) Durée de l'immunité'
- 5) Règles à Respecter.



TECHNIQUE DE LA TRYPSINISATION  
DES EMBRYONS DE POULET

\*\*\*\*\*

A) MATERIEL

- Pincés ; ciseaux
- Boite de Pétri (grande) ; verre à pied ; Pipettes (1, 2, 10 ml)
- Fioles à trypsiner + barreau magnétique ; tube conique gradué
- Agitateur magnétique
- Pots à centrifuger stériles
- Centrifugeuse
- Flacons (plasma) de 1 litre
- Milieu de Hanks ; liqpsine
- .. Alcool a 70" ou Alcool iodé à 1%
- Oeufs SPF embryonnés de 10 jours

B) PREPARATION ET PRELEVEMENTS DES EMBRYONS

- 1.- Désinfecter les œufs avec de l'alcool à 70° dans la région de la chambre à air
- 2.- Découper avec la pince selon le contour de la chambre à air
- 3.- Saisir chaque embryon avec les pincés et les déposer dans la boite de pétri
- 4.- Couper la tête et les pattes, et transférer l'embryon dans un verre à pied
- 5.- Laver les embryons avec la solution de Hanks éliminer le liquide de lavage
- 6.- Hacher finement les embryons avec des Ciseaux, puis laver deux fois les fragments en solution de Hanks, puis une fois avec une quantité de trypsine

.../...

C) TRYPsinISATION

- 1.- **Transférer** les embryons dans la fiole à **trypsiner** contenant le barreau aimante
- 2.- Rincer avec 10 ml de **trypsine** - laisser sedimenter - jeter le surnageant
- 3.- Ajouter 50 ml de **Trypsine (2,5 %)**
- 4.- Faire **tourner** sur l'agitateur magnétique pendant une 1/2 heure à vitesse moyenne à 37°C
- 5.- Laisser déposer les fragments au fond de la fiole et vider le **liquide** contenant les cellules dans le pot à centrifuger, **maintenu** au froid et contenant 1 ml de serum stérile, en filtrant sur **plusieurs** épaisseurs de gaze stérile
- 6.- **Remettre** 50 ml de trypsine dans la fiole à trypsiner et repeter l'opération pendant une **demi** heure
- 7.- **Decanter de la même** façon dans un autre pot à centrifuger
- 8.- Centrifuger à 1500 tours pendant 10 Minutes
- 9.- Eliminer la trypsine - **reprendre** les culots cellulaires **par pipettage** doux et répété, et transférer dans le tube conique gradué
- 10.- Centrifuger à 1000 tours **pendant** 10 minutes  
Mesurer le **volume** du culot.

D) DISTRIBUTION

- 1.- Reprendre le culot cellulaire dans le milieu de Hanks additionné de 10 % de serum de veau, à raison de 50 ml de milieu par ml de culot
  - 2.- Répartir 4 x 50 ml par flacon (plasma) de 1 litre
  - 3.- Incuber à 37°C sur Roller.
-



2) Vaccinatim :

**En dehors des mesures hygiéniques**, la seule méthode de **prévention** de la variole est la vaccination.

Une bonne connaissance des souches est indispensable pour la **préparation des vaccins**. On a souvent tendance à considérer le virus de la variole de poule, **comme** le virus type de la variole aviaire, ce qui ne doit pas faire oublier l'existence de souches adaptées à d'autres **espèces**, tel que le virus pigeon, virus du dindon... **En** effet, une modification de la **virulence**, voire du pouvoir infectant **après** passage sur **espèce hétérologue**, **complique** l'identité de la souche étudiée.

2.1.- Types de vaccins :

Les vaccins sont **préparés** à partir de souches de virus atténués par passage sur oeuf SPF ou **fibroblastes** de poulets.

D'après l'origine du virus on distingue deux sortes de vaccins.

- vaccin **homologue** (virus poule) plus actif pour la poule
- vaccin **hétérologue** (virus pigeon) engendre une **immunité** contre le virus variole **poule**, sans **provoquer** de troubles, mais l'**immunité** est de **moins** longue durée.

2.2.- Quand faut-il vacciner

- poulets de chair : le 1er jour
- pondeuses : dans les conditions normales à l'âge de 3 mis.

2.3.- Méthode de vaccination :

- méthode folliculaire
- méthode Wing Web

.../...

#### 2.4.- Choix d'une méthode

\* Lors d'une épidémie (en vaccination d'urgence, la méthode folliculaire est conseillée).

- . Isoler les suspects, et vacciner les oiseaux sains
- . les oiseaux infectés (**l'incubation** de la **maladie** peut durer 3 semaines) peu ou pas de réaction après la vaccination.

Dans une telle **situation**, la vaccination d'urgence arrête l'évolution de la maladie.

\* En milieu infecté ou des réapparitions saisonnières

de la maladie sont à craindre

- . La **méthode** de **Wing Web** donne de bons **résultats**, si elle est **employée** avant l'aponte.

#### 3)- Contrôle de la réaction

La réaction vaccinale est essentiellement locale, et a peu **d'influence** sur l'état **général** des oiseaux.

La **méthode** folliculaire **entraîne** une réaction **inflammatoire**, surtout au niveau des follicules. Une **croûte** et des foyers de nécrose peuvent apparaître sur les follicules, les lésions **guérissent spontanément**.

Les méthodes Wing Web provoquent la formation d'une ou deux petites nodosités d'une taille variant d'un grain de riz à celle d'un petit pois, qui apparaît entre 6 à 8 jours après la vaccination.

\* L'absence de réaction peut-être due :

- à une immunisation antérieure
- à une application incorrecte de la vaccination
- à un vaccin mal conservé.

.../...

En cas d'absence de réaction sur un grand nombre d'oiseaux, revacciner une dizaine par la méthode folliculaire.

- Des poussins ayant des anticorps maternels peuvent réagir très faiblement, tout en répondant bien à la vaccination.

4) Durée de l'immunité

L'immunité se développe en une quinzaine de jours. Chez les poulets de chair vaccinés à 1 jour par la méthode Wing Web, l'immunité acquise couvre la période d'engraissement.

Chez les pondeuses et reproducteurs : la vaccination à 3 mis par la méthode folliculaire protège durant toute la période de ponte.

5) Règles à respecter :

- Sont vaccinés seulement les oiseaux en bonne santé.
- Si les poulets sont vaccinés contre la maladie de Newcastle, attendre au moins 15 jours avant de les vacciner contre la variole.
- Les poules que l'on garde pour une deuxième période de ponte seront revaccinés pendant la période de mue.

1

CONTROLE DE QUALITE  
TITRAGE ET CALCUL DU TITRE

---

I N T R O D U C T I O N

Le virus de la maladie de Newcastle put être titré en estimant :

1) Soit l'infectivité d'un échantillon de virus

Par détermination de la DIE 50  
(méthode de SPEARMAN-KARBER)

2) Soit en estimant le titre hémagglutinant

1. TITRAGE PROPUREMENT DIT

1/ Matériel :

- Milieu de Hanks + Antibiotiques
- Soluté physiologique + Antibiotiques.

2/ Titration :

- Mirage des oeufs embryonnés de 10 j
- Désinfection
- Préparation du diluant dans tube à hémolyse
- Resuspension du vaccin
- Préparation de la série de dilution de 10 en 10
- Percer les oeufs
- Inoculation des oeufs.

.../...

- Obturation des oeufs
- Incubation des oeufs
- Mirage des oeufs.

II. CALCUL DU TITRE (du point final)

\*\*\*\*\*

En appliquant la formule de SPEARMAN-KARBER

$$t = x + \frac{1}{2} d - \frac{d \sum r}{n}$$

t = point final

x = valeur logarithmique de la dernière ligne du titrage

d = écart logarithmique entre deux dilutions  $10^1$  d = 1

$\sum r$  = somme de tous les oeufs qui n'ont pas été infectés

n = nombre d'oeufs inoculés.



TESTS FAITS POUR LE CONTROLE MICROBIOLOGIQUE  
DES ELEVAGES SPF AU NATIONAL VETERINARY  
INSTITUTE ( N.V.I. )

	I N F E C T I O N	A N T I G E N E	T Y P E D E T E S T S
1	Adenovirose (EDS 76 )	V 127	I H A Inhibition de l'hémagglutination T 1
2	Encéphalomyélite	Van Roeckel	Sensibilité de l'embryon ou P.M.G.
3	Réovirose (arthrite virale)	Souche produisant réact. spécifique S 1133	Précipitation en milieu gelose PMG
4	Variole Aviaire		C l i n i q u e
5	Haemophilus G		C l i n i q u e
* 6	Bronchite infectieuse	M a s s	Seroneutralisation SN
* 7	Gumboro(Bursite Infect.)	Souche produisant Réact. spécifique 52/70	P M G
8	Laryngo trachéite Infect.		Clinique (trachée hémorragique)
9	Influenza		Isolement sur oeuf
10	Leucoses	Groupe A,B,C,D,E	COFAL (culture sur fibroblastes Rpiquage - Rech. Ag.
11	Mareck	Souche JM 19	P M G
12	Mycoplasmosse G	Souche 56	Seroagglutination sur lame SAL
13	Mycoplasmosse S	Souche produisant réact. spécifique	S A L
14	Newcastle	Souche H B1 ou LASOTA	1. H A
15	Influenza	Virus grippal aviaire type A	P M G
16	Salmonella pullorum		- Coproculture - Agglutination sur lame.

PRINCIPE DE LYOPHILISATION DES VACCINS  
NEWCASTLE ET VARIOLE

---

1. DEFINITION

La lyophilisation est un procédé de conservation par dessiccation sous vide à basse température.

Le but de la lyophilisation est d'enlever l'humidité contenue dans les produits, dans des conditions parfaites de stérilité, sans altérer leur qualité, leur intégrité physique et chimique.

Les produits lyophilisés, n'ayant un principe perdu que leur eau de constitution, peuvent être reconstitués par simple réhydratation.

II. PRINCIPE

La dessiccation effectuée à basse température à partir d'échantillons congelés, est obtenue en sublimant la glace sous pression réduite.

La sublimation est le passage de l'état solide (glace) à l'état gazeux sans passer par l'état liquide (eau).

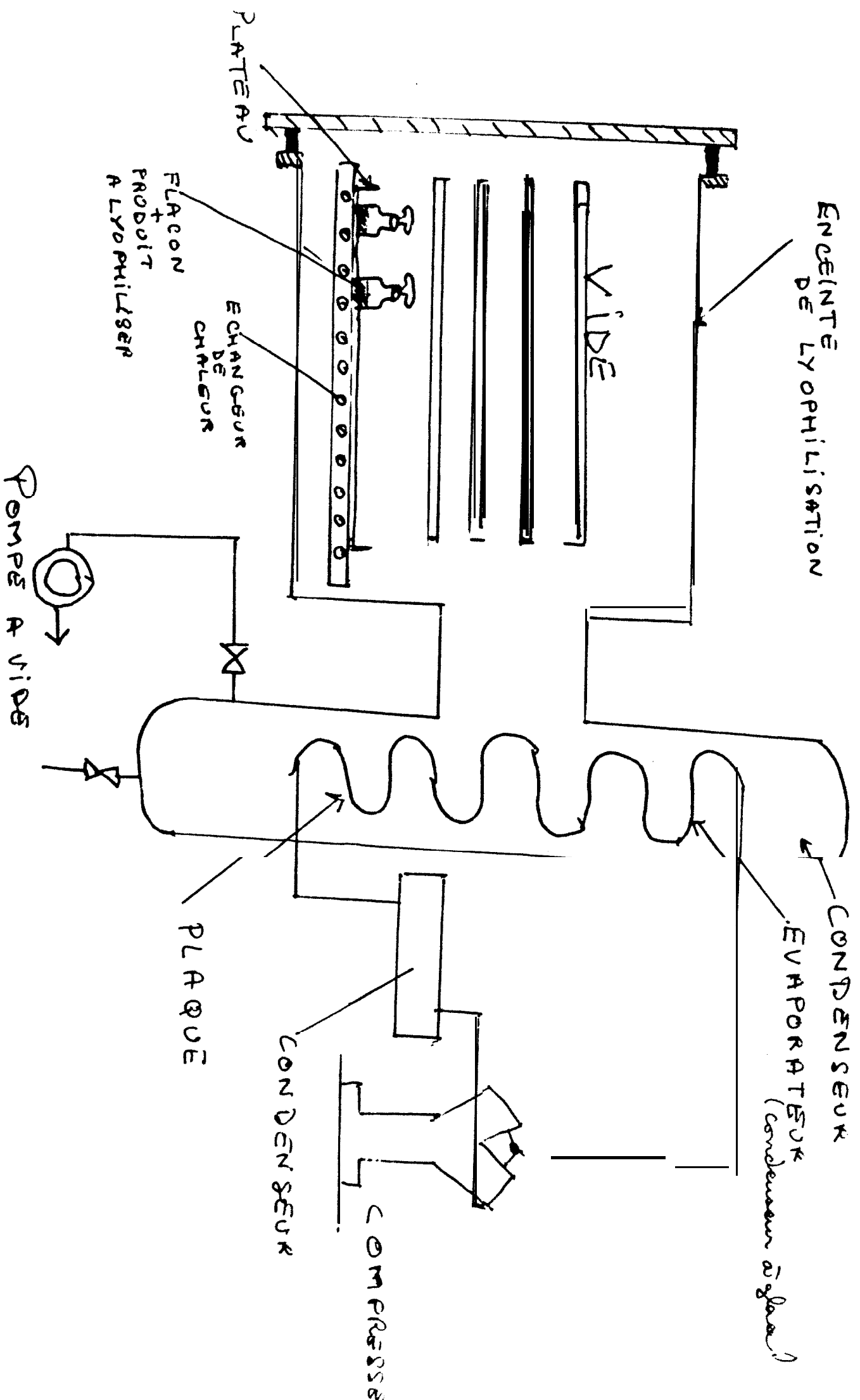
Dans une opération de lyophilisation, le produit est dans un premier temps congelé. L'eau qu'il contient devient glace, puis cette glace est sublimée, lorsque l'enceinte où il se trouve est mise sous vide.

Cette opération est un phénomène de fusion et d'ébullition simultanée, elle nécessite un apport simultané de chaleur. Une surface très froide à l'entrée de la panpe à vide, permet de piéger la vapeur d'eau.

III. INTERET

1/ Les produits sont conservés sans altération de leurs qualités pendant un temps supérieur à celui que permettent les autres procédés.

SCHEMA DU PRINCIPES D'UN LYOPHILISATEUR EN CHAMBRE



ENCLINTE LYOPHILISATION

VIDE

FLAÇON PRODUIT A LYOPHILISER

ECHANGEUR DE CHALEUR

POMPE A VIDE

CONDENSEUR

EVAPORATEUR (condenseur à glace)

PLAQUE

CONDENSEUR

COMPRESSEUR

2/ Leur poids est réduit à 1% du poids de départ.

3/ Leur transport et stockage à basse température est facilitée.

#### Iv. APPAREILLAGE

Les techniques et les appareils utilisés sont très différents suivant qu'il s'agit d'une **lyophilisation** effectuée dans le cadre industriel ou dans celui du laboratoire (**lyophilisateur** pour flacons).

Tous les modèles utilisables **comportent obligatoirement** :

- une source de froid
- une pompe à vide.

Le lyophilisateur qu'on utilise pour lyophiliser le vaccin newcastle N.V.I. à DEBRE-ZEIT est un appareil **SOGEV-FROILABO** à pompe à palette et condenseur dans la même enceinte que les produits à lyophiliser.

Ce lyophilisateur pour flacon **comporte** les éléments suivants (voir schéma) .

1/ Une chambre de lyophilisation avec des étagères pour recevoir des flacons disposés sur des plateaux.

2/ Un "Condenseur sous vide" (piège à vapeur d'eau).

Pour dessécher l'eau avant qu'il ne pénètre dans la pompe à vide, laquelle fonctionne bien que lorsqu'elle aspire de l'air presque sec.

Dans l'appareil **SOGEV**, le condenseur est constitué de cinq (5) plaques verticales disposées **elles-mêmes** dans la chambre de lyophilisation. Les molécules d'eau viennent se fixer sur ces parois, de façon à éviter leur entraînement dans la pompe à vide.

.../...

### 3/ Une pompe à vide

La pompe à palette est d'un emploi plus général, car elle permet d'atteindre de basse pression ( $10^{-2}$  mm Hg) suffisante le plus souvent pour entraîner le départ de la vapeur d'eau et augmenter l'abaissement de la température.

La pompe à vide a deux fonctions :

- La première consiste à abaisser rapidement la pression au début de la lyophilisation, provoquer ainsi la sublimation de la glace des produits.

Les vapeurs sèches, composées d'air résiduel, qui sortent de la pompe, sont évacuées à l'extérieur.

- La deuxième est de maintenir une pression résiduelle assez basse pendant la dessiccation primaire et secondaire (voir figure).

### 4) Uncircuitfroid

Pour congeler le produit dans l'armoire d'une part et piéger la vapeur d'eau dans le condenseur sous vide d'autre part, le lyophilisateur est équipé d'une installation frigorifique.

Le froid est transmis directement au piège à vapeur d'eau par détente directe du fluide frigorifique.

Il est transmis par l'intermédiaire d'un liquide secondaire sur les plateaux pour la congélation.

### 5) Le circuit intermédiaire de glycol

Le compresseur véhicule le froid ou le chaud selon les besoins, en agissant sur du glycol. Ce liquide est dirigé sur l'échangeur froid ou sur le rechauffeur par deux vannes électromagnétiques.

Une isolation est installée sur tous les composants de ce circuit.

6/ Le circuit hydraulique :

Permet le bouchage des **flacons** sous vide à la fin du cycle de dessiccation, **grâce** à une **pompe** à min qui a pour effet de **remonter** les plateaux **produits** à l'intérieur de l'enceinte, et de **provoquer** la **pénétration** des bouchons dans leur **flacon**.

7/ Les appareils de contrôle

Notamment, le **pyrovac** pour la **mesure** du vide et l'enregistreur.

8/ Le Back d'enregistrement :

Donne la lecture **directe par voie** et enregistre les **températures** et le vide. L'enregistreur **comporte** six voies **comportant** ces **indications** suivantes : (**T°** du condenseur, du produit, du glycol, du produit des **plateaux**, pression).

IV. CONDUITE D'UNE LYOPHILISATION

Lors d'une lyophilisation, les **opérations** suivantes sont effectuées :

1/ L'addition de colloïdes protecteur

Cette **opération** a pour but de fournir une matrice solide au vaccin pendant la dessiccation, afin de **permettre** à la **vapeur** d'eau de s'échapper, et protéger le **produit**.

Deux additifs sont **couramment** utilisés :

- du lait **écrémé** en poudre stérile : 40 g/litre
- une solution **comportant** :
  - . du saccharose à une concentration finale 5 %
  - . de la lactalbumine " " 2.5 %

Ex : pour le lyophilisateur **SOGEV** : le **volume** de la suspension vaccinale nécessaire est de 3 l.

.../...

La préparation de cette suspension s'effectue comme suit :

- Liquide Amnio Allantoïdien : 800 cc
- Tampon de lyophilisation filtré sur EKS
  - . saccharose : 150g (cc finale 5 %)
  - . Lactalbumun : 75 g (" " 2.5 %)
  - . Eau distillée stérile : 2,2 l.

Le saccharose permet de régler le degré de déssiccation finale du vaccin, et empêcher qu'elle soit excessive ; sa concentration a été fixée à 5 %, car une quantité plus élevée, donne à la surface du culot de vaccin, un aspect vitreux, et empêcher la vapeur d'eau de s'échapper.

De la composition du vaccin et des additifs, dépend le point d'eutexie c'est-à-dire la température à laquelle, à la pression atmosphérique, tous les constituants liquides de la suspension vaccinale se trouvent congelés.

La plupart des lyophilisateurs pouvant précongeler le produit jusqu'à une température égale ou inférieure à  $-40^{\circ}\text{C}$ , et que le point d'eutexie de la suspension ne dépassent  $-25^{\circ}\text{C}$ , la lyophilisation peut être bien conduite.

## 2/ Répartition de la suspension vaccinale dans les flacons

Le volume du L.A.A ou suspension vaccinale avec le mélange d'additifs est répartie à raison de 2 cc dans des flacons de 20 cc (1000 doses). Dans ce type de flacon, la hauteur du liquide atteint 5 mm (ne doit pas dépasser 10 mm).

Les flacons utilisés pour la répartition sont lavés, égouttés, séchés, repartis sur plateau de lyophilisateur, enrobés de papier kaki, et finalement stérilisés au four pasteur (chaleur sèche) à la température de  $160^{\circ}\text{C}$ , pendant une heure. Pour s'assurer de l'efficacité de la stérilisation des témoins d'autoclavaye (scotch) sont collés sur le papier d'emballage.

Puis, les flacons stériles sont placés à  $+4^{\circ}\text{C}$  pendant au moins 24 heures.

La répartition se fait **aseptiquement** à partir d'un récipient en verre **stérile**, à l'aide d'une seringue étalonnée à **distribution semi-automatique**.

Au cours de la répartition, l'opérateur surveille de temps en temps le **volume** distribué (**2 ml**). Afin de déceler des bulles susceptibles de se **former**, les tuyaux de **répartir** sont en plastique translucide, **autoclavable**.

### 3/ Mise en place des bouchons de caoutchouc sur les flacons

Une fois que les flacons sont **remplis**, on place des bouchons de caoutchouc **siliconés** stériles, avec des pinces stériles, **de manière à laisser un espace permettant à la vapeur d'eau de s'échapper librement** au cours de la sublimation sous vide.

**Le silicone permet une meilleure insertion** des bouchons, ainsi une bonne conservation du vide quand les flacons **sont** bouchés.

**Les bouchons** qui sont placés doivent avoir une surface horizontale, pour **qu'à la fin de la dessiccation secondaire**, tous les flacons puissent être fermés par le dispositif **exercçant** une pression sur les plateaux.

### 4/ Chargement des flacons et précongélation du contenu avant la mise sous vide.

Après la phase de précongélation, entre **-40°C** et **-45°C**, le condenseur et la **pompe** à vide sont mis en **marche**, la **sublimation** de l'eau du produit qui est dans les flacons fait **tomber** la **température** de ces derniers entre **-35°C** et **-40°C**. Si cet abaissement est trop grand, la sublimation de la vapeur d'eau se ralentit.

Quand la plus grande partie de la vapeur d'eau est sublimée à partir de la glace, la **température commence** à s'élever, car la perte de chaleur due à la sublimation s'arrête **graduellement**, et la température du produit **augmente** progressivement la température réglée par les liquides **circulant** dans les étagères.

.../...



6/ Désorption sous vide afin d'obtenir le degré de dessiccation voulu :  
dessiccation **secondaire**.

- Entre la dessiccation primaire et la dessiccation **secondaire**, il convient de prévoir une phase transitoire durant laquelle le vaccin est conservé à 0°C pendant plus de deux heures.

- Une dessiccation secondaire prolongée à la température ambiante, est nécessaire pour avoir une humidité résiduelle ne dépassent pas 1,5 %.

7/ Bouchage des flacons sous vide par pression hydraulique.

8/ Contrôle du vide dans les flacons (avec Vacum Tester)

9/ Capsulation (fixation des bouchons avec une capsule métallique.

10/ Prise d'échantillon pour titrage et stérilité

11/ stockage du vaccin à -20°C

LYOPHILISATEUR SOGEV - FROILABO

- Température du piège est -60 à 70°C
- Le vide obtenu est de 2 à 3. 10<sup>-2</sup> mm Hg
- Dessiccation primaire dure environ 15 H  
et se termine entre -25 , -35°C
- Dessiccation secondaire dure 18 à 20 h
- Humidité résiduelle de 1 à 1,5 % (KARL FISHER)

