

V. de la peste eq

Z/Voco 1245

1245

RAPPORT DE CONSULTATION FAO

PREVENTION DE LA PESTE

EQUINE EN ALGERIE

4 juin - 5 juillet 1990

Par

J. SARR

TCP/ALG/0051 (T)

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
I. <u>INTRODUCTION</u>	1
II. <u>PERSONNES RENCONTREES</u>	3
III. <u>SITU'ATION GENERALE DES LABORATOIRES D'ACCUEIL</u>	4
A. Laboratoire de Microbiologie vétérinaire (Institut Pasteur) d'Alger.	4
1. Personnel de production	4
2. Equipements	4
a) Gros matériel existant	4
b) Petit matériel existant	5
c) Matériel de lyophilisation	5
3. Maintenance des équipements	5
4. Financement	5
5. Problèmes liés au fonctionnement	5
B. Laboratoire vétérinaire régional de Tlemsen	5
1. Personnel de diagnostic et de séro-surveillance . ,	5
2. Equipements	5
a) Gros matériel existant	7
b) Petit matériel	7
c) Locaux	7
d) Elevage de souris	7
3. Maintenance	7
4. Financement	8
5. Problèmes liés au fonctionnement	8

	<u>Pages</u>
IV. <u>VACCIWS CONTRE LA PESTE EQUINE</u>	9
A. Origine des souches vaccinales*	9
B. Production du lot de semence sérotype 9 (S₂)	9
1. Les cellules	9
2. Milieu de croissance des cellules	9
3. La souche virale T ₉ (S ₂)	9
4. Lot de semence T ₉ (S ₂)	10
a) Tests avant lyophilisation	10
b) Contrôle après lyophilisation	12
C. Production du lot de semence, sérotype 4 (VRY)	14
1. Les cellules	14
2. Milieu de croissance	14
3. La souche virale T ₄ (VRY)	14
4. Lot de semence VRY	14
a) Tests avant lyophilisation	15
b) Contrôle de qualité après lyophilisation	16
D. Tests d'innocuité et d'efficacité	18
E. Stocks d'urgence (vaccins)	19
V. <u>DIAGNOSTIC ET SERO-SURVEILLANCE DE LA PESTE EQUINE</u> . . .	20
A. Localisation*	20
B. Plan de travail	20
1. Isolement de virus sur souris	20
2. Isolement de virus sur cultures cellulaires	20
3. Séro-surveillance	20

	<u>Pages</u>
4. Identification des souches virales isolées	21
5. Synthèse des résultats	21
VI. <u>CONCLUSION GENERALE</u>	22
VII. <u>RECOMMANDATIONS</u>	24
A. Secteur production vaccins	24
B. Laboratoire de diagnostic de Tlemsen	24

ANNEXE 1

- Matériel complémentaire. Institut Pasteur (à acquérir)

ANNEXE 2

- Laboratoire de Tlemsen
 - matériel indispensable pour le diagnostic

 - 1. Gros équipement

 - 2., Petit matériel

 - 3. Petits animaux de laboratoire

 - 4. Produits chimiques et milieux de cultures

ANNEXE 3

- Milieu HBSSS

- Conditions de lyophilisation.

I. INTRODUCTION

La peste équine est une maladie virale des équidés, caractérisée par des symptômes hémorragiques, pulmonaires et cardiaques.

Le virus responsable est transmise par des arthropodes hématophages du genre **Culicoïdes**. Les climats chauds et humides favorables à la multiplication des insectes vecteurs contribuent considérablement au maintien et à la très rapide et large diffusion du virus chez les équidés vivant dans une région.

Il existe 8 sérotypes du virus peste équine dont 7 semblent uniquement localisés dans la zone intertropicale sud.

Le sérotype le plus fréquemment rencontré dans la zone intertropicale nord est le type 9.

Il a été retrouvé dans le sud Algérien en 1965.

Mais en 1987, le sérotype 4 est apparue en Espagne où il a été introduit par des zébres importés d'Afrique Australe.

En octobre 1989, ce même sérotype est signalé au Maroc. Tout le Maghreb se trouve donc aujourd'hui menacé par ce sérotype jusque-là inconnu dans la région.

La peste équine à sérotype 9 et/ou 4 peut être combattue par des mesures de police sanitaire mais surtout par la vaccination avec les sérotypes correspondants.

C'est dans ce cadre que la FAO, à la demande du Gouvernement Algérien, a mis en place un projet d'assistance TCP/ALG/0051 (T) pour la prévention de la peste équine en Algérie.

.../...

Cette mission, qui s'est déroulée du 4 juin au 5 juillet, visait les objectifs suivants :

- démarrage d'un programme de production de vaccins type 9 et type 4, y compris le contrôle de qualité,
- la formation du personnel du laboratoire chargé de cette production,
- faire des recommandations pour l'amélioration de cette production.

L'ensemble de ces points fait l'objet de ce rapport.

II. PERSONNES RENCONTREES

- Dr Benaïssa Rachid** : Directeur Général services vétérinaires (Algérie)
- Pr Abadi Mohamed** : Directeur Général Institut Pasteur Alger
- Dr Benguedda Ahmed** : Directeur Production Institut Pasteur Alger
- Dr Brahimi Mahfoud** : Responsable Laboratoire Rage Institut Pasteur Alger
- Dr Chérif Aoumeur** : Directeur Laboratoire Central Vétérinaire Alger
- Dr Hamza Chérif Reda** : Directeur Laboratoire régional vétérinaire Tlemcen
- Dr Benelmouffok Ahmed** : Chef du Laboratoire de microbiologie vétérinaire, Institut Pasteur Alger
- Dr Boudlimi Benabdallah** : INSA (Tlemcen)
- Dr Abda Ali** : Directeur INSA
- Dr Taibi Fadela** : Service Virologie Laboratoire central vétérinaire Alger
- Dr Achour Hamid** : Directeur Laboratoire régional de Draa-Ben Khedar.

Ce travail a été réalisé avec :

- Dr Taril Hamid** : Institut Pasteur (vaccins peste équine)
- Dr Nadjib Chalabi** : INSA (diagnostic) Tlemcen)

REMERCIEMENTS

Tous mes remerciements à toutes ces personnes ainsi qu'à leurs collaborateurs pour leur accueil et leur appui sans lesquels ce travail n'eut été possible.

III. SITUATION GENERALE DES LABORATOIRES D'ACCUEIL

Deux laboratoires ont été choisis pour travailler sur la peste équine :

- Laboratoire de microbiologie vétérinaire qui relève de l'Institut Pasteur d'Alger pour le programme production de vaccins,
- Laboratoire vétérinaire de Tlemsen (environ 500 km d'Alger) relevant de l'institut national de la Santé animale (INSA), Direction des services vétérinaires pour le diagnostic et la séro-surveillance.

A. LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE VETERINAIRE (INSTITUT PASTEUR]

1. Personnel de production

- 1 Docteur vétérinaire
- 2 techniciens
- 1 garçon de laboratoire (laverie et stérilisation du matériel).

Ce personnel sera responsable de la production et du contrôle de qualité des vaccins peste équine, mais aussi des vaccins aviaires comme le vaccin contre la maladie de Newcastle (programme en cours d'études).

La laverie et la stérilisation sont communes avec les laboratoires de sérologie sur la brucellose et le diagnostic de la rage qui sont dans le même bâtiment.

2. Equipements

Le laboratoire est bien équipé dans l'ensemble, et les locaux sont fonctionnels.

a) Gros matériel existant

- Hotte à flux laminaire vertical 1
- Etuve à CO₂, 1
- Congélateur à -20°C 1

- Congélateur à -70°C	1 (en panne)
- Autoclave (grande capacité)	1
- Couveuses	3
- Etuve bactériologique	1
- Matériel filtration milieux cultures cellulaires	4 (capacités 2 litres chacun)
- Réfrigérateur	1
- Chambre froide (3 m ³)	1
- Appareil à eau distillée 4 l/heure	1
- Centrifugeuse Bekman (20 000 trs/mm)	1
- Centrifugeuse de pailasse	1
- Microscope ordinaire	1
- Microscope à fluorescence	1
- Microscope inversé	1
- Bain-marie (27 - 1 00°C)	1
- Balance de précision	2

b) Petit matériel existant

- pH-mètre	1
- Micro-pipette (50 - 200 µl)	1
- Verrerie (éprouvettes, flacons, pipettes))	Quantités insuffisantes
- Matériel usage unique (boîtes/cultures cellulaires, microplaques, pointes pour micro-pipettes, etc...)	

c) Matériel de lyophilisation

Les capacités de lyophilisation du service central sont insuffisantes pour les besoins des secteurs de la production.

3. Maintenance des équipements

L'Institut Pasteur s'est doté d'une solide équipe de maintenance et répond ainsi à l'essentiel des demandes des laboratoires.

4. Financement

Il existe un service d'approvisionnement central pour tout l'Institut Pasteur disposant d'un budget propre.

Ce service possède une grande expérience dans les commandes de matériel de laboratoire et fonctionne bien.

5. Problèmes liés au fonctionnement

- Ruptures périodiques pour l'approvisionnement en petit matériel, en particulier pour le matériel importé (disponibilité des devises)
- Insuffisance des capacités de lyophilisation.

B. Laboratoire vétérinaire régional de Tlemsen

1. Personnel de diagnostic et de séro-surveillance

- 1 Docteur vétérinaire
- 1 technicienne supérieure
- 1 garçon de laboratoire (verrerie et stérilisation)

Ce personnel est chargé de la mise en place du laboratoire de diagnostic et de séro-surveillance de la peste équine, mais aussi de certaines autres maladies d'origine virale comme l'IBR, la Blue Tongue, la maladie de Newcastle, etc...

2. Equipements

Contrairement au Laboratoire de production de vaccins, le laboratoire Tlemsen connaît beaucoup de problèmes pour son démarrage pour le diagnostic et la séro-surveillance de la peste équine.

.../...

a) Gros matériel existant

- Autoclave	1	} Matériel partagé avec le laboratoire de bactériologie
- Four Pasteur	1	
- Appareil à eau distillée (vétuste) 2 l/heure .	1	
- Etuve	1	
- Microscope inversé	1	
- Réfrigérateur	1	
- Balance	1	

b) Petit matériel

- Verrerie (existe en quantité suffisante)
- Matériel usage unique (inexistant).

c) Locaux

Constitué de deux salies ayant chacune une paillasse, le Laboratoire n'est pas fonctionnel.

Cependant, une permutation avec la bactériologie devrait permettre de résoudre ce problème.

d) Elevage souris

Inexistant.

3. Maintenance des équipements

Il n'existe pas de service de maintenance au laboratoire de Tlemsen.

.../...

4. Financement

Aucune trésorerie n'est disponible au Laboratoire.

Toutes les opérations ayant une incidence financière relève de la direction générale de l'INSA (Institut national de la santé animale) à Alger.

Cette situation crée de nombreux blocages dans le fonctionnement de ce laboratoire.

5. Problèmes liés au fonctionnement

Ce laboratoire n'est pas opérationnel dans son état actuel.

• Voir en annexe liste équipement complémentaire indispensable.

IV. VACCINS CONTRE LA PESTE EQUINE

A. Origine des souches vaccinales

Les deux souches vaccinales sérotype 9 (S₂) et sérotype 4 (VRY) utilisées, proviennent de la banque du Laboratoire de référence FAO pour l'Afrique : au Laboratoire national d'Elevage et de Recherches vétérinaires, BP 2057 - Dakar-Hann au Sénégal.

Elles sont parfaitement adaptées à la lignée de cellules Véro en vue de la production de vaccins contre la peste équine.

B. Production du lot de semence sérotype 9 (S₂)

1. Les cellules

Des cellules de lignée Véro, fournies par l'Institut Pasteur d'Alger ont été utilisées.

2. Milieu de croissance des cellules

- DMEM (Minimum Essential Medium) contenant 10 % de sérum foetal de veau pour la croissance des cellules

3. La souche virale T₉ (S₂)

La CT₁₀₀ de la souche virale est déterminée par titrage en cinétique.

Il s'agit de la dilution limite donnant un effet cytopathogène (destruction totale) 100 p. 100 en 6 jours de culture d'une suspension cellulaire contenant 100.000 cellules/ml.

Souche lyophilisée reconstituée avec 1 ml de DMEM :

$$CT_{100} = 10^{-4}$$

4. Lot de semence T₉ (S,)

Le virus est utilisé à la dilution d'une CT₁₀₀ pour l'infection de boîtes de culture dont le tapis cellulaire est confluent.

Les boîtes sont incubées à l'étuve à 37°C et observées chaque jour pour l'effet cytopathogène.

Lorsque celui-ci arrive à 80 p.100, les boites sont placées à +4°C.

Le contenu de chaque boîte est contrôlé pour sa stérilité bactériologique, mycoplasémique et fongique.

Ensuite, le contenu de toutes les boîtes dont la stérilité est certaine, est rassemblé dans un flacon et mélangé à raison de :

- 1 partie de suspension virale,
- 3 parties de support de lyophilisation (HBSSS)
(composition en annexe).

a) Tests avant lyophilisation

-> Contrôle de stérilité

Temps d'incubation :
72 h à 37°C

- 3 bouillons nutritifs
- 3 bouillons Thioglycolate
- 3 géloses sabouraud

Incubation 0,5 ml/tube	Bouillon nutritif	Bouillon Thioglycolate	Gélose Sabouraud
1			-
2			-
3			-

Résultats : satisfaisant.

.../...

-> Teneur en virus

Titrage en microplaque

- 5 cupules par dilution de 10^{-1} à 10^{-7}
- 100 μ l de virus
- + 100 μ l d'une suspension de 100 000 cellules/ml contenant 10 % sérum foetal de veau en DMEM
- Incubation à 37°C en étuve à 5 % de CO₂, pendant 6 jour-s.

Résultat

	A	Détruit (D)	Non détruit (N)	Cumulés (D)	Cumulés (N)	D/T	% D/T
10^{-1}	5	5	0	25	0	25/25	100
10^{-2}	5	5	0	20	0	20/20	100
10^{-3}	5	5	0	15	0	15/15	100
10^{-4}	5	5	0	10	0	10/10	100
10^{-5}	5	3	2	5	2	5/7	71
10^{-6}	5	2	3	2	5	2/5	40
10^{-7}	5	0	5	0	10	0/10	

A = nombre de cupules

D = cupule avec lésion cytopathique

N = cupule sans lésion

T = total cumulé (D + N)

Méthode de Reed et Muench

$$\text{Ecart} = \frac{\text{Supérieur à 50 \%} - 50 \%}{\text{Supérieur à 50 \%} - \text{inférieur à 50 \%}} =$$

$$E = \frac{71 - 50}{71 - 40} = \frac{21}{31} \approx 0,7$$

$$CT_{50} = 10^{-5,7} / 100 \mu\text{l}$$

$$\text{Titre} = 10^{-5,7} CT_{50} / 100 \mu\text{l}$$

Avant lyophilisation : $T = 10^{6,7} CT_{50} / \text{ml}$

b) Contrôle après lyophilisation

Trois flacons sont reconstitués avec 1 ml de DMEM chacun.

Le contenu des flacons est ensuite mélangé.

-> Test de stérilité

- 3 bouillons nutritifs
- 3 bouillons thioglycolate
- 3 géloses sabouraud

Incubation à 37°C, 72 heures.

Incubation 0,5 ml/tube	Bouillon nutritif	Bouillon Thioglycolate	Bouillon Sabouraud
1			-
2			-
3			-
DMEM			-
1			-
2			-

Résultat : satisfaisant

→ Teneur en virus

Titration en microplaque dans les mêmes conditions qu'avant la lyophilisation.

Résultat lot de semence T₉ (S₂) après lyophilisation

	A	D	N	Cumulés (D)	Cumulés (N)	D/T	% D/T
10 ⁻¹	5	5	0	23	0	23/23	100
10 ⁻²	5	5	0	18	0	18/18	100
10 ⁻³	5	5	0	13	0	13/13	100
10 ⁻⁴	5	5	0	8	0	8/8	100
10 ⁻⁵	5	2	3	3	3	3/6	50
10 ⁻⁶	5	1	4	1	7	1/8	12
10 ⁻⁷	5	0	5	0	12	0/12	

$$E = \frac{100 - 50}{100 - 12} = 0,6$$

$$CT_{50} = 10^{-4,6}$$

$$T = 10^{4,6} CT_{,,} / 100 \mu l$$

$$T = 10^{5,6} CT_{50} / ml$$

$$CT_{100} = 10^{-4}$$

La baisse de titre pendant la lyophilisation est équivalente à $1,1 \log_{10}$.

Conclusion

Lot de semence $T_9 (S_2)$: satisfaisant

Résumé

Lot de semence T_9 ou (S_2)

Stérilité bactériologique : bonne

$$CT_{,,} = 10^{-4}$$

$$\text{Titre} = 10^{5,6} CT_{,,} / ml$$

Taille = 460 flacons de 1 ml

.../...

C. Production du lot de semence, sérotype 4 (VRY)

1. Les cellules

- Lignée Véro.

2. Milieu de croissance

DMEM + 10 p. 100 de sérum foetal de veau.

3. La souche virale T₄ (VRY)

La CT₁₀₀ est également déterminée par titrage en cinétique sur cellules de lignée Véro.

Suspension cellulaire : 100.000 cellules/ml.

Souche virale lyophilisée reconstituée avec 1 ml de DMEM

$$CT_{100} = 10^{-4}$$

4. Lot de semence (VRY)

Une CT₁₀₀ de virus/ml est utilisée pour l'infection de boîtes de culture de cellules Véro dont le tapis est confluent.

Les boîtes sont incubées à 37°C.

Lorsque l'effet cytopathogène atteint 80 p. 100, les boîtes sont placées à + 4°C.

Après 24 heures, le pH qui est généralement acide est réajusté (pH entre 7 et 8) avec une solution de bicarbonate de sodium à 5. p.100.

Puis chaque boîte est testée pour sa stérilité bactériologique, mycoplasmique et fongique.

.../...

Comme précédemment, le contenu des boîtes dont la stérilité est certaine, est rassemblé dans un flacon et mélangé un support de lyophilisation à raison de :

- 1 partie suspension virale
- 3 parties support HBSS.

a) Tests avant lyophilisation

→ Contrôle de stérilité

- 3 bouillons nutritifs
- 3 bouillons thioglycolate
- 3 géloses sabouraud

Temps d'incubation 72 h à 37°C.

Inoculum 0,5 ml/tube	Bouillon nutritif	Bouillon thioglycolate	Gélose sabouraud
1			
2			
3			

Résultat : satisfaisant

.../...

→ Teneur en virus

Titration en microplaque comme pour le sérotype 9.

	A	Détruit (D)	Non détruit (N)	Cumulés (D)	Cumulés (N)	D/T	% D/T
10^{-1}	5	5	0	24	0	24/24	100
10^{-2}	5	5	0	19	0	19/19	100
10^{-3}	5	5	0	14	0	14/14	100
10^{-4}	5	5	0	9	0	9/9	100
10^{-5}	5	2	3	4	3	4/7	57
10^{-6}	5	2	3	2	6	2/8	25
10^{-7}	5	0	5	0	11	0/11	0

$$E = \frac{57 - 56}{57 - 25} = 0,2$$

$$CT_{50} = 10^{-5,2} / 100 \mu l$$

$$\text{Titre} = 10^{5,2} CT_{50} / 100 \mu l$$

Avant lyophilisation $T = 10^{6,2} CT_{50} / ml$
--

b) Contrôle de qualité après lyophilisation

Trois flacons sont pris au hasard, reconstitués- chacun avec 1 ml de DMEM puis mélangés.

.../...

→ Test de stérilité

- 3 bouillons nutritifs
- 3 bouillons thioglycolate
- 3 géloses sabouraud

Incubation à 37°C, 72 heures.

Inoculum 0,5 ml/tube	Bouillon nutritif	Bouillon thioglycolate	Gélose sabouraud
1		-	-
2			-
3			-
DMEM 1 (milieu de recons- titution) 2	- -	- -	

Résultats : Satisfaisant

→ Teneur en virus

Titrage en microplaque comme précédemment.

Résultats lot de semence T₄ (VRY) après lyophilisation

	A	Détruit (D)	Non détruit (N)	Cumulés (D)	Cumulés (N)	D/T	% D/T
10 ⁻¹	5	5	0	22	0	22/22	100
10 ⁻²	5	5	0	17	0	17/17	100
10 ⁻³	5	5	0	12	0	12/12	100
10 ⁻⁴	5	5	0	7	0	7/7	100
10 ⁻⁵	5	1	4	2	4	2/6	33
10 ⁻⁶	5	1	4	1	8	1/9	11
10 ⁻⁷	5	0	5	0	13	0/13	0

.../...

$$E = \frac{100 - 50 \cdot 5}{100 - 33} - \frac{0}{67} \approx 0,7$$

$$CT_{50} = 10^{-4,7} / 100 \mu l = 10^{-5,7} / ml$$

$$\text{Titre} = 10^{5,7} CT_{50} / ml$$

$$CT_{100} = 10^{-4}$$

Perte pendant la lyophilisation $0,5 \log_{10}$.

Résumé

Lot de semence T_4 au VRV

Stérilité : bonne

CT : 10^{-4}

Titre : $10^{5,7} CT_{50} / ml$

Taille du lot : 480 flacons

D. Tests d'innocuité et d'efficacité

Pour des raisons de sécurité, les tests d'innocuité et d'efficacité n'ont pu être réalisés parce que le pays est encore considéré comme zone indemne,

L'absence de locaux spécialement aménagés pour l'inoculation et l'épreuve, interdit la conduite de ces tests.

Néanmoins, l'aspect théorique des tests a été largement discuté avec les responsables du secteur production.

.../...

E. Stocks d'urgence (vaccins)

Deux lots de stocks d'urgence de vaccins :

- sérotype 9 (S₂)
- sérotype 4 (VRY)

ont été réalisés à partir des banques.

Les tests de stérilité sont satisfaisants ainsi que les titres avant lyophilisation.

Ils sont stockés à +4°C ; en attendant d'être lyophilisés.

Tous les contrôles seront refaits après la lyophilisation comme précédemment.

Lot 1/90 sérotype 9	2 000	flacons d'une dose
Lot 1/90 sérotype 4	2 000	flacons d'une dose.

.../...

V. DIAGNOSTIC ET SERO-SURVEILLANCE DE LA PESTE EQUINE

A. Localisation

Laboratoire vétérinaire régional de Tlemsen

Le volet diagnostic et séro-surveillance n'a pu être réalisé pendant le séjour.

Néanmoins, une visite du laboratoire d'accueil a été faite.

L'unité de virologie qui sera responsable du diagnostic est en cours d'installation et n'a pas encore l'équipement indispensable pour la réalisation de ce travail.

Une liste de matériel indispensable est jointe en annexe.

B. Plan de travail

Durée : 2 - 3 semaines environ

1. Isolement de virus sur souris

- . prélèvements : conditionnement, transport
- . inoculation souriceau
- . récolte cerveaux souriceaux.

2. Isolement de virus sur cultures de cellules

- . préparation des prélèvements
- . passage sur cellules de lignée Véro (adaptation)

3. Séro-surveillance

- . épreuve fixation complément en micro-méthode
- . fabrication d'antigène en vue du diagnostic

- . titrage d'antigène
- . analyse sérums de chevaux
 - en fixation complément
 - > en séroneutralisation.

4. identification de souches virales isolées

- . Séroneutralisation croisée sur souris
- . Séroneutralisation cinétique sur cellules de lignée Véro.

5. Synthèse des résultats

N.B : Pour des raisons de sécurité (pays encore indemne), seules des souches vaccinales seront utilisées.

Elles seront fournies par le Laboratoire de Microbiologie Vétérinaire de l'Institut Pasteur d'Alger (secteur production].

VI. CONCLUSION GENERALE

Au cours de cette mission, l'objectif essentiel a été atteint :

Démarrage d'un programme de production de vaccins contre la peste équine.

Les lots de semence des sérotypes qui menacent la région ont été produits dans les conditions locales.

Les tests de contrôle montrent également que les lots sont conformes aux normes internationales quant à leur teneur en virus et à leur stérilité bactériologique, mycoplasmique et fongique.

Les contrôles d'innocuité et d'efficacité n'ont pu être réalisés comme signalés plus haut uniquement pour des raisons de sécurité ; la zone étant encore considérée comme indemne.

Deux lots de vaccins représentant les stocks de sécurité ont également été produits.

Les insuffisances en matière de lyophilisation ont fait qu'ils n'ont pu être lyophilisés dans les délais. Ils le seront dès que possible.

Ces stocks d'urgence permettront aux services vétérinaires d'intervenir très rapidement en cas de foyers et permettront aussi au secteur production de disposer suffisamment de temps pour préparer d'autres lots.

Pour ce qui est de la formation des agents de laboratoire, l'équipe a travaillé pendant toute la période de la mission à plein temps dans toutes les étapes de la production et du contrôle de qualité des différents lots.

Aussi, le responsable a déjà effectué un mois de stage au laboratoire de référence FAO pour la peste équine.

A notre avis, la production de vaccins contre la peste équine ne devrait plus poser de problèmes au Laboratoire de Microbiologie vétérinaire de l'Institut Pasteur d'Alger pour les raisons suivantes :

.../...

- le personnel est bien formé,
- l'équipement et le matériel existent du moins pour l'essentiel,
- les locaux sont fonctionnels même si quelques réaménagements (isolation) sont encore nécessaires.

Pour le volet diagnostic, les problèmes restent malheureusement entiers.

En cas de foyer, le Laboratoire de Tlemsen ne pourrait pas effectuer le diagnostic dans les conditions actuelles pour les raisons signalées plus haut.

Cependant, des alternatives existent et ont été discutées avec le Directeur Général des services vétérinaires.

VII . RECOMMANDATIONS

A. Secteur production de vaccins

- **Acquisition d'équipements complémentaires (lyophilisateur et accessoires).**
- **Regrouper pour des raisons d'efficacité et d'économie l'ensemble des projets de production de vaccins vétérinaires (peste équine, clavelée, vaccins aviaires) au Laboratoire de Microbiologie vétérinaire et les séparer du diagnostic de la rage.**
- **Réorganisation de la laverie et stérilisation pour mieux répondre aux besoins d'un laboratoire de virologie.**
- **Aménagement de locaux permettant la conduite des tests d'innocuité et d'efficacité des vaccins.**
- **Fourniture par le service d'approvisionnement central de petit matériel (boîtes cultures cellulaires, pipettes multicanaux, pointes pour micro-pipette, microplaques et verrerie diverse.. .) .**

B. Laboratoire de diagnostic (Tlemsen)

- **Equiper très rapidement ce Laboratoire,**
- **le doter d'un élevage souris.**
- **Aquisition de moyens financiers rapidement mobilisables (caisse d'avance) pour les urgences.**
- **Organiser une consultation "spécial diagnostic" pour une durée de 2 à 3 semaines à Tlemsen ou dans un autre laboratoire vétérinaire mieux équipé.**
Des agents d'autres laboratoires vétérinaires régionaux devraient y participer pour leur formation.

.../...

Une extension de TCP/ALG/0051 (T) devrait permettre de résoudre ce problème.

- Création au niveau de l'INSA d'une cellule de coordination et d'information en matière de séro-surveillance pour la peste équine.

ANNEXE 1

Matériel complémentaire (Institut Pasteur (à acquérir))

Lyophilisateur (type D 01 Edwards)	1
Refroidisseur	1
Plateaux (correspondant)	8
Climatiseur 1,5 CV	2

ANNEXE 2

Laboratoire de Tlemsen

Matériel indispensable pour le diagnostic

1. Gros équipement

- Climatiseur 2 CV	1
- Etuve à CO ₂	1
- Hotte à flux laminaire vertical	1
- Centrifugeuse réfrigérée 4 - 10 000 trs/mm	1
- Bain-marie	1
- Congélateur -30°C	1
- pH mètre	1
- Appareil au eau distillée 4 l/h	1
- Matériel filtration milieux 2 x 2 litres	2

2. Petit matériel

- Boîtes de cultures cellulaires (25,75 cm ²)	200
- Agitateur de plaque	1
- Micro-pipettes multicanaux 50 - 200 µl	1
50 - 50 µl	1
- Plaques 96 pour cultures cellulaires	200
- Plaques 96 fond rond (sérologie)	200
- Pointes pour micro-pipette	10 000
- Tubes vacutainer 10 ml	1 000
- Tubes vacutainer + anti-coagulant	100
- Filtre millipore 0,22 µ (1 - 10 ml)	100
- Papier Kraft (rouleau)	1
- Coton cardé (kg)	5

... / ...

- Gaze (pièce)	1
- Ficelle (fibre végétale) (rouleau)	2
- Ether (litre)	1
- Alcool (litre)	1
- Seringues (1 ml, 5 ml, 10 ml)	100
- Cages à souris	20

3. Petits animaux laboratoire

- Elevage souris

4. Produits chimiques et milieux de culture

- Trypsine 11250	20 g
- Versène	20 g
- Sérum foetal veau	2 l
- DMEM	100 l.

ANNEXE 3

Milieu HBSSS pour 2 litres

Ca Cl ₂ · 2 H ₂ O	0,371 g
Kcl	0,8 g
K H ₂ P ₀₄	0,12 g
Mg S ₀₄ · 7 H ₂ O	0,4 g
Na ₂ H F ₀₄	0,095 g
Glucose	2 g
Na HC ₀₃	0,7 g
Rouge de phénol	0,034 g
Saccharose	200 g
Hydrolysat Lactalbumine	50 g
Nacl	16 g

filtrer après dissolution complète.

Conditions de lyophilisation

- Congélation -40°C
- Sublimation -30°C
- t° finale produit 28°C
- Chauffage cyclique 1/20^e.