

Zécco 1218

Note préliminaire sur l'emploi d'un vaccin inactivé contre la peste équine

P. BOURDIN et J. MONNIER-CAMBON

(avec la collaboration technique de A. VAUTIER
et de DIALLO MAMADOU SALIOU)

(Note présentée par M. GORET)

L'existence de la peste équine en Afrique du Nord et le récent foyer qui a atteint le Sud de l'Espagne font craindre, dans un avenir proche, l'extension de cette maladie à d'autres pays européens. Dans les pays où cette maladie sévit à l'état. enzootique, le cheptel est régulièrement vacciné à l'aide d'un vaccin vivant, mono ou polyvalent, préparé à partir de souches atténuées par passages sur cerveaux de souris, selon la technique de ALEXANDER, NEITZ et Du TOIT (1935).

En effet, dès 1963, les souches neutropes atténuées furent adaptées au passage sur lignées cellulaires (notamment sur la souche MS, de rein de singe). H. MIRCKAMSY et TASLIMI (1964) mirent au point ce vaccin, dont la préparation fut décrite en détail par OZAWA, HAZRATI et EROL (1965).

L'emploi d'un vaccin vivant dans un pays indemne de peste équine ne pouvant être envisagé, il fut décidé d'étudier le pouvoir immunigène d'un vaccin monovalent inactivé, destiné à protéger les animaux contre la souche type 9.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

a) Virus.

Le virus utilisé provient, de la souche S₂ fournie par l'Institut RAZI de Téhéran, atténué par 102 passages sur cerveaux de souris et adapté par 3 passages sur cellules MS. Il titre entre 7,1 et 7,5 DI₅₀CT par ml. Après sa récolte, il est dilué à 1/30 dans un tampon lactose-peptone-tris et réparti sous le volume de 1 ml en flacons type pénicilline de 5 ml ; ceux-ci sont lyophilisés, bouchés sous vide et conservés à — 20° C.

b) *Souche cellulaire.*

Le virus est cultivé sur cellules MS (souche cellulaire de rein de singe) entretenues selon la technique décrite par OZAWA, HAZRATI et EROL (1965).

c) *Milieu.*

Le milieu utilisé est un milieu de EARLE dérivé du milieu décrit par JOHNSON (1962) contenant 2,5 g p. 100 de glucose, 5 g p. 1.000 d'hydrolysate de lactalbumine, 0,1 g p. 1.000 d'extrait de levure et 10 p. 100 de sérum de veau. La quantité de bicarbonate de sodium a été portée à 1,5 g p. 1.000 et le milieu enrichi par les acides aminés et les vitamines suivantes :

glutamine	0,1	gramme) par litre
ac. glutamique	0,1	—	
méthionine	0,15	--	
chlorhydrate d'arginine	0,04	--	
biotine	0,001	—	
ac. folique	0,001	--	

d) *Inoculation.*

Les cellules détachées d'un flacon donneur sont mises en suspension dans le milieu à la concentration des 200.000 cellules par ml. La suspension est, répartie en boîtes de Roux a raison de 100 ml par boîte. Le virus lyophilisé est reconstitué au moment de l'emploi, puis introduit immédiatement, sous le volume de 2 ml par boîte, dans les boîtes contenant la suspension cellulaire.

e) *Récolte.*

Le tapis cellulaire est complet en 30 heures, l'effet cytopathique débute au bout de 48 heures et atteint 90 p. 100 du tapis au bout de 72 heures. A ce moment, la suspension virulente est récoltée, centrifugée à $+4^{\circ}$ C et conservée à cette même température en attendant son utilisation. Le titre du virus est régulièrement compris entre 7,1 et 7,5 $DI_{50}CT$.

f) *Inactivation du vaccin.*

Le liquide virulent est inactivé par le formol ajouté à raison de 1 p. 4.000 ; le mélange, porté à l'étuve à 37° C, est agité pendant 48 heures. Le vaccin est, ensuite refroidi à 0° C et reçoit de la Beta-propiolactone à la concentration de 0,2 p. 1.000 ; il est maintenu à la température de la glace fondante pendant 24 heures et régu-

lièrement agité, le pH étant ajusté à 7 par l'introduction d'un tampon bicarbonate. La conservation ultérieure se fait à $+4^{\circ}$ C.

g) *Préparation du vaccin.*

Le vaccin a été utilisé sous trois formes :

- vaccin inactivé pur,
- vaccin inactivé mélangé à parties égales avec du gel d'alumine à 1 p. 100 de matière sèche,
- vaccin inactivé mélangé à parties égales avec un adjuvant huileux à base d'huile de paraffine et d'Arlacel.

h) *Test de contrôle sérologique.*

Le sérum des animaux vaccinés est titré par la méthode de l'index de neutralisation. On mélange en quantités égales le sérum inactivé à 56° C pendant 30 minutes avec des dilutions décimales croissantes de virus. La même opération est faite sur un sérum de la même espèce mais dépourvu d'anticorps. Après incubation à 37° C pendant 1 heure, les différents mélanges virus-sérum, sous le volume de 0,4 ml, sont inoculés à des tubes contenant 2 ml de suspension cellulaire. Les tubes sont laissés 48 heures en position stationnaire à 37° C puis après changement du milieu, sont mis dans un portoir-tambour roulant. La lecture s'effectue du 4^e au 9^e jour. La différence de titre entre le sérum à analyser et le sérum témoin est exprimée en logarithmes et constitue l'index de neutralisation.

i) *Inoculation des animaux.*

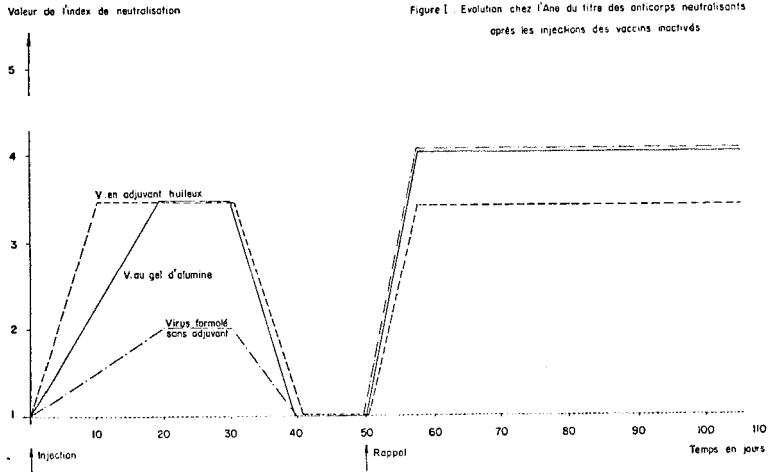
Le vaccin a été inoculé par la voie sous-cutanée à la dose de 5 ml à des ânes dont les sérums ne contenaient pas d'anticorps neutralisant le virus type 9. Dernièrement, ce vaccin a été injecté à des chevaux reçus de France et testés sérologiquement avant la vaccination.

II. — RÉSULTATS

a) *Chez les ânes.*

On observe une augmentation de l'index de neutralisation (voir figure 1) qui se manifeste à partir du 10^e jour, atteint au 20^e jour un plateau où elle se maintient, jusqu'au 30^e pour décroître et s'annuler au 40^e. Une injection de rappel de 5 ml de vaccin est faite le 50^e jour et provoque une élévation rapide de l'index de neutrali-

tient en plateau jusqu'au 106^e jour, ce délai constituant jusqu'à présent le plus long temps d'observation. L'injection vaccinale initiale de chacun des deux vaccins avec adjuvant provoque une meilleure réponse sérologique que celle du simple virus formolé.



Par contre, après l'injection de rappel, c'est le vaccin en adjuvant huileux qui semble le moins intéressant quant au titre d'anticorps obtenu.

Ces animaux seront soumis bientôt à l'épreuve par un virus virulent pour déterminer leur sensibilité à l'agent pathogène.

b) Chez les chevaux.

On observe également une augmentation de l'index de neutralisation qui atteint son maximum au bout de 8 jours et se maintient en plateau au 21^e jour, dernier résultat connu jusqu'ici.

III. — CONCLUSION

L'injection d'un vaccin monovalent, inactivé, préparé à partir de la souche type 9, atténuée par passage sur cerveaux de souris et adaptée à la souche cellulaire MS, fait apparaître chez les ânes des anticorps neutralisant ce type de virus. Ces anticorps disparaissent le 40^e jour et, après une injection de rappel, montrent une remontée rapide qui se maintient en plateau jusqu'au 106^e jour.

L'étude de ce même vaccin inactivé est en cours sur des chevaux

Dans un proche avenir, une partie de ces animaux sera éprouvée avec la souche virulente pour connaître leur résistance au virus pathogène, une autre partie étant conservée pour le contrôle de la durée de l'immunité conférée par un tel vaccin.

*Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux.
Laboratoire de Dakar-Nann.*

BIBLIOGRAPHIE

1. ALEXANDER (R. A.), NEITZ (N. O.) et DUTOIT (P. J.). — Horse sickness immunization of horses and mules in the field during the season 1934-1935 with a description of the technique of preparation of polyvalent mouse neurotropic vaccine. *Onderstepoort J.*, 1936, 7, 17-30.
2. JOHNSON (R. H.). — Rinderpest tissue culture 1-Methods for virus production. *Brit. Vet. J.*, 1962, 118, 107-116.
3. MIRCHAMSY (H.) et TASLIMI (H.). — Immunization against African Horse Sickness with tissue culture adapted neurotropic viruses. *Brit. Vet. J.*, 1964, 120 : 481-6.
4. MIRCHAMSY (H.) et TASLIMI (H.). — Attempts to vaccinate Feals with living tissue culture adapted Horse Sickness Virus, *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1964, 62 : 911-21.
5. OZAWA (Y.), HAZRATI (A.) et EROL (Y.). — African horse sickness live virus tissue culture. *Am. J. Vet. Res.*, 26, 110, 154-168.