

2V 000 1578

## **Tests d'innocuité du vaccin vivant atténué homologue contre la Peste des Petits Ruminants (P.P.R).**

### **1. INTRODUCTION :**

#### **1.1. Caractéristique de la souche:**

la souche d'origine du vaccin homologue anti PPR est le virus PPR 75/1 isolé au Nigeria en 1975(Réf.). Ce virus a été atténué in vitro sur des cellules Véro au CIRAD-EMVT(Réf.). La souche fournie pour la production de vaccin est au 70<sup>e</sup> passage sur cellules véro. Le lot de vaccin est considéré satisfaisant lorsque le titre de virus est supérieur au minimum requis ( $10^{2,5}$  par dose). Le contrôle de qualité du lot de vaccin tient compte également des résultats des tests d'identité, de stérilité bactérienne, fongique et mycoplasmaïque, d'innocuité et d'efficacité.

Le vaccin homologue anti PPR, produit pour la première fois au LNERV-ISRA, doit être utilisé à la place du vaccin hétérologue anti PB dans les campagnes de vaccination contre la PPR au Sénégal. Ce contrôle vise à vérifier l'innocuité de ces premiers lots de vaccin anti PPR fabriqués au LNERV sur des petits ruminants locaux.

#### **1.2. Définition du test d'innocuité:**

L'innocuité d'un vaccin est l'absence d'effets toxiques sur des espèces cibles (ou innocuité spécifique sur les ovins et les caprins pour le vaccin contre la peste des petits ruminants) et sur des espèces non cibles (ou innocuité non spécifique sur les souris blanches). L'innocuité est le contraire de la toxicité.

En pratique, une inoculation de vaccin effectuée chez des moutons et des chèvres est suivie d'un examen clinique (recherche de signes de la PPR) et sérologique (recherche d'anticorps )

### **II. MATÉRIELS & MÉTHODES:**

#### **2.1. LE LOT DE VACCIN testé:**

Le Lot du vaccin PPR N° R037 (ou 3<sup>e</sup> lot du vaccin PPR fabriqué à Dakar le 13/12/1997), de 290200 doses vaccinales réparties dans 5304 flacons de 50 doses. Le titre contrôlé le 24/12/1997 est de  $10^{3,1}$  Doses Cytopatogènes 50% (DCP50) par dose vaccinale (norme admise est de  $10^{2,5}$  DCP50 par dose vaccinale). Ce lot est apparu conforme aux tests de contrôle de stérilité bactérienne (milieu bouillon Trypticase soja enrichi de sérum), mycoplasmaïque (bouillons Thioglycolate et Goulay) et fongique (milieu de Sabouraud).

## 2.2. LES ANIMAUX:

Les tests d'innocuité spécifique ont été réalisés sur des moutons et des chèvres alors que les tests d'innocuité non spécifique l'ont été sur des souris blanches.

### 2.2.1. Les montons:

Six (6) moutons locaux de race Warale {issu de croisement du mouton peul-peul et du mouton maure} âgés d'un (1) an environ avec des poids variant de 15 à 23 Kg.

### 2.2.2. Les chèvres:

Sept (7) chèvres locales de race sahélienne âgées d'un (1) an avec des poids variant de 13 à 15 Kg.

### 2.2.3. Les souris blanches:

40 souris blanches d'un poids moyen de 18 grammes

## 2.3. LE PROTOCOLE DE CONTROLE:

### 2.3.1 Période d'observation ou d'acclimation:

Les petits ruminants, mis en observation pendant une période de dix neuf (19) jours, ont reçu un traitement à base de vitamine (STRESS VITAM®) d'antibiotique (LONGICINE®) et de déparasitant (IVOMECC®). L'alimentation est constituée de paille d'arachide, de concentré (sous forme de tourteau d'arachide) et de l'eau à volonté.

Pendant cette période, la température corporelle est prise tous les matins à 9 heures.

Des recherches d'hétoparasites et de parasites gastro-intestinaux, respectivement sur des frottis de sang et des fèces, ont donné des résultats négatifs.

Une recherche d'anticorps neutralisant le virus de la PPR s'est révélée négative chez l'ensemble des petits ruminants.

### 2.3.2 Protocole expérimental:

L'expérimentation consiste à inoculer aux animaux diverses doses du vaccin contre la PPR et à vérifier la présence ou l'absence d'effets néfastes (maladie, mauvais état général, mort, ). Ces animaux inoculés sont mis en contact avec des témoins non vaccinés pour vérifier la diffusion éventuelle du vaccin qui se traduit par une séroconversion (animal négatif devenant positif),

A cet effet, Les petits ruminants ont été répartis dans quatre groupes A, B, C, D :

Pour les 6 moutons:

Groupe A:

• 3 moutons: 1 inoculé à 100 doses (N° 18534) et 2 témoins contact non inoculés (N° 42190 et 44502)

Groupe B:

• 3 moutons: 2 inoculés à 0,1 dose (N° 42192 et 42195) et 1 témoin contact non inoculé (42191).

Tableau N°1: Répartition des ovins.

<u>Groupe / N° Ovin</u>	<u>Poids (en Kg)</u>	<u>Dose injectée</u>
Groupe A / 18534	18,5	100 doses
Groupe A / 42190	23	aucune (Témoin 100 doses)
Groupe A / 44502	19	aucune (Témoin 100 doses)
Groupe B / 42192	21	0,1 dose
Groupe B / 42195	19	0,1 dose
Groupe B / 42191	15	aucune (Témoin 0,1 dose)

Pour les 7 chèvres:

Groupe C:

• 4 chèvres: 2 inoculés à 100 doses (N° 44522 et 44526) et 2 témoins contact non inoculé (N° 44527 et 44528) .

Groupe D:

• 3 chèvres: 2 inoculées à 0,1 dose (N° 44520 et 44594) et 1 témoin contact non inoculé (N° 44595).

**Tableau N°2:** Répartition des caprins.

<u>Groupe / N° Caprins</u>	<u>Poids (Kg)</u>	<u>Dose injectée</u>
Groupe C / 144522	13	100 doses
Groupe C / 144526	13,5	100 doses
Groupe C / 144527	14,5	aucune (Témoin 100 doses)
Groupe C / 144528	15	aucune (Témoin 100 doses)
Groupe D / 144520	14	0,1 dose
Groupe D / 144594	15	0,1 dose
Groupe D / 144595	15	aucune (Témoin 0,1 dose)

Les injections de vaccin ont été réalisées par la voie sous cutanée à raison de 1 ml par animal. Ils sont examinés tous les jours cliniquement (prise de température, examen clinique) jusqu'au 21<sup>e</sup> jour. Des prises de sang ont été effectuées avant l'inoculation et au 21<sup>e</sup> jour après l'inoculation.

Pour les souris:

Deux groupes E, F ont été constitués en :

Groupe E:

10 souris recevant une (1) dose vaccinale par la voie péritonéale.

Groupe F:

10 souris témoins non inoculés.

les souris ont été suivies pendant 30 jours et des autopsies ont été réalisées sur toutes les souris à la fin de la période d'observation.

## 2.4. LES TESTS RÉALISÉS:

### 2.4.1. Les tests virologiques:

Des titrages et des isolements de virus ont été tentés sur les cultures de cellules Véro à partir des flacons de vaccin et du sang hépariné prélevé chez les petits ruminants vaccinés.

### 2.4.2. Les tests sérologiques:

Le test utilisé est celui de la séroneutralisation (sérum variable, virus constant) sur culture de cellules véro. La lecture est faite au 5<sup>e</sup> jour et la dilution est considérée comme positive lorsque les effets cytopathogènes sont absents.

Un sérum animal est positif lorsqu'il contient un titre d'anticorps neutralisant le virus PPR supérieur ou égal à 8.

### 2.4.3. Les tests bactériologiques & fongiques

Le sang prélevé est inoculé à différents milieux comme les bouillons Trypticase soja enrichi de sérum et de Thioglycolate (présence ou absence de bactéries), le milieu de Sabouraud (présence ou absence de champignons),

### 2.4.4. Les tests parasitologiques

Des frottis de sang sont réalisés pour vérifier, après coloration de Giemsa, la présence ou l'absence d'hétoparasites tels que les trypanosomes, les anaplasmes.

## III. RÉSULTATS & DISCUSSIONS:

### 3.1 TITRE DU LOT:

Le titre contrôlé du lot est de  $10^{3,1}$  Doses Cytopatogènes 5096 (DCP50) par dose vaccinale par la méthode de Reed et Nuench (norme admise est de  $10^{2,5}$  DCP50 par dose vaccinale). Ce lot est apparu conforme aux tests de contrôle de stérilité bactérienne (milieu bouillon Trypticase soja enrichi de sérum), mycoplasmaïque (bouillons Thioglycolate et Gourlay) et fongique (milieu de Sabouraud).

Les quantités virales inoculées sont de  $10^{2,1}$  DCP50 (125,8 DCP50) à 0,1 dose et de  $10^{5,1}$  DCP50 (125892,5 DCP50) à 100 doses virales.

### 3.1. ÉVOLUTION CLINIQUE:

#### 3.1.1. la température des animaux:

L'examen des courbes thermiques des animaux vaccinés et non vaccinés ne montre pas de différence significative. Aucune hyperthermie n'a été notée chez les animaux (voir courbes de température en annexe).

### 3.1.2, Les symptômes & lésions.

Aucun symptôme de maladie n'a été décelé chez les animaux (ovins et caprins) vaccinés et non vaccinés.

L'autopsie n'a révélé aucune lésion spécifique de peste des petits ruminants.

Chez les souris blanches, aucune mortalité n'a été notée et l'autopsie n'a révélée aucune lésion.

### 3.2. ÉVOLUTION VIROLOGIQUE ET SÉROLOGIQUE :

Aucun isolement de virus PPR n'a pu être obtenu des prélèvements de sang effectués durant les trois jours après la vaccination des petits ruminants (ovins et caprins).

Chez les ovins, les résultats sérologiques sont présentés dans le tableau N°3. Au 21<sup>e</sup> jour, les anticorps neutralisants sont présents, à des titres supérieurs à 40, chez tous les animaux vaccinés (N° 18534, 42192 et 42195) mais ils sont absents chez les Témoins non vaccinés (N° 42190, 44502 et 42191).

Les titres en anticorps anti virus PPR, les plus élevés (titre à 320), sont observés chez l'ovin N° 42192, ayant reçu 0,1 dose vaccinale.

Chez les caprins, les résultats sont présentés dans le tableau N°4. Au 21<sup>e</sup> jour, tous les quatre (4) animaux vaccinés sont apparus positifs en anticorps neutralisants le virus de la PPR. Au contraire, les animaux contact non vaccinés, au nombre de trois, sont restés négatifs.

## IV. CONCLUSIONS :

### 4.1, INNOCUITÉ NON SPÉCIFIQUE :

Le test d'innocuité non spécifique est satisfaisant.

Les résultats obtenus chez les souris blanches montrent que le lot de vaccin teste est parfaitement inoffensif.

### 4.2. INNOCUITÉ SPÉCIFIQUE :

Le test d'innocuité spécifique est satisfaisant.

Le lot testé est satisfaisant car il n'a pas provoqué de signes néfastes chez les petits ruminants (ovins et caprins) et a entraîné une forte réponse sérologique à toutes les doses vaccinales utilisées c'est à dire à 0,1 dose et à 100 doses. Cette forte réponse anticorps anti virus PPR est due aux quantités de virus présentes aux doses utilisées c'est à dire 125,8 DCP50 à 0,1 dose vaccinale et 125892,5 DCP50 à 100 doses vaccinales. Ces quantités

d'antigènes sont suffisamment importantes pour provoquer une réaction sérologique positive chez les petits ruminants.

**Tableau N°3:** Résultats des tests de séroneutralisation chez les ovins vaccinés et non vaccinés:

Dilution de Sérum -----	Pur	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
Dose injectée N° Ovin (Jour)							
<b>T100 doses</b>							
42190 (J <sub>0</sub> )	-	-					
42190 (J <sub>21</sub> )	-			-	-	-	-
<b>T0,1 Dose</b>							
42191 (J <sub>0</sub> )	-	-					
42191 (J <sub>21</sub> )	-				-	-	-
<b>0,1 Dose</b>							
42192 (J <sub>0</sub> )	-	-					
42192 (J <sub>21</sub> )	+	+	+	+	+	+	+
<b>0,1 Dose</b>							
42195 (J <sub>0</sub> )	-				-	-	-
42195 (J <sub>21</sub> )	+	+	+	+	+		
<b>T100 Doses</b>							
44502 (J <sub>0</sub> )	-	-	-	-		-	-
44502 (J <sub>21</sub> )	-	-				-	-
<b>100 Doses</b>							
18534 (J <sub>0</sub> )	-	-	-	-		-	-
18534 (J <sub>21</sub> )	+	+	+	+	+	-	-