

P7704

**ETUDE D'UN VACCIN BIVALENT A VIRUS VIVANT ANTI-MALADIE
D'AUJESZKY ET ANTI PESTE PORCINE
PREPARE A PARTIR DE 2 SOUCHES DE VIRUS
OBTENUES A BASSE TEMPERATURE EN CULTURE CELLULAIRE**

*J.M. AYNAUD (1) et B. TOMA (2)**

(1) I.N.R.A. - Laboratoire de Pathologie Porcine - 78850 Thiverval Grignon

(2) Ecole Vétérinaire d'Alfort - 94701 Maisons-Alfort

INTRODUCTION

Chez le porc, plusieurs vaccins associés à virus vivant ont été proposés avec succès ces dernières années. SAZAWA (1969) a associé la souche G.P.E. du virus de la peste porcine avec une souche atténuée du virus de l'encéphalite japonaise et a démontré que les animaux vaccinés avec un tel mélange étaient parfaitement capables de fabriquer des anticorps simultanément vis-à-vis de chacun des 2 virus. Successivement ZUFFA (1972) et BASSILEV (1976) ont mis au point respectivement un vaccin mixte anti maladie d'AUJESZKY et anti botulisme et un vaccin mixte vivant anti maladie d'AUJESZKY et anti ROUGET. Enfin concernant les vaccins bivalents à virus vivant anti peste porcine et anti AUJESZKY, POSGAY en 1963 et ZUFFA en 1967 ont proposé avec succès l'association d'une souche atténuée du virus de la maladie d'AUJESZKY avec la souche lapinisée dite "chinoise" du virus de la peste porcine. A notre tour nous nous sommes intéressés à la mise au point d'un vaccin bivalent à virus vivant anti maladie d'AUJESZKY et anti peste porcine en raison des grands avantages pratiques et économiques au niveau de leur utilisation sur le terrain. La souche "THIVERVAL" est une souche "froide" isolée à basse température (29°C) en culture cellulaire. Son innocuité, son efficacité et sa stabilité génétique ont fait l'objet de travaux précédents (LAUNAIS et coll. 1974). Récemment TOMA a également obtenu à 26°C en culture cellulaire après 220 passages un clone du virus de la maladie d'AUJESZKY, dépourvu de virulence mais ayant conservé son pouvoir immunigène (TOMA et coll., 1977). A partir de ces deux souches virales, nous avons préparé un vaccin bivalent à virus vivant dont nous présentons les premiers résultats.

MATERIEL ET METHODES

1/ Animaux :

Les 12 porcelets de 20 à 25 kg sont issus d'un élevage connu du département des Yvelines où les vaccinations contre la peste porcine et contre la maladie d'AUJESZKY ne sont pas effectuées.

2/ Vaccin :

a) Peste porcine classique

Nous avons utilisé la souche "THIVERVAL" qui est une souche isolée en culture cellulaire à 29°C. Le vaccin utilisé au cours de ce travail provenait du lot 40-604 (COGLAPEST). La dose normale de vaccin (2ml) est constituée de 10⁴ U.F.P.

* Avec la collaboration de Jacqueline GELFI, Elisabeth PETIT et Martine PEZRON.

b) Maladie d'AUJESZKY

Nous avons utilisé 1 ml ($10^{6,8}$ DICT.50) de culture de la souche "ALFORT-26", à son 220ème passage en culture cellulaire à 26°C. Les méthodes d'isolement et de production de ces deux souches ont déjà été publiées (LAUNAIS et coll. 1972, TOMA et coll. 1977).

c) Vaccin bivalent

Le mélange des 2 souches est réalisé dans la même seringue extemporanément.

3/ Protocole expérimental :

Répartition des lots d'animaux et protocole de vaccination

Répartis en 4 lots, les 12 animaux sont vaccinés selon le protocole présenté dans le tableau 1.

TABLEAU 1

PROTOCOLE EXPERIMENTAL : REPARTITION DES LOTS D'ANIMAUX ET VACCINATION *

LOT EXPERIMENTAL	VACCIN BIVALENT (MELANGE DES 2 VACCINS)	VACCIN CONTRE LA PESTE PORCINE	VACCIN CONTRE LA MALADIE D'AUJESZKY
A 4 porcelets	Souche "THIVERVAL" (2 ml) + Souche "ALFORT-26" (1 ml) (I.M.)		
B 2 porcelets		Souche "THIVERVAL" (2 ml/I.M.)	
C 2 porcelets			Souche "ALFORT 26" (1 ml/I.M.)
D 4 porcelets	Animaux témoins non vaccinés		

4/ Contrôle du pouvoir immunogène du vaccin bivalent :

L'immunité obtenue est recherchée vis-à-vis de chacun des 2 virus au moyen des deux méthodes suivantes :

a) Etude de la cinétique d'apparition de l'activité neutralisante dans le sérum vis-à-vis de chacun des 2 virus

Chaque semaine des prélèvements de sang sont récoltés à la veine cave antérieure de chacun des animaux.

Les anticorps neutralisants du sérum sont titrés à l'aide de technique de séroneutralisation en culture cellulaire précédemment décrite (CORTIER et coll. 1974, TOMA et coll. 1974). Le titre en anticorps neutralisants est exprimé par l'index de neutralisation (sérum au 1/20) pour le virus de la peste porcine, et par l'inverse de la dilution de sérum capable de neutraliser 100 T.C.I.D.₅₀ de virus pour la maladie d'AUJESZKY.

b) Résistance à l'épreuve virulente réalisée 42 jours après la vaccination avec des souches pathogènes

Pour la peste porcine, 2 animaux du lot A et 2 animaux du lot D ainsi que les animaux du lot B sont infectés par voie intra-musculaire avec 10^6 doses mortelles de la souche ALFORT. Pour la maladie d'AUJESZKY, 2 animaux du lot A et 2 animaux du lot D ainsi que les animaux du lot C reçoivent par voie intra-musculaire 1 ml (10^8 DICT.50) de culture d'une souche virulente hongroise.

RESULTATS

1/ Innocuité :

Dans les jours suivant la vaccination, les porcs ont conservé un comportement normal et la moyenne des températures des animaux ayant reçu les deux souches vaccinales n'a pas dépassé celle des animaux n'ayant reçu que la souche de virus de la maladie d'AUJESZKY.

2/ Cinétique d'apparition des anticorps neutralisants sériques :

Les résultats sont présentés dans les figures 1 et 2. (pages suivantes).

Chez les porcelets vaccinés avec le mélange des 2 vaccins (lot A) on observe l'apparition d'une activité neutralisante vis-à-vis de chacune des 2 virus : les anticorps neutralisant le virus de la peste porcine apparaissent dès la 2ème semaine et atteignent vers la 4ème-5ème semaine un niveau maximal (index de neutralisation ≥ 6) qui se maintient tout au long de la période d'observation.

Les anticorps neutralisant le virus de la maladie d'AUJESZKY apparaissent dès la première semaine et atteignent vers la 2ème semaine leur niveau maximal (1/8 - 1/16). On n'observe pas la différence significative entre les cinétiques d'anticorps des porcelets vaccinés avec le mélange (lot A) et celles des porcelets vaccinés respectivement avec la souche "THIVERVAL" (lot B) ou avec la souche "ALFORT 26" (lot C). Cependant on constate un titre en anticorps neutralisant le virus de la maladie d'AUJESZKY légèrement plus élevé chez les porcelets vaccinés avec le mélange. Toutefois, le faible nombre d'animaux par lot ne permet pas de prendre en compte cette différence.

Ces résultats suggèrent qu'il n'existe pas d'interférence réciproque dans l'établissement des immunités humorales respectives chez les porcelets à la suite de la vaccination avec le mélange des deux souches virales.

3/ Protection vis-à-vis de l'infection virulente d'épreuve (tableau 2).

Peste porcine classique

2 porcs vaccinés avec le mélange (lot A) et les deux porcs ayant reçu seulement le vaccin contre la peste porcine (lot B) ont résisté parfaitement à l'infection virulente d'épreuve. En revanche les deux animaux témoins non vaccinés ont succombé dans les délais habituels. En conclusion, l'injection simultanée de vaccin contre la maladie d'AUJESZKY n'a pas d'influence sur les conditions du développement de l'immunité contre la peste porcine contrôlée par la résistance à l'épreuve virulente.

Maladie d'AUJESZKY

2 animaux vaccinés avec le mélange (lot A) et les 2 animaux ayant reçu seulement le vaccin contre la maladie d'AUJESZKY (lot C) ont résisté à l'épreuve virulente. Toutefois la température des 4 porcs est restée

FIGURE 1

CINETIQUE D'APPARITION DES ANTICORPS NEUTRALISANT LE VIRUS DE LA PESTE PORCINE DANS LE SERUM DES PORCELETS VACCINES AVEC LA SOUCHE THIVERVAL DU VIRUS DE LA PESTE PORCINE (LOT B) OU AVEC LA SOUCHE ALFORT 26 DU VIRUS DE LA MALADIE D'AUIESZKY SEUL (LOT C) OU ENFIN AVEC LE MELANGE DES DEUX SOUCHES DANS LA MEME SERINGUE (LOT A)

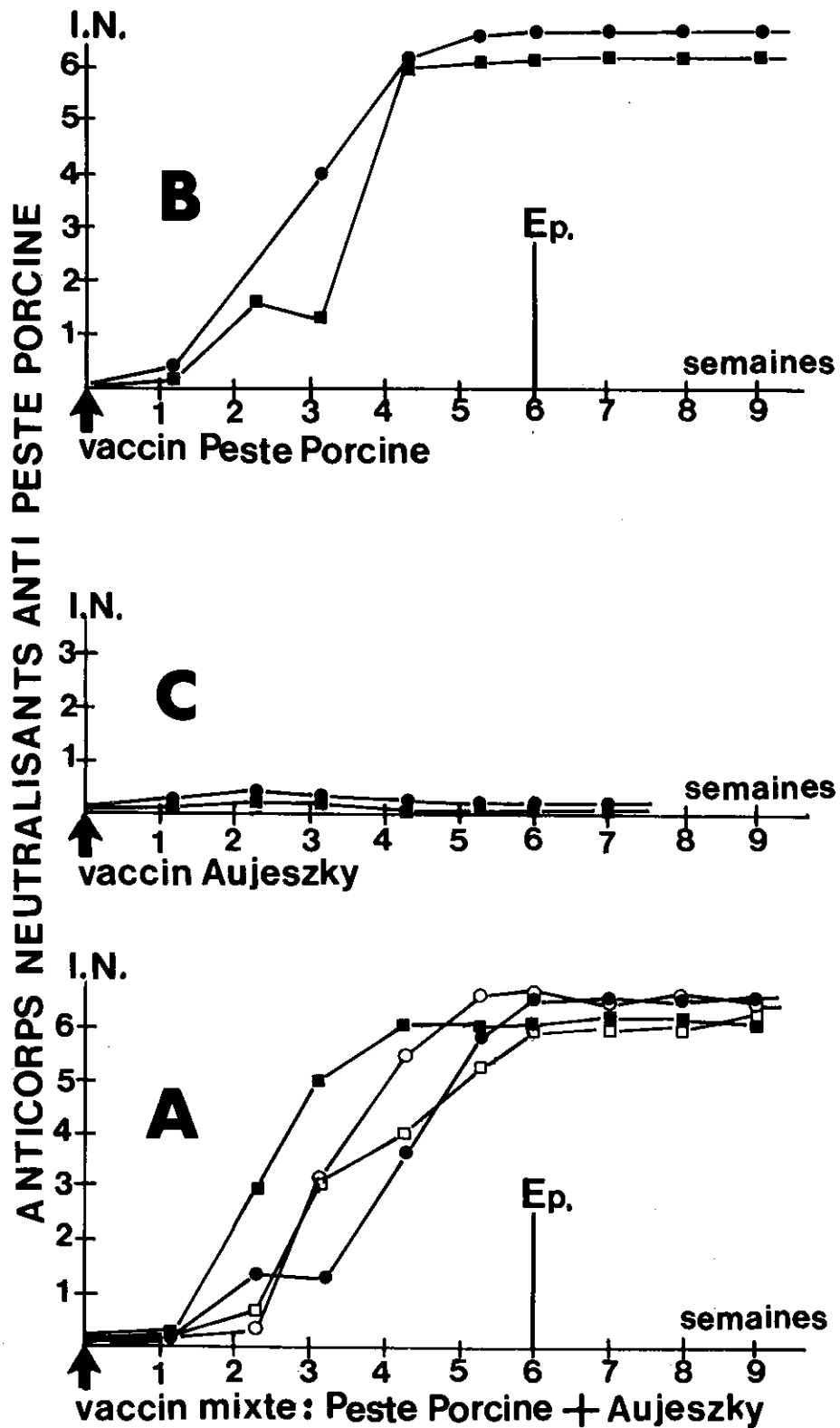
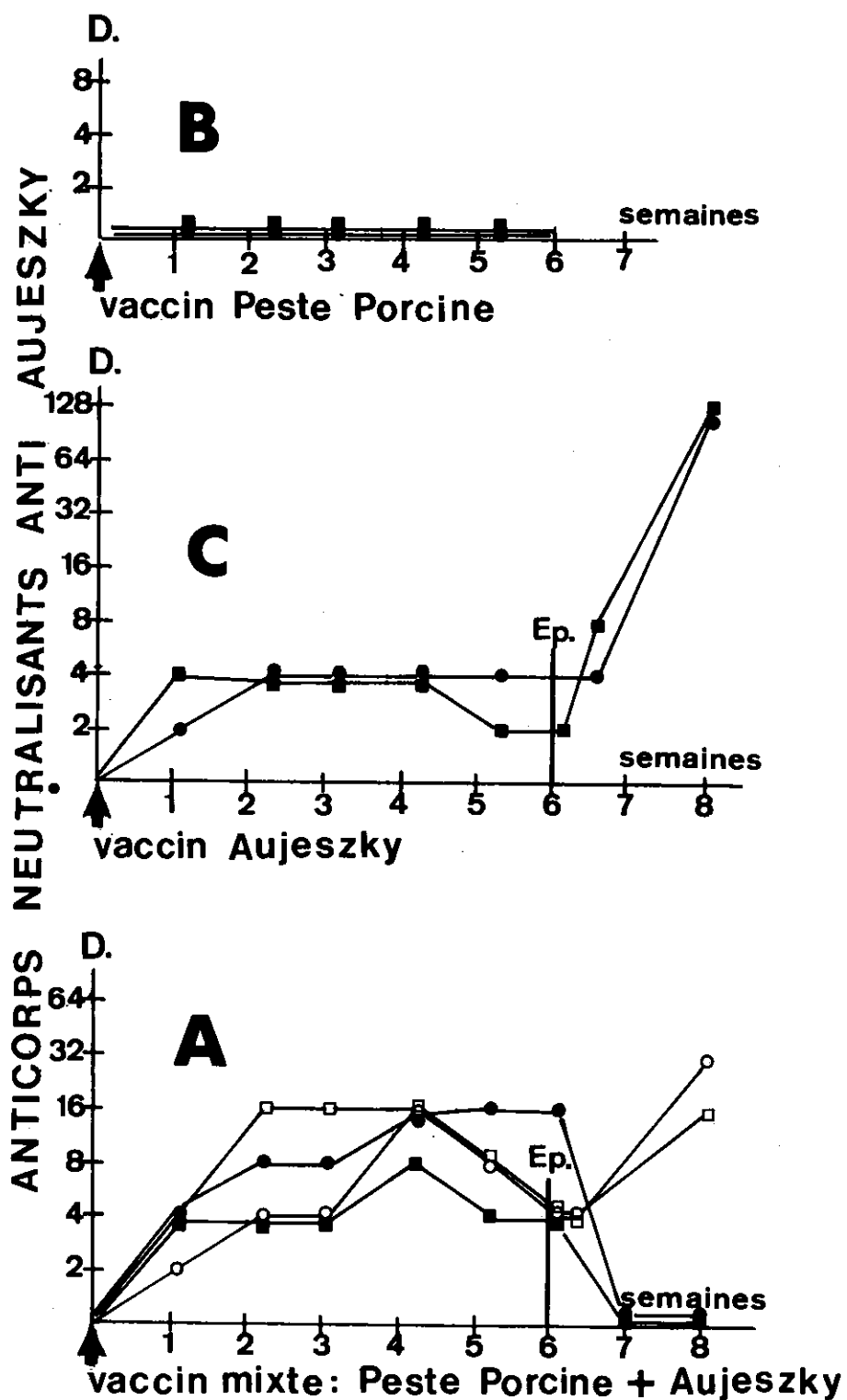


FIGURE 2

CINETIQUE D'APPARITION DES ANTICORPS NEUTRALISANT LE VIRUS DE LA MALADIE D'AUJESZKY
 DANS LE SERUM DES PORCELETS VACCINES AVEC LA SOUCHE THIVERVAL
 DU VIRUS DE LA PESTE PORCINE (LOT B)
 OU AVEC LA SOUCHE ALFORT 26 DU VIRUS DE LA MALADIE D'AUJESZKY SEUL (LOT C)
 OU ENFIN AVEC LE MELANGE DES DEUX SOUCHES DANS LA MEME SERINGUE (LOT A)



comprise entre 40°C et 40,5°C pendant trois ou quatre jours et a même atteint 41°C pour l'un des porcs mais l'on n'a pas constaté de différence significative entre les porcs des lots A et C. Les deux animaux témoins ont présenté des réactions thermiques plus marquées ($t \geq 41^\circ\text{C}$) et prolongées, mais ne sont pas morts. Les résultats ne nous permettent donc pas d'apprécier complètement pour l'instant le pouvoir immunogène du mélange des 2 vaccins vis-à-vis de l'épreuve virulente par le virus de la maladie d'AUJESZKY.

TABEAU 2
TABEAU RECAPITULATIF DES RESULTATS
POUVOIR IMMUNOGENE

LOT EXPERIMENTAL	ANTICORPS NEUTRALISANTS DU SERUM (1)		RESISTANCE A L'EPREUVE VIRULENTE (2)	
	PESTE PORCINE	MALADIE D'AUJESZKY	PESTE PORCINE	MALADIE D'AUJESZKY
A (vaccinés avec le mélange)	4/4	4/4	2/2	2/2
B (vaccinés contre la Peste Porcine)	2/2	0/2	2/2	—
C (vaccinés contre AUJESZKY)	0/2	2/2	—	2/2
D (non vaccinés)	0/2	0/2	0/2	—
	0/2	0/2	—	2/2

(1) Nombre d'animaux ayant des anticorps neutralisants sériques après la vaccination/nombre total d'animaux.

(2) Nombre d'animaux résistant à l'épreuve/nombre total d'animaux.

DISCUSSION

Réalisée sur un nombre réduit d'animaux, cette expérience doit être considérée comme préliminaire. Néanmoins, les résultats obtenus sont encourageants et démontrent en particulier que le mélange des 2 vaccins dans la même seringue n'a apparemment pas d'influence défavorable sur les conditions de développement simultané de l'immunité humorale respective de chacun des 2 virus considérés. De plus ce nouveau vaccin associé induit une excellente protection vis-à-vis d'une infection virulente par le virus de la peste porcine. L'épreuve virulente, à l'aide du virus de la maladie d'AUJESZKY réalisée par voie intra-musculaire au lieu de la voie intra-nasale habituellement employée, s'est révélée insuffisamment sévère. Des expériences ultérieures poursuivies sur un plus grand nombre d'animaux éprouvés par voie nasale à l'aide du virus de la maladie d'AUJESZKY, seront réalisées afin de préciser le comportement des animaux vis-à-vis de l'épreuve virulente. Il nous faudra également déterminer la durée de l'immunité ainsi obtenue et l'influence du nombre d'injections de la souche de virus de la maladie d'AUJESZKY.

Sans insister sur les avantages évidents sur le plan pratique et économique, il faut souligner l'intérêt de la mise en œuvre d'un vaccin vivant associé constitué de deux souches isolées en culture cellulaire à basse température après de nombreux passages en dilution limite dont l'innocuité, le pouvoir immunogène et la stabilité génétique ont été démontrées (souche THIVERVAL) ou sont en cours d'étude (souche ALFORT 26).

* * *