



**HAL**  
open science

## ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'IMMUNITÉ ANTICLAVELEUSE POST-VACCINALE

M. Fassi-Fehri, M. El-Harrak, D. Johnson, M. Abbadi, A.H. El-Idrissi

► **To cite this version:**

M. Fassi-Fehri, M. El-Harrak, D. Johnson, M. Abbadi, A.H. El-Idrissi. ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'IMMUNITÉ ANTICLAVELEUSE POST-VACCINALE. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1984, 15 (1), pp.59-64. hal-00901478

**HAL Id: hal-00901478**

**<https://hal.science/hal-00901478>**

Submitted on 11 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'IMMUNITÉ ANTICLAVELEUSE POST-VACCINALE

M. FASSI-FEHRI<sup>1</sup>, M. EL-HARRAK<sup>2</sup>, D. JOHNSON<sup>1</sup>, M. ABBADI<sup>2</sup> et A.H. EL-IDRISSI<sup>1</sup>

1: Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Département de Microbiologie et Maladies Contagieuses, BP 6202, Rabat-Instituts, Maroc

2: Institut de Biologie Animale, BP 4505, Rabat-Akkari, Maroc

### Summary

EXPERIMENTAL STUDY OF POSTVACCINAL IMMUNITY TO SHEEP-POX VACCINES. — Two live virus sheep-pox vaccines have been prepared on lamb testicular cells from strains Perego and RM65. Inocuity and activity have been compared to those of a commercial vaccine on a small number of lambs. Immunogenicity has been studied through neutralizing and precipitating antibodies, and through challenge resistance (strain Held), using a protective index. Results show that Perego vaccine titrated at  $10^4$  DICT50 gives a reliable immunity and does not provoke severe reaction post-inoculation. RM65 vaccine of which protection index is lower, only avoid infection to generalize. Although some correlation exists between seroneutralizing titers and protective index, virulent challenge appears and seems to give better data with regards to the level of protection conferred.

La lutte contre la clavelée dans les pays infectés repose essentiellement sur la prophylaxie médicale. Selon le rapport annuel (1982) de la Direction de l'Élevage du Ministère de l'Agriculture et de la Réforme Agraire du Maroc, seuls les vaccins à virus vivant sont capables de protéger efficacement les animaux. Mais on observe de grandes variations entre les souches vaccinales selon leur mode de production en culture cellulaire (El-Harrak, 1976). De ce fait, il nous a paru utile de comparer l'innocuité et l'efficacité de deux souches du virus de la clavelée adaptées à la culture sur cellules testiculaires d'agneau aux propriétés d'un vaccin du commerce préparé sur cellules rénales de mouton.

### Matériel et Méthodes

#### 1. Animaux

L'expérimentation a porté sur 20 agneaux ou agnelles

âgés de deux à cinq mois, de races Timahdit et Sardi, les plus communément représentées au Maroc. Les animaux étaient indemnes de vaccination et dépourvus d'anticorps.

#### 2. Souches vaccinales

##### 2.1. Souche Perego.

Il s'agit d'une souche d'origine algérienne adaptée en cinq passages aux cellules testiculaires d'agneaux, à l'Institut Vétérinaire de Sofia (Mateva et Stoichev, 1975). Elle a subi, dans notre laboratoire 11 passages sur cellules testiculaires ovines. Deux préparations titrant  $10^2$  et  $10^4$  DICT50/ml (dose infectieuse 50 % en culture tissulaire) ont servi à l'immunisation.

##### 2.2. Souche RM65.

Cette souche, d'origine yougoslave, a été atténuée en 31 passages sur cellules rénales de mouton à l'Institut Razi d'Iran (Ramyar et Hessami, 1968). Elle a subi 11 passages sur cellules testiculaires de mouton et a servi à la préparation de deux suspensions titrant  $10^2$  et  $10^4$  DICT50/ml.

### 2.3. Vaccin témoin.

Il s'agit d'un vaccin commercial préparé sur cellules rénales d'agneau avec une souche d'origine roumaine. Ce vaccin est utilisé au Maroc dans les campagnes de prophylaxie depuis 1978. Il titre 100 DICT 50 par dose (0,1 ml).

### 3. Virus d'épreuve

La souche Held d'origine turque, a été passée deux fois sur cellules testiculaires d'agneau au laboratoire de Plum Island, des services vétérinaires américains. Elle a subi un passage sur mouton dans notre laboratoire. La suspension virulente obtenue du claveau titre  $10^{6,8}$  DR50/ml (dose réactive 50 % sur mouton).

### 4. Tests sérologiques

Les tests d'immunodiffusion en gélose et de séroneutralisation ont été réalisés selon les techniques décrites respectivement par Pandey et Singh (1972) et par Martin *et al.* (1975). La séroneutralisation s'effectue à virus constant (100 DICT 50/ml) et sérum variable (dilutions de 2 en 2) sur des plaques de microtitration ensemençées avec des cellules testiculaires de mouton. Après dix jours d'incubation à 37 °C, le titre neutralisant est calculé par la méthode de Reed et Muench.

### 5. Test d'innocuité

Les réactions locales et générales provoquées suite à l'inoculation sous-cutanée des différents virus-vaccin ont été surveillées au cours des deux semaines suivantes.

### 6. Test d'activité

L'épreuve virulente par la souche Held a été pratiquée sur 16 animaux, 21 jours après la vaccination. L'évaluation de l'activité se fonde sur l'indice de protection, et le cas échéant, sur l'observation de lésions secondaires et d'une réaction généralisée. L'indice de protection est apprécié par titrage du virus chez les animaux vaccinés et chez les animaux témoins (au nombre de 4). Chaque agneau reçoit au niveau du flanc, cinq intradermiques (0,2 ml) de chacune des dilutions du virus d'épreuve; celles-ci allant de  $10^{-2}$  à  $10^{-7}$  pour les animaux vaccinés et de  $10^{-3}$  à  $10^{-8}$  pour les témoins. La lecture des résultats après sept jours permet de calculer le titre apparent du virus: l'indice de protection (IP) représente la différence entre le titre (en log) fourni par les témoins (T) et le titre observé chez les animaux vaccinés (V):

$$IP = T - V$$

## Résultats

### 1. Réactions post-vaccinales

#### 1.1. Innocuité des virus-vaccins (tabl. 1)

Trois des quatre animaux ayant reçu le vaccin témoin ont présenté une réaction locale, se traduisant par une tuméfaction de 2 à 4 cm de diamètre évoluant au sixième jour vers la nécrose chez l'un d'entre eux. Une légère induration, résorbée vers le cinquième jour, a été observée au point d'inoculation sur les animaux infectés avec le virus

Perego à la dose de  $10^4$  DICT50 (VP2). Dans les trois autres lots (virus Perego à  $10^2$  DICT50, VP1; et virus RM65 aux doses de  $10^2$  (RM1) et  $10^4$  DICT50 (RM2) aucune réaction locale n'a été observée. Une réaction hyperthermique (température  $\geq 40$  °C) s'est déclarée chez les animaux des lots VP2 et VT, postérieurement à l'inflammation locale.

### 1.2. Réactions sérologiques

Les anticorps précipitants sont présents chez 11/16 des animaux sept jours après la vaccination, chez 14 des animaux le 14<sup>e</sup> jour, et chez les 16 vaccinés après 21 jours. Avec la souche Perego, cinq animaux sur six (VP1 et VP2) répondent dès le septième jour (résultats non présentés).

La séroneutralisation effectuée 14 jours après la vaccination montre que tous les animaux sont positifs avec un titre neutralisant de 0,4 à 0,8. Le taux d'anticorps neutralisants continue à s'élever jusqu'à la troisième semaine. Les titres neutralisants les plus élevés ont été trouvés chez les animaux injectés avec le vaccin témoin (tabl. 2).

### 2. Réactions après l'épreuve virulente

#### 2.1. Animaux témoins non-vaccinés

Trois jours après l'épreuve, les points d'inoculation correspondant au virus le plus concentré ( $10^{-3}$ ) sont le siège de papules arrondies rougeâtres de 7 mm de diamètre. Au quatrième jour, le diamètre de ces réactions augmente jusqu'à la confluence tandis qu'apparaissent des papules à la dilution  $10^{-5}$ . La lecture du titre est considérée comme définitive le septième jour, lorsque les lésions évoluent vers la nécrose et la suppuration. La virulence de la souche d'épreuve est élevée ( $10^7$  DR50/ml) (fig. 1).

La réaction générale (fièvre, abattement, inappétence) apparaît dès le sixième jour. Les localisations éruptives secondaires débutent au niveau des narines et du périnée et envahissent toutes les régions glabres vers le dixième jour.

#### 2.2. Animaux vaccinés

Dès 48 h on note une inflammation localisée dont l'évolution varie avec le degré de protection des animaux. Deux des quatre animaux du lot VP1, ainsi qu'un des quatre animaux du lot RM1 ont présenté des réactions analogues par leur évolution et leur intensité à celle des témoins non-vaccinés. Les autres animaux vaccinés ont eu des réactions plus ou moins marquées qui ont régressé et disparu 15 jours après l'épreuve.

Dans les lots VP1 et RM1, nous avons observé une hyperthermie entre les sixième et huitième jours. Un animal sur quatre du lot VP1 a présenté des réactions secondaires, avec persistance des lésions jusqu'à 21 jours.

Les indices de protection (tabl. 1) ainsi que l'évolution du titre virulent dans les semaines suivant l'épreuve (tabl. 3) font apparaître des différences notables selon les lots.

**Discussion**

1. *Appréciation de l'immunité*

L'inoculation d'un vaccin anti-claveleux non-

Tableau 1. — Évaluation de l'innocuité et de l'activité des vaccins anti-claveleux

Vaccin lot animaux	Innocuité		Activité			Titre virulent <sup>d</sup> (log <sub>10</sub> )	Indice de protection
	Température <sup>a</sup>	Réactions locales <sup>b</sup>	Température <sup>a</sup>	Réactions locales <sup>c</sup>			
<i>Vaccin Perego</i>							
VP1							
S13	—	—	+	—		6,87	...
S76	+	—	+++ G	+++ N		7,32	...
T59	—	—	+	—		6,70	...
T11	+	—	+++	++ N		6,87	...
Moyenne	...	...	...	...		6,95	0,17
VP2							
S43	+	+	—	—		4,20	...
T23	++	+	—	—		3,53	...
Moyenne	...	...	...	...		3,98	3,14
<i>Vaccin RM65</i>							
RM1							
S65	+	—	+	—		5,33	...
S50	—	—	—	—		6,01	...
T09	+	—	+	—		5,86	...
T21	—	—	++	++ N		7,20	...
Moyenne	...	...	...	...		6,16	1,00
RM2							
S11	+	—	—	—		5,53	...
T05	—	—	—	—		5,87	...
Moyenne	...	...	...	...		5,70	1,42
<i>Vaccin témoin</i>							
S27	+	—	—	—		2,87	...
S85	+++	+++ N	—	—		3,20	...
T04	+++	++	—	—		3,20	...
T25	++	++	—	—		3,08	...
Moyenne	...	...	...	...		3,08	4,04
<i>Lot témoin</i>							
S20	...	...	+++ GM	++ N		6,87	...
S51	...	...	+++ G	+++ N		7,19	...
T03	...	...	+++ G	+++ N		7,32	...
T34	...	...	+++ G	++ N		7,01	...
Moyenne	...	...	...	...		7,12	0

a: -, ≤ 40 °C; +, 40 à 40,5 °C; ++, 40,6 à 41,1 °C; +++, 41,2 à 42 °C; G, généralisation; M, mortalité  
 b: -, aucune réaction locale; diamètre de la réaction +, 1 cm; ++, 2 cm; +++, 3-4 cm  
 c: réaction locale à l'épreuve (lecture 14 jours après épreuve) -, régression totale; + N nécrose de quelques points réagissants; ++ N, nécrose limitée aux trois premières dilutions; +++ N, nécrose intense avec complication  
 d: lecture à 6 jours

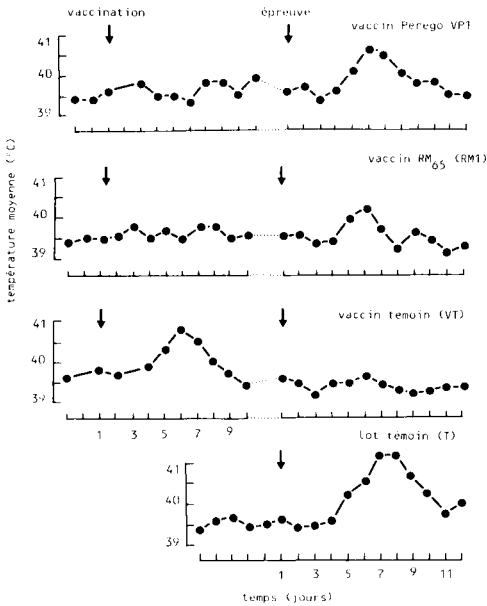


Fig. 1. — Évolution de la température moyenne des lots vaccinés et témoins.

inactivé s'accompagne d'une multiplication du virus, responsable de la réaction locale et de l'hyperthermie observées. Dans nos conditions expérimentales, une telle réaction vaccinale, marquée dans le cas du vaccin témoin, fut modérée, voire nulle, avec les deux souches préparées sur cellules testiculaires.

## 2. Appréciation de l'activité

Un vaccin est dit acceptable lorsqu'il confère une résistance au virus d'épreuve 100 fois plus élevée chez les vaccinés que chez les animaux vierges (El-Harrak, 1976; Ramisse *et al.*, 1978; Ramyar et Hessami, 1968). Ceci correspond à un indice de protection supérieur à 2, ou à l'absence de généralisation sur des animaux éprouvés avec 100 fois la dose de virus d'épreuve nécessaire à l'apparition de lésions secondaires chez les animaux témoins (Martin *et al.*, 1973; Fassi-Fehri et El-Harrak, 1977; Precausta *et al.*, 1979).

Dans ces conditions, deux vaccins sont satisfaisants: le vaccin témoin (VT) et le vaccin Perego à la dose de  $10^4$  DICT50 (VP2). Le virus Perego à la dose de  $10^2$  DICT50 (VP1) n'entraîne pas une protection suffisante. La souche RM65 confère un indice de protection compris entre 1 et 2, à la dose de  $10^4$  DICT50 (RM2). Ce virus protège les agneaux contre une généralisation de l'infection et les réactions aux points d'inoculation restent discrètes. Ce résultat concorde avec ceux rapportés par Ramyar *et al.* (1976).

Tableau 2. — Évolution du titre des anticorps neutralisants chez les animaux vaccinés

Vaccins Animaux	Titre en anticorps neutralisants	
	14 <sup>e</sup> jour	21 <sup>e</sup> jour
<i>Vaccin Perego VP1</i>		
S13	0,75	0,83
ST76	0,75	0,83
T59	0,68	0,83
T11	0,45	0,75
<i>Vaccin RM65, RM1</i>		
S65	0,45	0,68
S50	0,53	0,75
T9	0,68	0,75
T21	0,45	0,53
<i>Vaccin témoin VT</i>		
S27	0,83	0,83
S85	0,75	0,98
T4	0,83	0,98
T25	0,83	0,98

Tableau 3. — Evolution du titre virulent (exprimé en log<sub>10</sub>) chez les lots d'animaux vaccinés et témoins (T)

Vaccins	2j	4j	6j	10j	15j	21j	Evolution au-delà de 3 semaines
VP1	2,8	4,8	6,9	6,9	6,9	6,9	Disparition sauf chez 1 animal (complications)
VP2	3,1	3,9	3,9	0	0	0	Disparition totale
RM1	2,9	5,0	6,1	6,1	6,1	0	Disparition totale sauf chez 1 animal (nécrose)
RM2	2,7	5,1	5,7	5,7	0	0	Disparition totale
VT	2,7	3,1	0	0	0	0	Disparition totale
T	0	6,5	7,1	7,1	7,1	7,1	Confluence et complications

3. Relations entre les différents critères d'appréciation de l'immunité

Selon les résultats du tableau 1, il existe un parallélisme entre l'indice de protection, qui ne considère que les lésions primaires, et l'observation de la généralisation qui ne prend en compte que les lésions secondaires. Dans les lots VT, RM2 et VP2 pour lesquels l'indice de protection est supérieur à 1,4, aucune généralisation n'est observée après l'épreuve. Il n'en est pas de même pour les lots RM1 et VP1 (IP < 1) pour lesquels on observe des cas de généralisation après l'épreuve.

L'observation des lésions secondaires après l'épreuve pourrait donc se substituer à la détermination de l'indice de protection, méthode précise mais onéreuse. Un nombre d'expériences plus grand serait néanmoins nécessaire pour affirmer une telle proposition. Les fortes valeurs de l'indice de protection s'accompagnent de bons taux d'anticorps sériques neutralisants, ainsi que l'ont déjà relevé d'autres auteurs (Pandey et Singh,

1970; Martin *et al.*, 1975). En revanche, la présence d'anticorps circulants n'implique pas nécessairement un bon degré de protection. Intéressante dans le cadre du diagnostic, la réaction d'immunodiffusion n'offre aucune indication sur le niveau de protection.

Enfin, l'indice de protection est en relation avec la réaction post-vaccinale les agneaux (VT et VP2) qui ont réagi cliniquement après la vaccination ont un indice de protection élevé et résistent à l'épreuve virulente. Parallèlement, les indices de protection les plus faibles s'observent chez les animaux n'ayant présenté aucune réaction lors de la vaccination (VP1, RM1). Cette constatation confirme les observations antérieures (Fassi-Fehri et El-Harrak, 1977) selon lesquelles le virus-vaccin doit se multiplier activement pour conférer une immunité solide.

Accepté pour publication, le 31 mai 1983.

Résumé

Deux vaccins anticlaveleux à virus vivant ont été préparés sur cellules testiculaires d'agneau à partir des souches Perego et RM65. Leur innocuité et leur activité ont été comparées à celles d'un vaccin du commerce sur de petits lots d'agneaux. Le pouvoir immunogène a été étudié par recherche des anticorps neutralisants et précipitants, et par la résistance à l'épreuve (souche Held), apprécié à l'aide d'un indice de protection. Les résultats montrent que le vaccin Perego à la dose de 10<sup>4</sup> DICT50 engendre une immunité solide sans provoquer de réaction post-vaccinale sévère. Le vaccin RM65, dont l'indice de protection est inférieur, empêche seulement la généralisation de l'infection. Il existe une certaine corrélation entre titre neutralisant sérique et indice de protection. Cependant l'épreuve virulente semble donner une meilleure indication sur le degré de protection conféré.

Références

EL-HARRAK M., 1976. *Contribution à l'étude de la prophylaxie de la clavelée: Étude expérimentale de l'innocuité et de l'activité de six vaccins claveleux*. Thèse Doctorat Vétérinaire, INAV Hassan II, Rabat, Maroc, n° 76-634.  
 FASSI-FEHRI M., EL-HARRAK M., 1977. *Étude de l'innocuité et de l'activité de six vaccins claveleux*. Hommes, Terre et Eaux, n° 25, Rabat.  
 MARTIN W.B., ERGIN H., KOYLU A., 1973. Tests in sheep of attenuated sheep-pox vaccines. *Res. Vet. Sci.*, **14**, 53-61.

- MARTIN W.B., ERHAN M., ONAR B., 1975. Studies on sheep-pox vaccine-serum virus neutralisation tests. *Pendik Vet. Kontrol Ara. Enst. Derg.*, **8**, 26-47.
- MATEVA V., STOICHEV S., 1975. Adaptation and cultivation of sheep-pox virus (strain Perego) in tissue cultures and evaluation of its immunogenic properties. *Veterinarnomed. Nauki*, **12**, 18-23.
- PANDEY R., SINGH I.P., 1970. Cyto-pathogenicity and neutralisation of sheep-pox virus in primary cell culture of ovine and caprine origin. *Indian J. Pathol. Bacteriol.*, **13**, 6-11.
- PANDEY R., SINGH I.P., 1972. Soluble antigens of sheep-pox and goat pox viruses as determined by immunodiffusion in agar gel. *Acta Virol.*, **16**, 41-46.
- PRECAUSTA P., KATO F., VELLUT G., 1979. A new freeze-dried living virus vaccine against sheep-pox. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **1**, 305-319.
- RAMISSE J., ASSO J., HASSANI A., ANANE O., JEMLI J., 1978. Culture du virus claveleux sur cellules : application à la vaccination et au contrôle de l'immunité. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, **31**, 11-19.
- RAMYAR H., HESSAMI M., 1968. Development of an attenuated live vaccine against sheep-pox. *Arch. Inst. Razi*, **20**, 77-80.
- RAMYAR H., HESSAMI M., GHABOUSSI B., 1976. Observations on the use of live-modified tissue culture vaccine against sheep-pox. *Arch. Inst. Razi*, **28**, 11-16.
- RAPPORT ANNUEL DE LA DIRECTION D'ÉLEVAGE 1982. Ministère de l'Agriculture et de la Réforme Agraire, Rabat, Maroc (1982).