

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de

Magistère en Sciences Vétérinaires

Option : Microbiologie médicale vétérinaire

**Etude comparative de la cinétique des anticorps anti-claveleux
post vaccinaux, évalués par séro-neutralisation sur cultures
cellulaires ; primaire RM et de lignée continue VERO**

Présenté par :

Kahina KALLI épouse TAHTAH

Devant le jury :

Pr. HAMDI. TM	Professeur, ENSV Alger	Président
Pr. BEN-MAHDI. M.H.	Professeur, ENSV Alger	Promotrice
Pr. KHELEF. D	Professeur, ENSV, Alger	Examineur
Dr. LAMARA. A	Maître de Conférence classe A, ENSV, Alger	Examineur
Dr. TOUARIGT. N	Maître de Recherche, IPA	Examinatrice

Decembre 2014



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

merciements

Mlle le Professeur M.H Benmahdi,

Merci pour votre patience, votre disponibilité, votre rigueur et vos judicieux conseils qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Par vos encouragements, votre professionnalisme et votre doigté, vous m'avez aidée à surmonter tous les obstacles qui nous ont longtemps freinées dans la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de tout mon respect, ma grande considération, et ma profonde admiration pour toutes vos qualités humaines et scientifiques. Ce travail est l'occasion de vous témoigner toute ma gratitude.

es du jury :

Le Professeur Hamdi,

Pour l'honneur que vous nous faites de présider le jury de ce magister.

Votre sérénité, votre gentillesse, et votre modestie représentent pour moi une source d'inspiration.

Recevez ici l'expression de mon profond respect et de toute mon estime.

Le Professeur Khelef,

De nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Pour votre pédagogie particulière en cours de graduation et post-graduation.

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de mes remerciements les plus respectueux.

Le Docteur Lamara,

Pour l'honneur que vous nous faites de juger ce travail.

Pour la qualité de votre enseignement en méthodologie de recherche en cinquième année et en post graduation.

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

Le Docteur Touarigt,

Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Merci pour cette confiance que vous avez eu en moi, votre oreille attentive, et vos grandes qualités humaines.

Merci pour m'avoir aidée dans la réalisation de ce travail et l'avoir dirigé. Vous m'avez ouvert les portes du laboratoire et mis à ma disposition tous les moyens humains et matériels indispensables à la réalisation de ce travail avec beaucoup de générosité.

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

sible grâce à la contribution de plusieurs personnes à
qui je voudrais témoigner ma sincère reconnaissance :

Mr M.Segouani, pour votre encadrement de qualité. J'ai appris tant de choses avec vous, en l'espace de quelques mois. Vous avez rendu ce travail réalisable et m'avez redonné l'espoir. Sans vous ce travail n'aurait pu aboutir. Je suis heureuse d'avoir pu le mener auprès de vous. C'est assurément une expérience très positive qui aura un impact sur ma façon de procéder à l'avenir.

Dr H. Ghaoui, ton soutien, ta disponibilité à chaque fois que je t'ai fait appel, m'ont été d'une grande aide. Veux- tu trouver ici toute ma reconnaissance et ma gratitude.

Mr M. Hamidouche, mes sincères remerciements pour t'être prêté à l'exercice avec autant de patience, sincérité et d'ouverture. Tu as toujours répondu présent avec tant de générosité. Je te souhaite une longue et belle carrière dans la recherche.

Mme Zenia, pour son intervention en analyse statistique.

Dr Boughalem(DSV), **Dr Mekani** (DSA Oum El Bouaghi), les Vétérinaires, techniciens et agents de l'ITELV Ain M'Lila, pour votre contribution dans ce projet.

Dr R. Bazizi, tu m'as certainement beaucoup aidée, conseillée. Tu es l'une des plus belles rencontres et amitiés tissées durant ce travail.

Pr Sghier, et **Mr Chouchane**, pour le stage que vous m'avez accordé dans votre laboratoire.

Mr A. Meterfi, pour ces échanges qui m'ont clarifié certains points.

Toute l'équipe du laboratoire de production du vaccin anti-claveleux, **Ammi Rachid**, pour sa patience face à mes exigences en stérilisation, à **Naim, Amina, Soumeia, Fatima, Salima**.

Merci également aux éleveurs pour leur collaboration.

Merci au personnel de la bibliothèque de l'ENSV, particulièrement **Yacine, Hamid et Meriem**.

Grâce à vous tous, ce travail a été une expérience riche en terme de relations tissées, de liens de confiance, et de partage des connaissances.

Je dédie ce travail à :

*Mon compagnon de la vie, **mon mari Ali,***

Ton support moral et intellectuel dans toutes mes entreprises a été indispensable.

Merci pour ta patience pour ces longues absences durant la réalisation de ce travail.

Je te dédie ce mémoire en témoignage de mon amour.

Maryam,

Tu as été longtemps attendue mon petit ange, et te voilà arrivée cette année au moment de l'achèvement de ce travail.

Que ta venue soit le début d'une nouvelle vie pleine d'espoirs, d'amour et de réussites dans notre famille.



PDF
Complete

Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Ma mère

Des dédicaces ne suffisent pas pour exprimer toute la reconnaissance et l'amour que j'ai pour toi.

Ce travail représente l'aboutissement de ton soutien, tes encouragements et tes sacrifices prodigués tout au long de ma vie.

Sans toi ce travail n'aurait pu être mené jusqu'à son terme.

Mon père

Merci pour ton soutien moral, et pour tous les sentiments d'affection et d'amour qui représentent pour moi le pilier de tous mes efforts.

Merci pour tous les efforts fournis pour mon éducation et mon bien être.

***Mon frère Mohamed Zahr Eddine, Ma sœur Neyla Rania
Samira, Mes neveux Abdullah Ismail, Hamza, Isaac Khalil
Mes adorés***

***Peper, Mémé, et Yemma
Mes tantes et oncles
Cousines et cousins***

***Mes beaux parents
Dima et Wael***

Mes amies Shanez, Fayrouz, Sofia, Zahira, Fadela et Mahira

*A la mémoire de **mon grand père***

*A la mémoire de **mon amie Anissa***

Je vous remercie pour tout le soutien moral et affectueux que vous m'avez prouvé.

LISTE DES FIGURES

Partie bibliographique

Figure 1. Structure d'un pox virus.....	05
Figure 2. Cycle de réplication des Poxvirus.....	06
Figure 3. Répartition mondiale de la clavelée en 2003.....	11
Figure 4. Lésions de la Clavelée.....	17

Partie expérimentale

Figure 1. Localisation géographique des wilayas de l'étude expérimentale.....	38
Figure 2. Localisation géographique des communes retenues pour l'étude.....	39
Figure 3. Protocole d'hyper-immunisation et chronologie des prélèvements sanguins...	51
Figure 4. Repiquage des cellules RM	53
Figure 5. Phases opératoires de repiquage des cellules RM.....	54
Figure 6. Aspect des cultures cellulaires RM et VERO (Microscope photonique inversé grossissement 5x10).....	56
Figure 7. Dilutions en série de la suspension virale.....	57
Figure 8. Schéma de la microplaque du titrage de la suspension virale.....	58
Figure 9. Microplaque du titrage de la suspension virale sur RM.....	58
Figure 10. Microplaque du titrage de la suspension virale sur VERO.....	59
Figure 11. Filtration, dilution, et répartition sur microplaque des sérums post-vaccinaux..	61
Figure 12. Préparation et répartition de la suspension cellulaire, et incubation.....	62
Figure 13. Lecture des microplaques des titrages des sérums post vaccinaux, des sérums hyper immunisés, et de la suspension virale.....	62
Figure 14. Courbes d'évolution des indices de protection conférés par le Clavax® aux ovins de l'élevage ITELV Ain M'lila en fonction des supports cellulaires utilisés.....	71
Figure 15. Indices de protection conférés par le Clavax® aux ovins des élevages ITELV Ain M'lila et Zerkouk Moussa Alger.....	73
Figure 16. Evolution du nombre doses vaccinales de Clavax® produites et de têtes vaccinées entre 2003 et 2013.....	77
Figure 17. Evolution de la clavelée en Algérie depuis 2003. Comparaison entre le nombre d'animaux vaccinés et le nombre de foyers.....	78

LISTE DES TABLEAUX

Partie bibliographique

Tableau 1. Les différentes souches de virus claveleux isolées dans le monde.....	07
Tableau 2. Souches de virus claveleux isolées en Algérie.....	07
Tableau 3. Plus récents foyers de clavelée décrits en Europe selon les données de l'OIE.	10
Tableau 4. Foyers de clavelée dans des pays méditerranéens entre 2006 et 2008 selon l'OIE.....	11
Tableau 5. Synthèse de la situation sanitaire de la clavelée en Algérie depuis 2004.....	14
Tableau 6. Les différents vaccins anti-claveleux.....	29
Tableau 7. Vaccins anti-claveleux utilisés dans le monde	30
Tableau 8. Avantages et limites des vaccins, atténués, inactivés et à ADN.....	31
Tableau 9. Nombre de doses de vaccins anti claveleux produits de 1967 à 2013 par l'IPA.....	34
Tableau 10. Effectifs vaccinés contre la clavelée depuis 1984, en Algérie	36

Partie expérimentale

Tableau 1. Composants du vaccin Clavax®	41
Tableau 2. Instruments et consommables utilisés pour l'identification et la vaccination des moutons, et pour les prélèvements.....	42
Tableau 3. Calendrier et effectif des opérations d'identification et de vaccination.....	44
Tableau 4. Chronologie des prélèvements effectués.....	45
Tableau 5. Nombre de sujets vaccinés et prélevés pour cette étude.....	45
Tableau 6. Résultats des titrages de la suspension virale sur RM et VERO.....	66
Tableau 7. Titres des sérums post-vaccinaux des cinq individus évalués par séro-neutralisation sur cellules RM et VERO.....	68
Tableau 8. Résultats du titrage du sérum de référence international sur cellules VERO...	69
Tableau 9. Résultats du titrage de l'immun-sérum interne IPA sur RM et sur VERO.....	69
Tableaux 10. Titres vaccinaux obtenus et indices de protection moyens conférés par le Clavax® aux ovins de l'ITELV Ain M'lila.....	70
Tableau 11. Titres vaccinaux obtenus et indices de protection moyens conférés par le Clavax® aux ovins des élevages de l'ITELV Ain M'lila et Zerkouk Moussa.....	72

Liste des Abréviations

AEI	Acetyl ethylen imine
BHK	Baby hamster kidney
BPL	Beta propiolactone
DICT50	Dose infectieuse cytopathogene 50% : dose de virus détruisant 50% des cultures tissulaires
DMEM	Dulbeco's modified eagle medium
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DSV	Direction des services vétérinaires
ECP	Effet cyto-pathogène
EDTA	Ethylene diamine tetra acétique
EEV	External enveloped virus
HBSS	Hank's balanced salt solution
I.P.A	Institut Pasteur d'Algérie
IMV	Internal mature virus
INMV	Institut national de médecine vétérinaire
IP	Indice de protection
LB	Lymphocyte B
LCV	Laboratoire central vétérinaire
LK	Lamb kidney
LT	Lamb testis
LT	Lymphocyte T
MADR	Ministère de l'agriculture et du développement rural
O.I.E	Organisation internationale des épizooties
PBS	Phosphate buffered saline



Liste des abréviations

SRI	Serum de reference international
UV	Ultraviolets
VERO	Verda reno (rein vert)
VO	Varirole ovine
VP	Viral protein
WAHID	World animal health information database

TABLE DES MATIERES

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Partie bibliographique

<u>Chapitre I:</u> La Clavelée.....	03
--	-----------

I .1. Généralités sur la clavelée.....	03
--	----

I.1.1. Définition de la clavelée.....	03
---------------------------------------	----

I.1.2. Historique.....	03
------------------------	----

I.2. L'agent pathogène.....	04
-----------------------------	----

I.2.1. Taxonomie.....	04
-----------------------	----

I.2.2. Morphologie et structure.....	04
--------------------------------------	----

I.2.3. Réplication virale.....	05
--------------------------------	----

I.2.4. Les différentes souches du virus claveleux dans le monde.....	06
--	----

I.3. Pathogénie.....	08
----------------------	----

I.4. Epidémiologie de la clavelée.....	09
--	----

I.4.1. Répartition géographique.....	09
--------------------------------------	----

I.4.2. Epidémiologie analytique.....	12
--------------------------------------	----

I.4.3. Situation zoo sanitaire en Algérie.....	13
--	----

I.5. Impact économique de la clavelée.....	15
--	----

I.6. Symptômes et lésions	15
---------------------------------	----

I.7.1. Diagnostic épidémiologique.....	18
I.7.2. Diagnostic différentiel.....	18
I.7.3. Diagnostic expérimental.....	18
I.8. Prophylaxie.....	21
I.8.1. Prophylaxie sanitaire.....	21
I.8.2. Prophylaxie médicale.....	22
I.9. Législation sanitaire.....	22
<u>Chapitre II : La vaccination anti claveleuse.....</u>	25
II.1 Les différents vaccins anticlaveleux.....	25
II.1.1 Ovination.....	25
II.1.2. Sero-clavelisation.....	26
II.1.3. Vaccin à virus vivant sensibilisé.....	26
II.1.4. Vaccin à virus inactivé adsorbé sur gel.....	26
II.1.5. Vaccins à virus vivants atténués.....	27
II.1.5.1. vaccin vivant atténué sur une autre espèce animale que l'espèce hôte.....	27
II.1.5.2. vaccin vivant atténué sur culture cellulaire.....	27
II.1.6. Vaccin polypeptide.....	32
II.1.7. Vaccin combiné.....	32
II.2. Le vaccin anti claveleux produit par l'institut Pasteur d'Algérie.....	33
II.2.1. Historique.....	33
II.2.2. Présentation du vaccin Clavax®.....	35

I.	Problématique et Objectifs.....	37
II.	Matériel et méthodes.....	38
II.1.	Régions de l'étude	38
II.2.	Durée de l'étude.....	40
II.3.	Population étudiée.....	40
II.4.	Vaccin utilisé.....	40
II.4.1.	Composition du vaccin.....	41
II.4.2.	Forme de présentation du vaccin.....	41
II.4.3.	Mode d'emploi et posologie.....	41
II.4.4.	Durée de conservation.....	42
II.4.5.	Effets secondaires.....	42
II.5.	Identification, vaccination et prélèvements.....	42
II.5.1.	Matériel utilisé.....	42
II.5.2.	Identification des ovins.....	43
II.5.3.	Protocole vaccinal.....	43
II.5.4.	Protocole et conditions des prélèvements post-vaccinaux.....	44
II.5.5.	Recueil et conservation des échantillons sériques.....	44
II.6.	Techniques de laboratoire.....	46
II.6.1.	Matériel et instruments.....	46
II.6.1.1.	Matériel biologique.....	46
a)	Les animaux.....	46
b)	Les cellules	46
c)	La suspension virale.....	46
d)	Les sérums sanguins.....	47
II.6.1.2.	Milieus et réactifs.....	47
II.6.1.3.	Equipement de laboratoire.....	49
II.6.1.4.	consommables.....	49
II.6.2.	Protocoles opératoires.....	50
II.6.2.1.	Production d'un immun-sérum interne IPA.....	50
➤	Protocole de l'hyper immunisation du mouton de l'IPA.....	50
➤	Recueil de prélèvements et conservation des échantillons.....	50

des cellules.....	51
des cellules RM.....	51
➤ Mise en culture et entretien des cellules VERO.....	55
II.6.2.3. Titrage de la suspension virale.....	56
➤ Technique de titrage de la suspension virale.....	57
➤ Titrage de la suspension virale sur RM.....	58
➤ Titrage de la suspension virale sur VERO.....	59
II.6.2.4. Titrage des sérums sanguins par la technique de séroneutralisation sur culture cellulaire.....	59
a) La technique de séroneutralisation sur culture cellulaire.....	59
b) Titrage des sérums sanguins post-vaccinaux (RM, VERO).....	63
➤ Titrage des sérums sanguins post-vaccinaux sur cellules RM.....	63
➤ Titrage des sérums sanguins post-vaccinaux sur cellules VERO.....	63
c) Titrage de l'immun sérum interne (RM, VERO).....	64
d) Titrage du sérum de référence international (RM, VERO).....	64
II.6.3. Analyse statistique.....	65
III. Résultats.....	66
III.1.Etude comparative du titrage de la suspension virale sur support cellulaire RM vs VERO.....	66
III.2. Etude comparative du titrage du sérums post-vaccinaux par séroneutralisation sur support cellulaire RM vs VERO.....	67
III.3.Détermination du titre du sérum de référence internationale.....	69
III.4.Etude comparative du titrage de l'immun sérum interne IPA.....	69
III.5.Cinétique des titres sériques post-vaccinaux de l'élevage ITTEL Ain M'Lila sur supports cellulaires RM et VERO.....	70
III.6.Etude des titres conférés par le CLAVAX® aux de l'ITELV Ain M'Lila vs ZERKOUK Moussa.....	72
IV. Discussion.....	74
Conclusion & perspectives.....	80

Introduction



La clavelée ou variole ovine est une poxvirose spécifique du mouton, hautement contagieuse et très meurtrière (**Achour et al, 2000**). Elle est présente dans les élevages d'Afrique, d'Asie et du Moyen orient.

Au Maghreb, elle provoque sous forme d'épizooties ou d'enzooties des pertes économiques considérables en agneaux, en laine, en viande et en lait et ce plus particulièrement dans les régions à vocation pastorale (**Bhanuprakash et al, 2006 ; Diallo et Viljoen, 2007 ; Lamien et al, 2011**). En Algérie, cette maladie représente la dominante pathologique la plus importante de l'élevage ovin, estimé à plus de vingt-six millions de tête en 2013 (**DSV, 2013**).

Dans les pays affectés, la lutte contre la clavelée repose essentiellement sur la prophylaxie médicale. La vaccination constitue à ce jour la seule mesure efficace de lutte contre cette poxvirose, afin de préserver d'une part la santé du cheptel ovin local, et d'améliorer d'autre part, la productivité et la durabilité des races ovines autochtones.

En Algérie, la prophylaxie de la clavelée repose sur l'utilisation d'un vaccin vivant, atténué : le **Clavax®**. Chaque année, l'Institut Pasteur d'Algérie produit en moyenne 20 millions de doses vaccinales, afin de couvrir les besoins de la campagne nationale de prophylaxie instaurée par la Direction des Services Vétérinaires (MADR). Néanmoins, aucune donnée récente sur son efficacité sur le terrain n'est disponible.

L'évaluation des titres sérologiques vaccinaux conférés par le **Clavax®** est habituellement réalisée par la technique de séro-neutralisation sur des cultures de cellules de rein d'agneau fœtal. Malheureusement, l'indisponibilité fréquente de ces cellules primaires, la difficulté inhérente à leur isolement et mise en culture (contaminations latentes, vieillissement rapide des cultures, couts des milieux utilisés...), rend difficile un contrôle régulier et fiable des sérums vaccinaux.

La présente étude a eu par conséquent, comme objectifs :



ignée immortalisée (cellules VERO), des techniques de vaccinales par étude de l'Effet Cyto-pathogène et de celui des titres vaccinaux par séro-neutralisation.

- ✓ L'étude de la cinétique des anticorps neutralisants conférés par le Clavax® sur une durée totale d'une année.

Le présent manuscrit est ainsi articulé en deux parties :

- ✓ **Une première partie**, correspondant à une mise au point bibliographique sur la clavelée et les mesures prophylactiques à instaurer dans la lutte contre cette maladie avec un intérêt tout particulier à la vaccination anti claveleuse.
- ✓ **Une seconde partie**, consacrée à l'étude expérimentale, qui a porté sur la validation des cellules de lignée immortalisée VERO comme support alternatif aux cellules de rein de fœtus d'agneau, dans le titrage des suspensions virales et vaccinales.

Les méthodologies et protocoles mis en œuvre, y seront d'abord présentés, puis les principaux résultats obtenus seront décrits et discutés.

Etude bibliographique

Chapitre I : La clavelée



I.1. Généralités sur la clavelée

I.1.1. Définition de la clavelée

La clavelée ou variole ovine, est une maladie virale hautement contagieuse spécifique des ovins, se traduisant par des éruptions papuleuses, pouvant devenir pustuleuses, apparaissant sur la peau et intéressant secondairement les muqueuses, notamment les muqueuses respiratoires, digestives et génitales (**Fassi-Fehri et al, 1983**).

L'infection humaine par le virus de la clavelée n'a jamais été rapportée (**Bhanuprakash et al, 2006 ; OIE, 2008 ; Haller et al, 2013**).

La clavelée se traduit cliniquement par une hyperthermie, une éruption généralisée de papules ou de nodules, des vésicules (rares), des lésions internes (particulièrement au niveau pulmonaire), et peut se terminer par la mort (**OIE, 2008**). Elle est transmise par contact direct avec des animaux infectés.

Par sa fréquence, sa diffusion et sa gravité, elle constitue en Algérie l'une des principales maladies légalement contagieuses du cheptel ovine, à déclaration obligatoire selon l'article 2 du décret exécutif n°96-66 du 22 février 1995 modifié et complété (**JORA, N°16 du 15 mars 2006**).

La clavelée est connue sous diverses dénominations :

Arabe : *Jedri el ghanam* ; Latin : *variola ovina* ; Anglais : *sheep pox* ; Italien : *vaicula ovino* ; Allemand : *Schafpochen* (**Fassi-Fehri, 1988**).

I.1. 2. Historique

La clavelée est décrite et connue depuis l'antiquité. Plusieurs épizooties ont été rapportées en Europe entre le 13^e et le 19^e siècle. La première description détaillée de la maladie a été faite par Joubert en 1578. En 1763, Bourgelat en reconnaît le caractère infectieux ensuite Borrel (1902) en démontre la nature virale et décrit les inclusions cytoplasmiques oxyphiles désignées sous le nom de *corpuscules de Borrel* (**Fassi-Fehri, 1988**).



À plusieurs reprises, le virus *in vitro* sur des fragments de testicules à partir des années cinquante que d'autres travaux ont suivi, tant sur des cultures des cellules de tissus cutané, pulmonaire, testiculaire ou rénal, provenant de fœtus ou de jeunes animaux de l'espèce ovine, caprine ou bovine, que sur celles de cellules provenant de la membrane chorio-allantoïdienne de l'embryon (**Salah et Yassa, 1999**).

I.2. L'agent pathogène de la clavelée

I.2.1. Taxonomie

Le virus de la clavelée appartient à la famille des *Poxviridae*, sous famille des *Chordopoxvirinae*, genre *Capripoxvirus*. Ce genre comprend en outre, le virus de la maladie nodulaire cutanée (Lymphy skin disease) et le virus de la variole caprine (**Knipe et al, 2001**). L'espèce virale responsable de la clavelée est le *sheeppox virus* (virus de la clavelée) (**Pasquier et al, 2005**).

Le terme pox, est le pluriel du mot anglais pock désignant la lésion vésiculaire rencontrée dans la variole (**Crainic et Nicolas, 1993**).

I.2.2. Morphologie et structure

Le virus de la clavelée est un virus de forme ovoïde, enveloppé, mesurant 270 x 300 x 200 nm et formé d' :

- Une double enveloppe externe de nature lipoprotéique;
- Une double membrane dans laquelle sont incrustés deux corps latéraux lenticulaires ;
- Un élément biconcave, le *core*, en forme de cloche, entourant l'ADN ;
- Une molécule d'ADN bicaténaire linéaire (Figure 1).

L'organisation générale du génome viral est identique pour tous les *Poxviridae*. Les gènes essentiels à la réplication se trouvent en région centrale alors que les deux régions terminales répétées inversées ou RIT ainsi que les régions proches codent pour les facteurs de pathogénicité (**Bhanuprakash et al, 2006 ; Diallo et Viljoen, 2007**).



est de 150 kb (**Haller et al, 2013**). Sa réplication est **Lansing et al, 2003**).

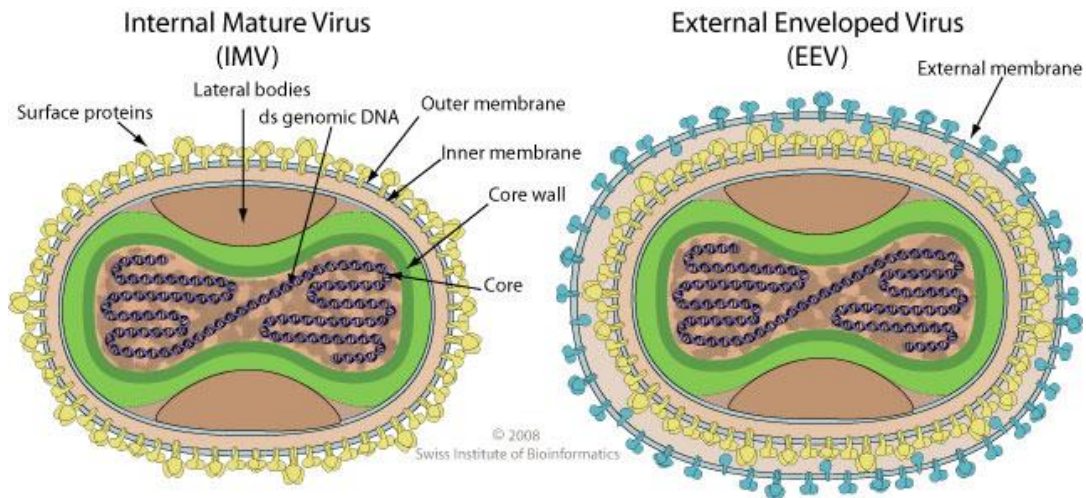


Figure 1. Structure d'un pox virus (www.poxvirus.org)

I.2.3. Réplication virale

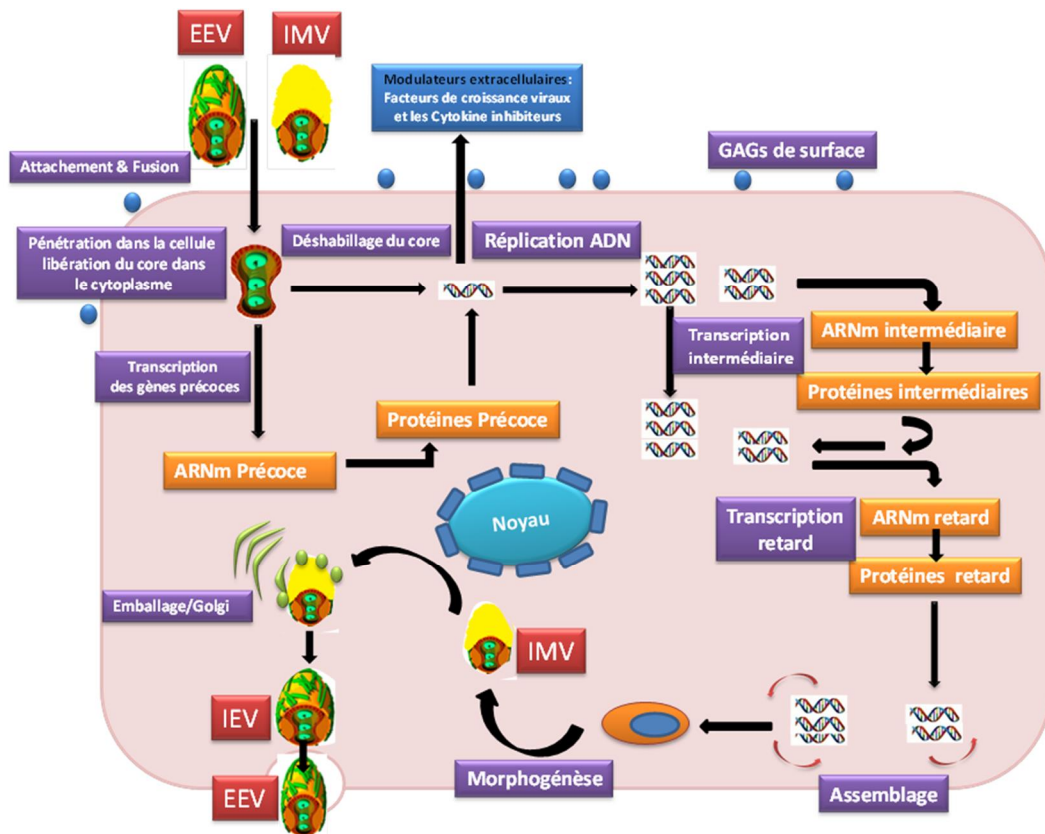
La réplication des poxvirus est habituellement constituée de 6 étapes distinctes :

- Entrée du virus dans la cellule** : il y a fusion membranaire entre l'IMV (internal mature virus) et la cellule ou endocytose des formes EEV (external enveloped virus) (**Bhanuprakash et al, 2006 ; Moss, 2006**) ;
- Expression de gènes précoces**: synthèse d'ARNm précoces codant pour des protéines modulant la réponse immunitaire ainsi que des éléments nécessaires à la réplication et la transcription de l'ADN viral ;
- Réplication de l'ADN viral**, à l'aide d'une ADN polymérase d'origine virale ;
- Expression des gènes tardifs**, codant principalement pour des protéines de structure ;
- Assemblage et maturation des virions** ce qui aboutit à la formation des IMV ;



més.

NB : La figure 2 ci-dessous, résume l'ensemble des étapes sus décrites.



1 : attachement à la cellule /2 : pénétration dans la cellule et libération du core dans le cytoplasme /3 : transcription des gènes précoces /4 : déshabillage du core /5 : réplication de l'ADN et formation de concatémères /6 : transcription des gènes intermédiaires /7 : transcription des gènes tardifs /8 : début de l'assemblage avec les premiers fragments de membrane /9 : résolution des concatémères et incorporation de l'ADN /10 : maturation et formation des IMV /11 : acquisition d'une double enveloppe (IEV) (intracellular enveloped virus) /12 : migration vers la surface cellulaire à l'aide du cytosquelette /13 : Fusion avec la membrane cellulaire et libération des EEV (extracellular enveloped virus)

Figure 2. Cycle de réplication des Poxvirus (www.nature.com)

I.2.4. Différentes souches du virus claveléux dans le monde

De nombreuses souches du virus claveléux ont été recensées par la littérature. Ces souches ont été nommées d'après le lieu de leur isolement. Certaines d'entre elles ont été



à leur atténuation sur différentes cultures cellulaires,

Tableau 1. Les différentes souches de virus claveleux isolées dans le monde

Nom de la souche	Lieu/Pays d'isolement
<i>Roumanian, Roumanian-Fanar(RF)</i>	Roumanie
<i>Cairo</i>	Egypte
<i>Persian</i>	Iran
<i>Mongolian</i>	Mongolie
<i>Russian</i>	Russie
<i>Turkey</i>	Turquie
<i>Chinese</i>	Chine
<i>Ranipet, Jaipur, Hyderabad, Mysore, Karnal, Mathura, Indo-China</i>	Inde
<i>K Strain</i>	Kenya
<i>Perego M</i>	Algérie
<i>RM/65</i>	Yougoslavie
<i>Kazakhstan, Starvopol, Nairobi, Kenyan</i>	
<i>SP8, Pakistan, , A1 strain, Oendic, Kedong, Soba, , Bucarest, Bakirkoy</i>	
<i>Pendic, SPV/RH, Mauritanian, Chitinsk, Algerian</i>	

(Bhanuprakash et al, 2006)

Tableau 2. Souches de virus claveleux isolées en Algérie

Nom de la souche	Origine	Espèce d'origine	Source
SPPV Algérie/93 Djelfa	Algérie	ovin	INMV-LCV/Algérie
SPPV Algérie/05 Illizi	Algérie	ovin	INMV-LCV/Algérie
SPPV Médéa	Algérie	ovin	INMV-LCV/Algérie
SPPV El Bayadh 1	Algérie	ovin	INMV-LCV/Algérie
SPPV El Bayadh 2	Algérie	ovin	INMV-LCV/Algérie

(Lamien et al, 2011)



Par inhalation de matière virulente, le virus pénètre dans les cellules épithéliales de la muqueuse pulmonaire et des premières voies respiratoires, s'y multiplie en induisant une réaction inflammatoire locale discrète. Les particules libérées et les cellules lymphoïdes infectées sont disséminées par voie sanguine et lymphatique à travers tout l'organisme (**Lefevre, 2003**). Cette première virémie est suivie par une multiplication intense du virus dans les cellules du système réticulo-endothélial vasculaire des différents organes. Cette seconde virémie est accompagnée par des troubles généraux. Le virus accède à la peau et aux muqueuses et y engendre les lésions évoquées (**Fassi-Fehri, 1988**).

Lors d'une contamination par une autre voie, intradermique notamment, deux évolutions sont possibles :

- Soit apparition de la maladie, avec généralisation des lésions, qui aboutit à la guérison ou à la mort de l'animal.
- Soit apparition d'une immunité précoce qui expliquerait, dans ce cas, l'absence de généralisation : c'est le principe de la clavélisation.

Le titre viral augmente de façon logarithmique de 2^e jour au 5^e jour avec un pic (10^7 DICT50/g de tissu) au 7-8^e jour, est qui est maintenu jusqu'au 14^e jour. Ensuite une phase de déclin a lieu à partir du 23^e jour (**Bhanuprakash et al, 2006 ; Plowright et al, 2012**).

La baisse du titre viral a été attribuée à l'inactivation par la chaleur, la putréfaction bactérienne du virus emprisonné dans le tissu nécrotique, et à la diffusion des anticorps neutralisants à travers les tissus (**Bhanuprakash et al, 2006**).

Une réaction fébrile est évidente à partir du 4^e jour, et atteint son pic aux 7^e et 8^e jours post-infection (**Bhanuprakash et al, 2006**).

La virémie peut être détectée dès les 3 et 4^e jour post-infection, atteint son pic au 5^e jour, et disparaît au 9^e jour post-infection (**Bhanuprakash et al, 2006**).

Les animaux qui survivent à la maladie présentent une immunité solide et de longue durée. Les agneaux nés de mères immunisées bénéficient de l'immunité passive colostrale pendant 2 ou 3 semaines (**Fassi-Fehri, 1988**).



I.4.1. Répartition géographique

Dans un troupeau naïf de tout contact antérieur avec le virus, la clavelée évolue sous forme d'épizooties touchant tous les animaux mais se montre particulièrement meurtrière pour les agneaux. Après l'apparition des premiers cas, elle gagne l'ensemble du troupeau par des vagues successives espacées de trois semaines à un mois (les « lunées » des anciens bergers). Ces vagues s'expliquent par le fait que les animaux infectés ne sont contagieux que pendant la phase éruptive.

Dans la plupart des pays infectés, la variole ovine évolue sous forme enzootique avec des poussées épizootiques. Au Maghreb, elle présente un rythme saisonnier avec une recrudescence de la maladie à la fin de l'été et un pic en hiver (**Lefèvre, 2003**).

L'infection à capripox est enzootique en Afrique au nord de l'équateur, au Moyen-Orient, en Turquie, en Iran, en Afghanistan, au Pakistan, en Inde, au Népal, dans certaines régions de la République Populaire de Chine, et, depuis 1984, au Bangladesh (**OIE, 2008**).

La clavelée sévissait autrefois en Europe (dernier foyer recensé en France, en 1964). L'infection à capripox peut s'étendre et s'établir dans de nouveaux pays. En 1983, elle s'est étendue à l'Italie (1985), Chypre (1989), et à de nombreuses occasions par la suite à la Grèce (à partir de 1988), mais elle ne s'est établie dans aucun de ces pays (**OIE, 2008**).

Lors des dix dernières années d'autres incursions ont été fréquemment rapportées en Bulgarie et en Grèce suite à des réintroductions périodiques du virus en provenance de Turquie (**Mangana et al, 2008**). En 2005, un foyer d'infection à capripox au Vietnam laisse penser que l'aire de distribution de cette dernière est bien plus grande que ce qui était précédemment reconnu (**OIE, 2008**).



[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

avelée décrits en Europe selon les données de l'OIE

Pays	Année du dernier foyer	Pays	Année du dernier foyer
Albanie	1934	Irland	1850
Andorre	1952	Israël	2004
Arménie	1987	Italie	1983
Autriche	1954	Moldavie	1994
Azerbaïdjan	1996	Norvège	1882
Bosnie and Herzégovine	1955	Pologne	1950
Bulgarie	1996	Portugal	1970
Croatie	1955	Roumanie	1957
Chypre	1989	Russie	2003
République tchèque	1950	Slovaquie	1950
Danemark	1879	Espagne	1968
France	1964	Suède	1934
Géorgie	1997	Turkménistan	2000
Allemagne	1920	Grande Bretagne	1866
Grèce	2007	Ouzbékistan	1996
Hongrie	1957		

(Mangana et al, 2008)



Tableau 4. Foyers de clavelée dans des pays méditerranéens entre 2006 et 2008 selon l'OIE

Pays	Nombre de foyers
Algérie*	9
Israël	30
Tunisie	109
Turquie	399

(Mangana et al, 2008)

*selon les données de la DSV, un total de 78 foyers de clavelé ont été déclarés entre 2006 et 2008

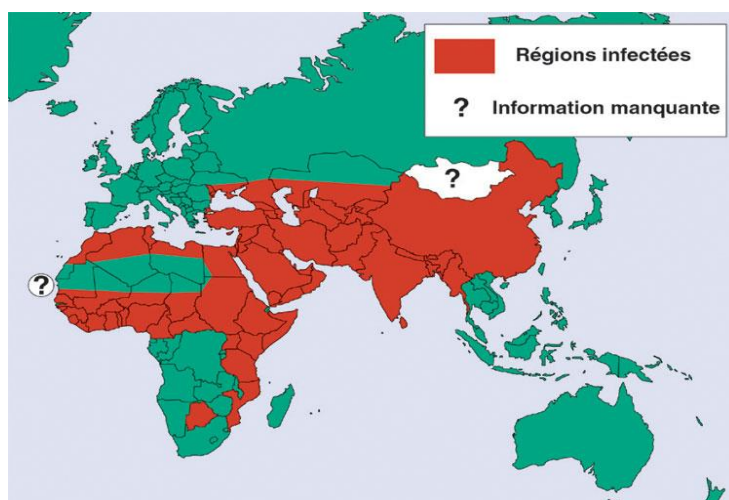


Figure3. Répartition mondiale de la clavelée en 2003 (Lefèvre, 2003)



La contamination se fait par contact direct et/ou par inhalation d'aérosols infectieux (jetage, salive, exsudats des vésicules, voire croûtes desséchées) (**Bhanuprakasho et al, 2006**). C'est à l'occasion de rassemblements que les animaux sensibles sont les plus exposés, dans les bergeries ou les pâturages, sur les marchés et aux points d'eau.

La contagion à distance et à long terme est possible par les croûtes desséchées (le virus peut survivre dans la laine ou sur la peau plusieurs semaines après la guérison) mais ce mode de contagion demeure relativement rare.

Les vecteurs mécaniques du virus peuvent être des insectes tels que les stomoxes (*Stomoxys calcitrans*), se nourrissant de lésions cutanées des animaux malades et transmettant le virus par piqures aux animaux sains ou du matériel souillé (instruments, véhicules de transport) (**Haller et al, 2013**).

Le virus de la variole ovine est particulièrement résistant à la chaleur et à la dessiccation, les croûtes peuvent rester infectieuses pendant plusieurs années dans le milieu extérieur (**Rheinbaben et al, 2007**). En revanche, il est inactivé en quelques minutes par le phénol à 2%, le formol à 1% et l'eau de javel à 1 degré chlorométrique (**Lefèvre, 2003**).

La réceptivité vis-à-vis du virus de la variole ovine varie en fonction de :

- **La race** : sensibilité très variable, les races à laine (type mérinos) sont plus sensibles que les races à poils; les races locales plus résistantes que les races importées (en Inde, le taux de mortalité est de 12 % chez les races locales, contre 44 % chez les moutons de race Suffolk) ;
- **Sexe** : les femelles sont plus sensibles que les mâles (**Lefèvre, 2003**) ;
- **L'âge** : la variole ovine est particulièrement grave chez les agneaux (**Pasquier et al, 2005**) ;
- **Conditions d'élevage** (sous-alimentation, fatigue, parasitisme, etc.) et les variations saisonnières (**Bhanuprakash et al, 2006**).



La clavelée sevit à l'état enzootique en Algérie depuis au moins un siècle. La clavelisation se pratiquait déjà en 1894. Les premiers travaux de l'IPA remontent à 1913 ainsi que la première production de vaccin par Bridré et Boquet (**Ribeiro et Sureau, 1967**).

Ce n'est qu'en 1974 que le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural algérien a pris en charge la vaccination anti-claveleuse suite à l'apparition de foyers au niveau de la steppe. La mise en place, à compter de 1984, de la direction des services vétérinaires au sein du ministère, a permis l'amélioration de la situation sanitaire (**Salah et Yassa, 1999**).

Cette maladie représente la dominante pathologique la plus importante de l'élevage ovin en Algérie (**Achour et Bouquedour, 1999**). En 2004, la courbe d'évolution de la clavelée a suivi une allure favorable. Une nette régression a été enregistrée en matière de déclaration de foyers par rapport à l'année 2003 ; soit 37 foyers contre 185 notifiés en 2003. Sur le plan géographique, la maladie a été déclarée dans les wilayas de Naama (6 foyers), Tebessa (5 foyers), Sétif (4 foyers), Tissemsilet (3 foyers), Chlef (3 foyers), Adrar, Ouargla et Annaba avec 2 foyers chacune (**DSV, 2004**).

En 2009, la situation sanitaire est restée relativement stable pour la clavelée, le nombre de foyers notifiés par les services vétérinaires au cours de cette année était de 57 foyers avec 497° cas, contre 61 foyers avec 581 cas recensés en 2008. Il est à souligner que 38% des foyers recensés ont été signalés à Biskra. Les wilayas les plus touchées pendant cette année ont été : Tebessa, Sétif, El Oued, Khenchela et Naama (**DSV, 2009**).

En 2012, la situation sanitaire de la clavelé en Algérie est restée assez stable, avec 43 foyers et 344 cas, contre 41 foyers et 306 cas notifiés en 2011 (**DSV, 2012**).



[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

on sanitaire de la clavelée en Algérie depuis 2004

Année	Nombre de têtes vaccinées	Couverture vaccinale	Nombre de foyers	Wilayas touchées
2004	10 967 900	62%	37	Naama, Tebessa, Sétif, Tissemsilt, Chlef, Adrar, Annaba, Ouargla
2005	12 966 675	69,18%	10	Blida, Chlef, Djelfa, Naama, Sidi Bel Abbas, Tamanrasset, Tebessa
2006	14 304 481	75,79%	4	-
2007	14 030 129	74,33%	13	El Bayadh, Laghouat, Msila, Medea, Oum El Bouaghi
2008	16 616 127	86,64%	61	Batna, Blida, Chlef, Djelfa, El Oued, Msila, Medea, Oum El Bouaghi, Setif, Tipaza
2009	15 825 229	80,68%	57	Biskra, Tébessa, Sétif, El Oued, Khenchela, Naama
2010	16 466 510	83,95%	37	Batna, Biskra, Constantine, Djelfa, Khenchela, Medea, Oum El Bouaghi, Setif
2011	17 438 557	88,90%	41	Batna, Biskra, Chlef, El Bayadh, El Oued, Khenchela, Naama
2012	17 963 868	78,55%	43	Batna, Blida, Boumerdes, El Oued, Msila, Oum El Bouaghi, Saida, Tebessa, Tipaza
2013	19 312 672	81,23%	31	Batna, El Bayadh, Khenchela, Msila, Medea, Naama, Oum El Bouaghi

(Bulletins sanitaires annuels, DSV Algérie 2004-2013)

(OIE-WAHID, www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php)



Clavelée

De par son incidence économique, la clavelée constitue encore dans de nombreux pays d'élevage ovin un problème préoccupant (**Fassi-Fehri, 1988**). L'infection par le virus claveleux engendre de sérieuses pertes économiques. Lors de flambées épizootiques, le taux de mortalité peut atteindre 80 % à 100% chez les agneaux (**Bhanuprakash et al, 2006 ; Haller et al, 2013**).

Dans les pays où la variole ovine est enzootique, son impact économique est lié aux pertes importantes de production imputables à la forte mortalité des agneaux, à la morbidité élevée chez les adultes et à la baisse des productions : atteinte de la laine et des peaux, perte de poids, baisse de la sécrétion lactée et augmentation du taux d'avortements (**Bhanuprakash et al, 2006 ; Diallo et Viljoen, 2007 ; Lamien et al, 2011**).

La clavelée exerce un impact négatif sur les échanges commerciaux d'ovins (**Diallo et Viljoen, 2007**). La présence de la clavelée dans un pays, limite ainsi considérablement l'introduction de nouvelles races et le développement d'une production ovine intensive (**Bhanuprakash et al, 2006**).

I.6. Symptômes et lésions

Les varioles ovines se caractérisent sur le plan clinique par de l'hyperthermie, de l'anorexie et par l'apparition de nodules sous-cutanés (**Sarr et al, 1987**).

La période d'incubation varie de 8 à 13 jours, après que l'animal sensible ait été en contact avec un animal infecté. Elle peut être réduite à 4 jours si l'infection est expérimentale : par inoculation intradermique ou par transmission mécanique par des insectes (**Diallo et Viljoen, 2007**). Certaines races européennes de moutons, peuvent mourir d'une infection aiguë avant même de développer des lésions cutanées (**OIE, 2008**). Chez d'autres races, la température rectale commence par augmenter et dépasse 40°C; puis, 2 à 5 jours plus tard, des tâches apparaissent en premier, correspondant à petites zones érythémateuses bien délimitées qui sont plus visibles sur la peau non-pigmentée, et qui évoluent en papules, des épaissements cutanés indurés de 0,5 à 1 cm de diamètre, qui peuvent recouvrir tout le corps ou se limiter au museau, à l'ars ou au périnée et parfois se disséminent sur tout l'abdomen (**Davies, 1976 ;**



peuvent être couvertes de vésicules remplies de liquide,

Vingt-quatre heures après l'apparition des papules généralisées, les animaux affectés présentent une rhinite, une conjonctivite, et une hypertrophie des nœuds lymphatiques, plus particulièrement des pré-scapulaires. Les papules sur les paupières entraînent une blépharite plus au moins sévère. Les papules sur les muqueuses oculaires et buccales s'ulcèrent, le jetage et le larmolement deviennent alors muco-purulents. La muqueuse de la bouche, de l'anus, et du prépuce ou du vagin se nécrosent. La respiration devient laborieuse et bruyante du fait de la pression exercée au niveau de la partie supérieure de l'appareil respiratoire par l'hypertrophie des nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens et du fait de l'apparition de lésions sur les poumons (**OIE, 2008**).

Une mortalité élevée peut se produire chez les agneaux, lorsque les muqueuses des voies digestives et respiratoires sont gravement touchées. De plus, ces lésions lorsqu'elles sont massives peuvent se compliquer par des infections bactériennes secondaires (**Sarr et al, 1987 ; Diallo et Viljoen, 2007**).

Si la mort de l'animal n'intervient pas durant cette phase aiguë de la maladie, les papules commencent à se nécroser du fait de l'ischémie qui fait suite à des embolies vasculaires à la base des papules. Au cours des 5 à 10 jours qui suivent, les papules forment des croûtes qui persistent jusqu'à 6 semaines, et laissent place à de petites cicatrices. Ces lésions cutanées peuvent être attaquées par les mouches et une pneumonie secondaire est courante.

L'anorexie est rare, sauf si des lésions buccales empêchent l'animal de se nourrir. L'avortement est également rare (**OIE, 2008**), bien que des cas d'avortements après infection par la clavelée aient été rapportés par Bhanuprakash et al (2006).

Les jeunes animaux sont les plus atteints, avec un taux de mortalité qui varie entre 50 et 70%. Les adultes, cependant, survivent, avec un taux de mortalité avoisinant 1% (**Diallo et Viljoen, 2007**).

La sévérité de l'affection dépend de la race, de l'âge, du statut immunitaire, de la souche virale, de la virulence, de la nature de l'infection secondaire et des organes impliqués. La pyohémie faisant suite aux complications bactériennes secondaires peut engendrer la mort. L'aggravation d'une brucellose latente, d'une vaginite, orchite, avortement ont aussi été rapportés après une infection clavelleuse (**Bhanuprakash et al, 2006**).



présence de nœuds lymphatiques hypertrophiés et ent nécrosées. Les papules, qui sont éventuellement ulcérées, peuvent être présentes au niveau de la muqueuse de la caillette et parfois sur la paroi du rumen et du gros intestin, sur la langue, le palais et le voile du palais, la trachée et l'œsophage. Des zones plus claires d'environ 2 cm de diamètre peuvent, dans certains cas, être observées sur les reins et le foie, voire les testicules. Les poumons sont entièrement recouverts de lésions sévères dont le diamètre peut atteindre 5 cm et qui affectent plus particulièrement les lobes diaphragmatiques (*Diallo et Viljoen, 2007 ; OIE, 2008*).

Papules étendues à la face et aux oreilles



Papules étendues à tout le corps de l'animal, ici à la base de la queue



Cicatrices indélébiles post guérison



Inflammation hémorragique des muqueuses respiratoires

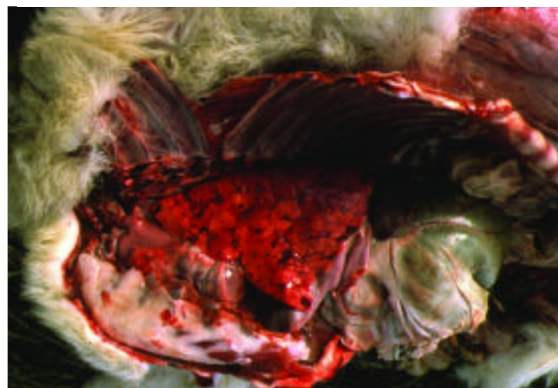


Figure 4. Lésions de la Clavelée (*Brugere-Picoux, 2004*)



I.7.1. Diagnostic épidémio-clinique

Le diagnostic clinique de la clavelée est aisé : L'hyperthermie, les éruptions cutanées papuleuses et pustuleuses, la formation de croutes et la forte contagiosité constituent des signes caractéristiques. Il en est de même des lésions de broncho-pneumonie avec la présence de nodules incrustés dans le parenchyme pulmonaire (*Fassi-Fehri, 1988*) (*Thiry, 2000*).

I.7.2. Diagnostic différentiel

Dans la forme sévère, l'observation des lésions suffit généralement à poser le diagnostic. Néanmoins, la confusion peut avoir lieu avec l'ecthyma contagieux qui se manifeste par des lésions vésiculeuses exsudatives, excoriées ou crouteuses, localisées au niveau des lèvres et de la gencive chez l'agneau et au niveau de la mamelle chez la mère (*Fassi-Fehri, 1988*). La confirmation peut se faire par examen histo-pathologique des lésions par la mise en évidence des inclusions cytoplasmiques de Borrel (*Lefevre, 2003*).

La clavelée est à différencier également de la gale, de l'eczéma, de la folliculite staphylococcique, la dermatophilose, la fièvre catarrhale ovine et de la peste des petits ruminants (*Lefevre, 2003*).

I.7.3. Diagnostic expérimental

Il s'agit d'un diagnostic de confirmation, qui est réalisé lorsque la maladie est suspectée dans une région indemne ou lorsqu'un diagnostic différentiel est nécessaire (*Fassi-Fehri, 1988*).

Différents tests peuvent être mis en œuvre dans diagnostic de la clavelée, nous citerons :

➤ *Agar gel precipitation test (AGPT):*

L'application de ce test dans la sérologie et le diagnostic de la clavelée a été rapportée en utilisant des sérums homologues ou sérums hétérologues. Malheureusement, l'AGPT ne fait pas de distinction entre les capripox et CPD et se montre peu sensible. Néanmoins sa sensibilité a été améliorée par l'utilisation d'un antigène soluble marqué (^{35}S) (*Bhanuprakash et al, 2006*).



(CIEP)

est le plus sensible et plus rapide que l'AGPT pour la détection d'antigène spécifique du virus claveleux dans les tissus infectés (peau, ganglions lymphatiques, poumons, foie) (**Bhanuprakash et al, 2006**).

➤ *Le test de neutralisation:*

La technique de séro-neutralisation est une technique hautement spécifique et sensible pour les virus provoquant un ECP (**Quinn et al, 2003**) (**Hart et al, 1997**). Il s'agit de la technique standard de référence recommandée par l'OIE pour la détection et la quantification des anticorps antiviraux (**Murphy et al, 1999**).

➤ *Fluorescent antibody technique (FAT)*

La FAT a été appliquée avec succès notamment dans la diagnostic rapide de l'antigène du virus claveleux, dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques de dépistage et d'évaluation du statut vaccinal.

Il s'agit d'un test simple et fiable de détection du virus claveleux dans le liquide infecté d'œdème, la peau, les cellules LK et LT...

Cependant, le développement de l'anticorps monoclonal (MAb) fondé sur FAT indirecte devrait fournir un diagnostic plus sensible et spécifique (**Bhanuprakash et al, 2006**) .

➤ *Latex agglutination test (LAT)*

Ce test d'agglutination économique, rapide, fiable, de réalisation aisée a été utilisé avec succès et a montré sa supériorité au CIEP dans le diagnostic de la clavelée (**Bhanuprakash et al, 2006**).

➤ *Single radial hemolysis test*

Le principe du test de l'hémolyse radiale simple (SRH) repose sur la lyse des érythrocytes par les complexes antigène- anticorps. Il s'agit d'un test très simple qui a été utilisé avec succès dans le cadre du diagnostic de la clavelée ovine (**Bhanuprakash et al, 2006**).



➤ *Single radial immunodiffusion (SRID)*

Le test d'immunodiffusion radiale unique a été utilisé avec succès pour la quantification de la réponse immunitaire contre le virus de la clavelée (**Bhanuprakash et al, 2006**).

➤ *Enzyme linked immunosorbent assay*

Un test ELISA indirect basé sur la détection de la protéine de fusion P32 du virus claveleux recombinant a été développé. Il est réputé rapide, fiable et permet une détection plus précoce des anticorps à virus capripox post- infection (versus test de séro-neutralisation virale). Contrairement à l'immunofluorescence et l'AGID, aucune réaction croisée n'a été rapportée avec les *orthopoxvirus* et *parapoxvirus*. Un antigène de piégeage ELISA a également été développé, réduisant la dépendance des laboratoires de diagnostic aux cultures tissulaire. (**Bhanuprakash et al, 2011**).

Enfin, un ELISA d'immunocapture relativement simple permettant la détection des antigènes claveleux été développé (**Bhanuprakash et al, 2006 ; Bhanuprakash et al, 2011**).

L'utilisation de l'ELISA reste néanmoins limitée en raison des exigences en réactifs spéciaux et en expertise technique. Le développement des Mabs (anticorps monoclonaux) contre SPV (sheep pox virus) et GPV (goat pox virus) va certainement ouvrir la voie à la différenciation des SPV et GPV fournissant ainsi un outil de diagnostic spécifique (**Bhanuprakash et al, 2006**).

➤ *Western Blot*

La réalisation d'un Western blot des sérums à tester contre les *capripox* virus infectant les cellules, fournit un outil sensible et spécifique pour la détection des protéines structurales des anticorps du *capripox* virus. Cependant, le test reste coûteux et difficile à réaliser (**Bhanuprakash et al, 2006**).



Une confirmation rapide de laboratoire de la clavelée basée sur les signes cliniques, la microscopie électronique et les tests sérologiques sus mentionnés n'est pas toujours fiable. Une PCR, simple, rapide et spécifique a été développée afin de détecter l'ADN des *capripox* virus dans les cultures cellulaires infectées, les échantillons de biopsie et aussi pour différencier la clavelée et LSD sur la base de l'unique site de restriction dans les fragments PCR correspondants.

L'efficacité de la technique PCR pour le diagnostic différentiel de SPV et GPV à partir d'échantillons du terrain est augmentée lorsqu'elle combinée à l'analyse par enzyme de restriction (REA) des amplicons du gène P32 (*Bhanuprakash et al, 2006*).

I.8. Prophylaxie

I.8.1. Prophylaxie sanitaire

En zone indemne, la prophylaxie sanitaire consiste à éviter l'introduction d'animaux et de produits animaux, la laine et les peaux notamment, provenant d'une zone suspecte ou infectée. Tout échange implique la mise en quarantaine des animaux avant leur introduction dans le troupeau et la désinfection de la laine et des peaux par des produits actifs. (*Bhanuprakash et al, 2006*).

Cependant, si une introduction accidentelle a lieu dans un pays indemne de clavelée, un programme d'éradication est mis en place (*Diallo et Viljoen, 2007*).

Quand une zone indemne est contaminée, il faut immédiatement identifier, isoler les troupeaux infectés et les animaux malades pendant au moins 45 jours après guérison clinique, ou mieux ; abattage des élevages infectés (dans la mesure du possible), avec une élimination correcte des cadavres et des produits et une désinfection rigoureuse des lieux.

Contrôle des déplacements des animaux et des véhicules au sein des zones infectées (*Bhanuprakash et al, 2006*).

Ces mesures restent souvent insuffisantes et difficiles à appliquer en zones d'enzooties, où la maladie est fortement implantée.



se dans les zones contenant des animaux infectés et la propagation de la clavelée. La dépopulation des troupeaux infectés et exposés devrait être employée si une propagation limitée de la maladie a lieu. Mais si la clavelée se propage d'une manière extensive, une vaccination massive suivie d'un arrêt de vaccination et d'un contrôle des mouvements d'animaux de la zone en question, représente une excellente stratégie de contrôle et d'éradication de la clavelée (**Bhanuprakash et al, 2006**).

I.8.2. Prophylaxie médicale

En effet, la prophylaxie médicale est la base de la lutte contre la clavelée en zone d'enzootie. Elle est basée essentiellement sur la vaccination (**Diallo et Viljoen, 2007**), et est complétée par les mesures de prophylaxie sanitaire citées précédemment.

Elle nécessite des vaccins d'innocuité, d'efficacité, de conservation et de commodité d'application satisfaisante. En outre, tout programme de prophylaxie visant l'éradication par ailleurs possible de la maladie, implique que soient disponibles des quantités suffisantes (stocks de sécurité) de vaccin (**Fassi-Fehri et al, 1983**).

Cette vaccination consiste essentiellement en l'emploi de vaccins à virus vivant atténué par passage en série sur culture cellulaire (exemple de la souche RM/65 obtenue en IRAN, par 30 passages sur cellules rénales de mouton). Il existe de nombreux vaccins à virus atténué à administrer par voie sous cutanée ou intradermique. L'immunité conférée peut atteindre 2 ans.

I.9. Législation sanitaire

La clavelée est inscrite sur la liste des M.R.C (maladie réputée contagieuse).

Les recommandations relatives aux échanges de marchandises et aux importations d'animaux, pour la clavelée sont édictées dans le code sanitaire pour les animaux terrestres (**OIE, 2013**) (voir annexe I)



prises en considération :

Pays indemne de clavelée

Un pays peut être considéré comme indemne de clavelée lorsqu'il peut être établi que cette maladie n'y existe plus depuis 3 ans au moins. Ce délai est ramené à 6 mois après l'abattage du dernier animal atteint de la maladie pour les pays qui pratiquent l'abattage sanitaire, associé ou non à la vaccination contre la clavelée (Article 14.10.2. du code sanitaire pour les animaux terrestres) (**O.I.E, 2013**).

Zone infectée par le virus de la clavelée

Une zone sera considérée comme infectée par le virus de la clavelée jusqu'à ce qu'il se soit écoulé :

- 21 jours au moins après la confirmation du dernier cas et l'achèvement des opérations d'abattage sanitaire et de désinfection, ou
- 6 mois après la guérison clinique ou la mort du dernier animal atteint de la maladie si

L'abattage sanitaire n'y a pas été pratiqué (Article 14.10.3. du code sanitaire pour les animaux terrestres) (**O.I.E, 2013**).

Chapitre II : La vaccination anti claveleuse



découverte de la vaccination par Jenner en 1796, qui a variolo en lui inoculant par scarification le virus de la vaccine (variole des bovins ou cowpox) (*Tortora et al, 2003*).

Le même principe a été appliqué pour la clavelisation des moutons, qui a consisté en l'inoculation à des moutons sains de la lymphé claveleuse prélevée sur des animaux malades. Appliquée de façon empirique, la clavelisation présente de nombreux inconvénients, tels que la généralisation de la maladie et la dissémination du virus. Elle fut abandonnée par la suite (*Kitching, 1983*).

Pour pallier à ces inconvénients, plusieurs types de vaccins anti-claveleux ont été mis au point.

II.1. Les différents vaccins anti-claveleux

II.1.1. Ovination

Elle consiste en l'inoculation de matériel de croûte infectée ; tel quel ; ou en suspension dans de la glycérine saline. Cette méthode a été pratiquée pendant des décennies dans plusieurs pays comme l'Inde, par du personnel non qualifié et des éleveurs non avertis.

C'est une méthode dangereuse car l'inoculum peut contenir du matériel bactérien et/ou viral virulent (*Bhanuprakash et al, 2006*). L'ovination cause également de sévères réactions locales en plus de la formation de nodule au site d'inoculation, des lésions généralisées, et de la pyrexie.

La virulence, la pathogénicité et le nombre de particules virales ne sont pas connus. De plus, cette méthode peut induire une augmentation de la pathogénicité du virus par stimulation par passage du virus entre les mêmes hôtes. Il est nécessaire de sensibiliser les éleveurs quant aux inconvénients de l'ovination, et imposer des restrictions strictes à l'application de cette méthode dans leur élevage (*Bhanuprakash et al, 2001*).

L'inoculation intradermique de croûtes infectées confère en moyenne une immunité de 14 mois. Ce procédé de vaccination fut utilisé en Egypte et les pays avoisinants pendant



et son usage devrait donc être interdit (**Bhanuprakash**

II.1.2. Sero-clavelisation

C'est l'administration de sérum d'un mouton convalescent et/ou un anti-sérum anti-SPV au niveau de différents sites. Les effets protecteurs et curatifs ainsi que l'installation d'une réponse immunitaire satisfaisante ont également été explorés par Borrel en 1903. Cependant, une protection moyenne ainsi que des échecs d'immunisation avec l'immun sérum ont été rapportés dans des études plus récentes (**Bhanuprakash et al, 2006**).

II.1.3. Vaccin à virus vivant sensibilisé

Ce procédé s'apparente à une immunisation active, et représente une amélioration de la technique de l'ovination. La préparation du virus sensibilisé implique l'incubation d'un mélange d'un anti-SPV + SPV à 15-18°C pendant 3 jours. L'immunité conférée s'installe au bout du 10^e jour, et a été maintenue jusqu'à 6 mois. Ce procédé a été utilisé dans plusieurs pays dont la Bulgarie, Yougoslavie, Hongrie, Pakistan, France, Cote d'Ivoire, et notamment l'Algérie. Cependant, des complications ont été rapportées, tels que la généralisation et la propagation de l'infection (**Bhanuprakash et al, 2006**).

Le vaccin sensibilisé lyophilisé qui a été mis au point à l'Institut Pasteur d'Algérie en 1913, par Bridré et Boquet et perfectionné à l'Institut Pasteur du Maroc par Blanc et Martin en 1937 (**Ribeiro et Sureau, 1967**), n'est rien d'autre que de la lymphe clavelouse récoltée à partir de pustule de *Borrel*, puis mise en contact prolongée avec un sérum hyperimmun de mouton. Ce vaccin a été utilisé en Algérie de 1967 à 1999 (**Salah et Yassa, 1999**).

II.1.4. Vaccins à virus inactivés adsorbés sur gel

Les vaccins à virus inactivé sont constitués de virus dont l'infectivité a été neutralisée par des agents physico-chimiques. Différents agents (formaldéhyde, phénol, éthanol, butanol, éthyle-éther, aniline, cristal violet, acide borique, chaleur, merthiolate de sodium, β -propiolactone (BPL), rayons ultraviolets, hydroxylamine et le *N-acetyl-ethyleneimine* (AEI)) ont été utilisés dans l'inactivation des différentes souches de clavelée, avec un taux de réussite variable (**Bhanuprakash et al, 2006**).



ponse immunitaire ; d'où la nécessité d'ajouter des adjuvants d'aluminium ou l'alginate de sodium, qui permettent de renforcer leur pouvoir immunogène. Parmi les adjuvants, l' $\text{Al}(\text{OH})_3$ a été le plus employé. D'autres adjuvants comme la saponine, le merthiolate de sodium ont été utilisés mais avec un taux de réussite variable (**Bhanuprakash et al, 2006**).

L'immunité conférée par ces vaccins inactivés est de courte durée. Des nécroses occasionnelles, la formation d'abcès, et de la mortalité ont été rapportés lors de leur utilisation (**Bhanuprakash et al, 2006**).

En conclusion, les vaccins à capripox inactivés, confèrent au mieux une protection temporaire, et leur usage devrait être déconseillé (**O.I.E, 2000**).

II.1.5. Vaccins à virus vivant atténué

II.1.5.1. Vaccin vivant atténué sur une autre espèce animale que l'espèce hôte

Des travaux portant sur la préparation de vaccins sur des espèces animales autre que le mouton (lapin, caprins, volaille) ont été entrepris mais sans succès, sauf pour les vaccins avianisés. En effet, plusieurs auteurs ont réussi à atténuer le virus claveleux par passages successifs sur membrane chorio-allantoïdienne d'œuf embryonné; Yuan (1957) a ainsi obtenu, après 90 passages, une souche vaccinale capable de protéger les moutons pendant plusieurs mois (**Lefevre, 1983**).

II.1.5.2. Vaccin vivant atténué sur cultures cellulaires

A l'heure actuelle, les vaccins à virus vivants atténués préparés sur cultures cellulaires sont les plus employés dans le contrôle de la clavelée.

De nombreuses souches virales ont été atténuées soit sur des lignées continues ou bien sur des cellules de première explantation. Parmi les cultures cellulaires utilisées, les cellules testiculaires, rénales et thyroïdiennes d'agneau, les cellules rénales et musculaires fœtales de veau, les cellules fœtales rénales de mouton, les cellules cutanées et pulmonaires.

Les cellules de lignées continues (BHK₂₁, VERO), sont le plus communément utilisées pour l'atténuation (**Bhanuprakash et al, 2006**).

Au fil des années, plusieurs vaccins à *Capripoxvirus* ont ainsi été développés, par atténuation virale sur cultures cellulaires. Les souches atténuées les plus utilisées furent la *Romanian*, la



nyya O240 (KS-1) pour la lympho skin disease (LSD), la
rent une grande protection pour l'ensemble des ovins
et des caprins (**Boshra et al, 2013**).

Cependant la souche RM65, atténuée par **Ramyar et Hessami (1968)** reste la plus utilisée dans la préparation des vaccins. Cette souche, issue d'un foyer naturel de clavelée apparue en Yougoslavie, a été adaptée aux cultures cellulaires puis atténuée par passages successifs sur cellules rénales de mouton à l'Institut Razi d'Iran.

Le vaccin est administré en injection intradermique ou en injection sous-cutanée. Son inoculation entraîne la formation d'un petit nodule au site d'injection qui disparaît au bout d'une semaine et une légère élévation de la température. L'immunité s'installe en 15 jours environ, et dure au moins 20 mois (**Ramyar et Hessami, 1971 ; Soman et Singh, 1980**). Cette protection régresse au cours de la seconde année après la primo-vaccination et nécessite une injection administrée annuellement (**Precausta et al, 1979**). Par ailleurs, le vaccin est d'une parfaite innocuité et n'entraîne pas l'avortement des brebis pleines (**Ramyar et al, 1976 ; Precausta et al, 1979**). Il est donc sans danger pour les brebis gestantes et leurs fœtus (**Bhanuprakash et al, 2006**).

Une fois lyophilisé, le vaccin se conserve bien 20 jours à 37°C, plus de 2 mois à 21-25°C et plus d'un an à 4°C (**Ramyar et Hessami, 1968**).

Différentes souches virales ont été utilisées dans ce type de vaccin, telles que : *Perego, Bakirkoy, Algerian, SGPV, Kenyan, Karnal, Pendik, RM/65, SPV/RH, Mathura SP8, Jaipur, Ranipet, Hyderabad, Mauritanian, Roumanian-Fanar, Kazakhstan, Chitinsk and Mongolian (USSR)* et *NISKI* (**Bhanuprakash et al, 2006**).

Leur atténuation par passages sur cultures cellulaires diffère selon la souche, sa virulence, sa pathogénicité, et le support cellulaire utilisé.

Des vaccins vivants atténués ont été développés par différents laboratoires (Tableau 6).



Tableau 6. Les différents vaccins anti-claveleux

Antigène	Traitement/Atténuation	Durée de l'immunité
SPV souche sauvage	Peau exposée à l'animal infectant	—
SPV souche sauvage	Avianisation	—
SPV souche sauvage	Hydroxyde d'aluminium	4-18 mois
SPV souche sauvage + anti serum	Administration groupée	Satisfaisante
SPV Russian	Formaline additionnée d'hydroxyde aluminium	8 mois
SPV naturellement atténuée	lyophilisation	14 mois
SPV Yougoslave RM65	30 passages sur cellules rénales d'agneau	+ 22 mois
SPV Rumanian Fanar	26 passages sur cellules testiculaire d'agneau	+ 12 mois
SPV Ranipet	35 passages sur cellules ovines thyroïdiennes	23 mois
SPV Rumanian	30 passages sur cellules rénales d'agneau	12 mois
SPV Turkish	32 passages sur cellules rénales de veau	12 mois
SGPV Kenyan	35 passages sur cellules testiculaires d'agneau ou BHK + merthiolate-formaline 0,03%	—
SGPV Kenyan O240	18 passages sur cellules musculaires de veau fœtal	—

(Carn, 1993)



anti-claveleux utilisés dans le monde

Laboratoire -Nom commercial du vaccin	Type de vaccin	Souche	Adjuvant	Pays
IPA (Clavax®)	vivant	RM65	aucun	Algérie
Jordan Center Bio industries (JOVIAC®)	vivant	RM65	non disponible	Afghanistan, Albanie, Bahreïn, Ethiopie, Irak, Jordanie, Koweït, Liban, Lybie, Malaisie, Oman, Pakistan, Syrie, E.A.U, Yémen
Indian Immunologicals Limited (Rashka-SP®)	vivant	Roumanian	aucun	Inde
Dollvet (Poxdoll®)	vivant	SPV (BK65) LK65	aucun	Turquie
Laboratoires de Recherche	vivant	O Kenya 240	aucun	Soudan
Agrovet (Clavelée®)	vivant	NISHI	aucun	Russie

(CFSPH, www.cfsp.hiastate.edu)



tes des vaccins, atténués, inactivés et à ADN

Propriété / Caractéristiques	Vaccin vivant atténué	Vaccin inactivé	Vaccin à ADN
Voie d'administration	Injection, inhalation, orale	Injection	Injection
Charge virale par dose vaccinale	Faible	Elevée	Nulle
Nombre de doses	Unique généralement	Multiple	Unique généralement
Addition d'adjuvant	Non	Oui	Non
Durée de l'immunité	Plusieurs années	Généralement une année ou moins	Plusieurs années
Réponse anticorps	IgG, IgA (si par voie muqueuse)	IgG	IgG
Réponse à médiation cellulaire	Bonne	Généralement modeste	Bonne
Thermolabilité	Oui pour la plupart des virus	Non	Non
Interférence par une immunisation antérieure	Oui	Généralement non	Apparemment non
Effets secondaires	Occasionnels, locaux, ou systémiques	Occasionnels, locaux,	Incertains
Utilisation chez les femelles gestantes	Déconseillée, mais souvent utilisé	oui	oui
Réversion de la virulence	Rare	non	non
Coût	Faible	Elevé	Elevé

(Murphy et al, 1999)



veleux, est une protéine immunogène. Elle induit une importante réponse immunitaire à médiation humorale et cellulaire chez le lapin.

L'immunisation des moutons avec la VP3 émulsifiée avec l'adjuvant incomplet a donné un sérum titrant à 1 :256 et conférant une protection de 67% des moutons contre l'épreuve de challenge après 21 jours. Néanmoins son usage n'a pas encore été validé dans un cadre prophylactique (*Bhanuprakash et al, 2006*).

II.1.7. Vaccin combiné

Un vaccin combiné (clavelée, l'anthrax, et les infections à clostridies) a été utilisé avec succès sur des ovins âgés entre 4-6 mois, aucune diminution de l'immunité contre un agent donné n'a été enregistrée. Au Cameroun, un vaccin combiné comprenant la souche atténuée 75/1 dirigée contre la peste des petits ruminants, et la souche RM65 contre capripox, a été utilisée, mais un échec de vaccination de caprins contre capripox virus a été rapporté malgré l'induction d'anticorps neutralisants (*Bhanuprakash et al, 2006*).

Une nouvelle génération de vaccins à virus capripox est en cours d'élaboration, dans laquelle le génome du *capripoxvirus* servirait de vecteur à d'autres agents pathogènes des ruminants, par exemple les gènes du virus de la peste bovine ou ceux de la peste des petits ruminants (PPR). Une vaccination avec le vaccin recombinant conférerait ainsi à l'animal une protection à la fois contre l'infection à capripox, la peste bovine et la PPR (*O.I.E, 2008 ; Boshra et al, 2013*).



Produit par l'institut Pasteur d'Algérie

II.2.1. Historique

Le vaccin anti-claveleux est produit *in vivo* sur mouton, sous forme liquide à l'Institut Pasteur d'Algérie depuis 1913. Il a été mis au point par *Alfred Boquet*, médecin vétérinaire et biologiste français, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur d'Alger. Il s'est inspiré des travaux de *Besrekda* et *Borrel* et a collaboré avec *Bridré* à la mise au point d'un vaccin anti-claveleux, aussi efficace que la clavelisation, mais contrairement à cette dernière totalement inoffensif (*Institut Pasteur France, 2013*).

De 1913 à 1914, 28 millions de doses furent produites, dont une partie fut exportée. Le nouveau vaccin fut rapidement utilisé pour la vaccination de plusieurs millions d'ovins, en Afrique du nord, en France, en Italie et en Espagne (*Institut Pasteur France, 2013*).

Après un arrêt de plusieurs années, la production a repris en 1965, toujours sous forme liquide, en utilisant une souche vaccinale atténuée, importée de l'Institut Pasteur du Maroc. Cette année-là, 35 650 doses ont été produites, et 306 750 doses lyophilisées ont été importées du Maroc afin de couvrir les besoins nationaux. En 1967, le premier lot de vaccin lyophilisé produit *in vivo* a été fabriqué en Algérie.

Le laboratoire de Production du Vaccin anti-claveleux d'abord localisé à l'annexe d'El Hamma, fut transféré en 1990, au sein du Service de Microbiologie Vétérinaire (Kouba). La production du vaccin *in vivo* lyophilisé y a continué de 1990 à 2000.

La mise au point du vaccin sur culture cellulaire a débuté en 2000 et le premier lot du vaccin anti claveleux sur culture cellulaire primaire, lyophilisé a été produit la même année.

En Mai 2011, le Laboratoire de Production du Vaccin anti-claveleux a été à nouveau transféré à l'annexe de Kouba 1.



ins anti claveleux produits de 1967 à 2013 par l'IPA

Vaccin <i>in vivo</i> lyophilisé		Vaccin sur culture cellulaire primaire lyophilisé	
Années	Nombre de doses	Années	Nombre de doses
1967	1.628.700	2000	4.306.700
1969	1.590.500	2001	13.113.600
1971	1.069.800	2002	4.133.400
1972	1.485.000	2003	9.938.000
1973	1.576.700	2004	12.178.000
1974	1.332.050	2005	11.617.500
1975	1.517.000	2006	16.252.900
1976	1.365.350	2007	14.827.500
1977	1.651.700	2008	17.549.600
1981	5.550.480	2009	18.922.500
1982	8.312.200	2010	16.404.000
1983	5.036.200	2011	16.201.000
1984	6.700.000	2012	17.413.900
1989	1.900.000	2013	23.912.600
1992	4.912.700		
1993	9.599.600		
1997	5.964.500		
1998	5.035.800		
1999	6.331.000		

(Source IPA)



Depuis l'année 2000, le Clavax® est le vaccin utilisé lors des campagnes de vaccination anti claveleuse en Algérie.

C'est un vaccin vivant à virus atténué, produit sur culture cellulaire par le Laboratoire de Production et de Développement de Vaccins Viraux Vétérinaires de l'Institut Pasteur d'Algérie.

La souche vaccinale est la souche RM65, issue d'un foyer naturel de clavelée apparue en Yougoslavie, adaptée aux cultures cellulaires puis atténuée par passages successifs sur cellules rénales de mouton à l'Institut Razi d'Iran par Ramyar et Hessami (1968).

Cette souche vaccinale utilisée pour la production du vaccin anti-claveleux est nommée ISRA ; souche RM65. Elle a été fournie à l'Institut Pasteur d'Algérie en 1995 par l'unité de production des vaccins viraux vétérinaires de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA) de Dakar.



es contre la clavelée depuis 1984, en Algérie

	Effectifs vaccinés
1984	4 156 752
1985	4 553 008
1986	7 356 307
1987	6 603 685
1988	6 870 343
1989	4 341 946
1990	1 520 676
1991	2 337 716
1992	2 406 724
1993	3 790 869
1994	6 721 770
1995	4 756 844
1996	4 756 844
1997	4 410 311
1998	4 498 315
1999	6 104 490
2000	7 608 423
2001	7 400 186
2002	6 939 967
2003	8 491 130
2004	10 967 900
2005	12 966 675
2006	14 304 481
2007	14 030 129
2008	16 616 127
2009	15 825 229
2010	16 466 510
2011	17 438 557
2012	17 963 868
2013	19 312 672

NB : La notice du **Clavax®** est insérée en annexe II.

Etude expérimentale



I. Problématique et Objectifs de l'étude

En Algérie, la prophylaxie de la clavelée repose sur l'utilisation d'un vaccin vivant, atténué : le **Clavax®** produit par l'Institut Pasteur d'Algérie. Néanmoins, aucune donnée récente sur son efficacité sur le terrain n'est disponible.

L'évaluation des titres sérologiques vaccinaux conférés par le **Clavax®** est habituellement réalisée par la technique de séro-neutralisation sur des cultures de cellules de rein d'agneau fœtal. Malheureusement, l'indisponibilité fréquente de ces cellules primaires, la difficulté inhérente à leur isolement et mise en culture (contaminations latentes, vieillissement rapide des cultures, coûts des milieux utilisés...), rend difficile un contrôle régulier et fiable des sérums vaccinaux.

Le premier objectif de la présente étude, a été la mise au point de la technique de séro-neutralisation sur culture cellulaire primaire RM. Ensuite, la validation d'un nouveau support cellulaire, en l'occurrence les cellules de lignée continue VERO pour effectuer le titrage virale et celui des sérums post-vaccinaux.

Le second objectif, a été d'étudier l'évolution des titres des sérums post-vaccinaux conférés par le **Clavax®** sur une durée de 365 jours, sur les deux supports cellulaires.

Matériel et méthodes

II.1. Régions de l'étude

L'étude a été réalisée au niveau de la wilaya d'Alger et celle d'Oum El Bouaghi (Figure 1)

- **La wilaya d'Alger** est située à une altitude de 224 m par rapport au niveau de la mer. (Latitude 36.753, Longitude 3.042). Localisée dans le centre, La wilaya d'Alger est limitée par la mer Méditerranée au Nord, la Wilaya de Blida au Sud, la Wilaya de Tipaza à l'Ouest et la Wilaya de Boumerdes à l'Est.
- **La wilaya d'Oum El Bouaghi** est implantée aux confins méridionaux de l'Atlas tellien, occupant ainsi une position médiane dans la partie des Hauts Plateaux à l'Est du pays (Latitude 35.877, Longitude 7.114).

Elle se situe à une altitude variant de 700 à 1000 mètres, limitée par sept wilayas : Constantine et Mila au Nord, Guelma et Souk Ahras au Nord-est, Khenchela au Sud, Batna au Sud-ouest et Tébessa au Sud-est.

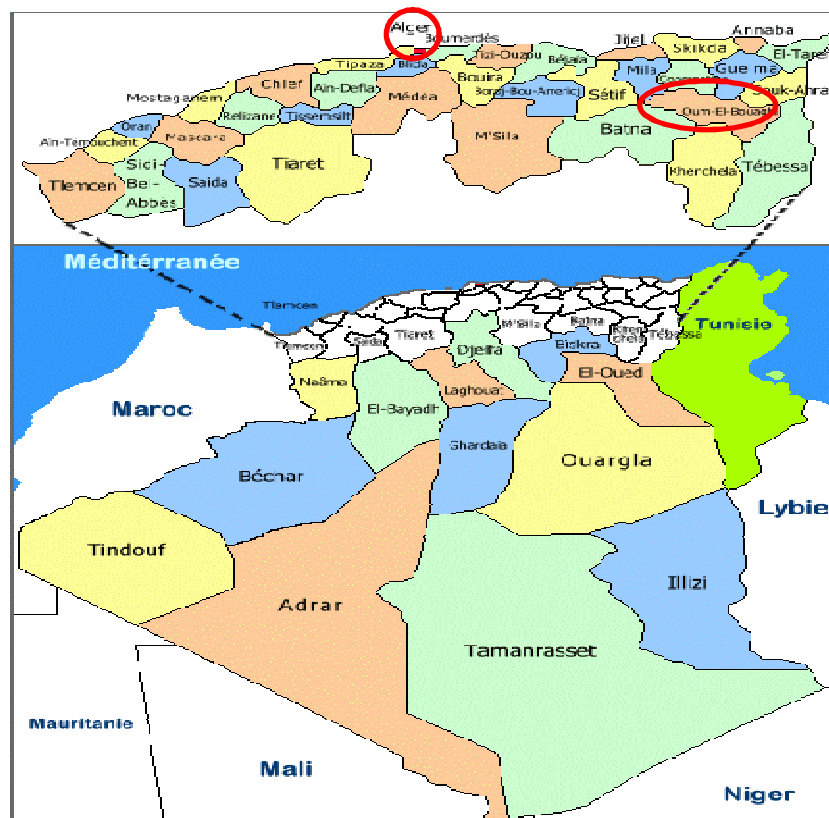


Figure 1. Localisation géographique des wilayas de l'étude expérimentale



mise au point des différentes techniques de titrage ont été réalisées dans les wilayas d'Alger et d'Oum El Bouaghi. Pour la wilaya d'Alger : la daïra de Chéraga (commune de Bouchaoui), la daïra de Zéralda (commune de Rahmania), et celle de Draria (commune de Baba Hassen) et de la daïra de Ain Mlila (commune de Ain Mlila) pour la wilaya d'Oum El Bouaghi (Figure 2).

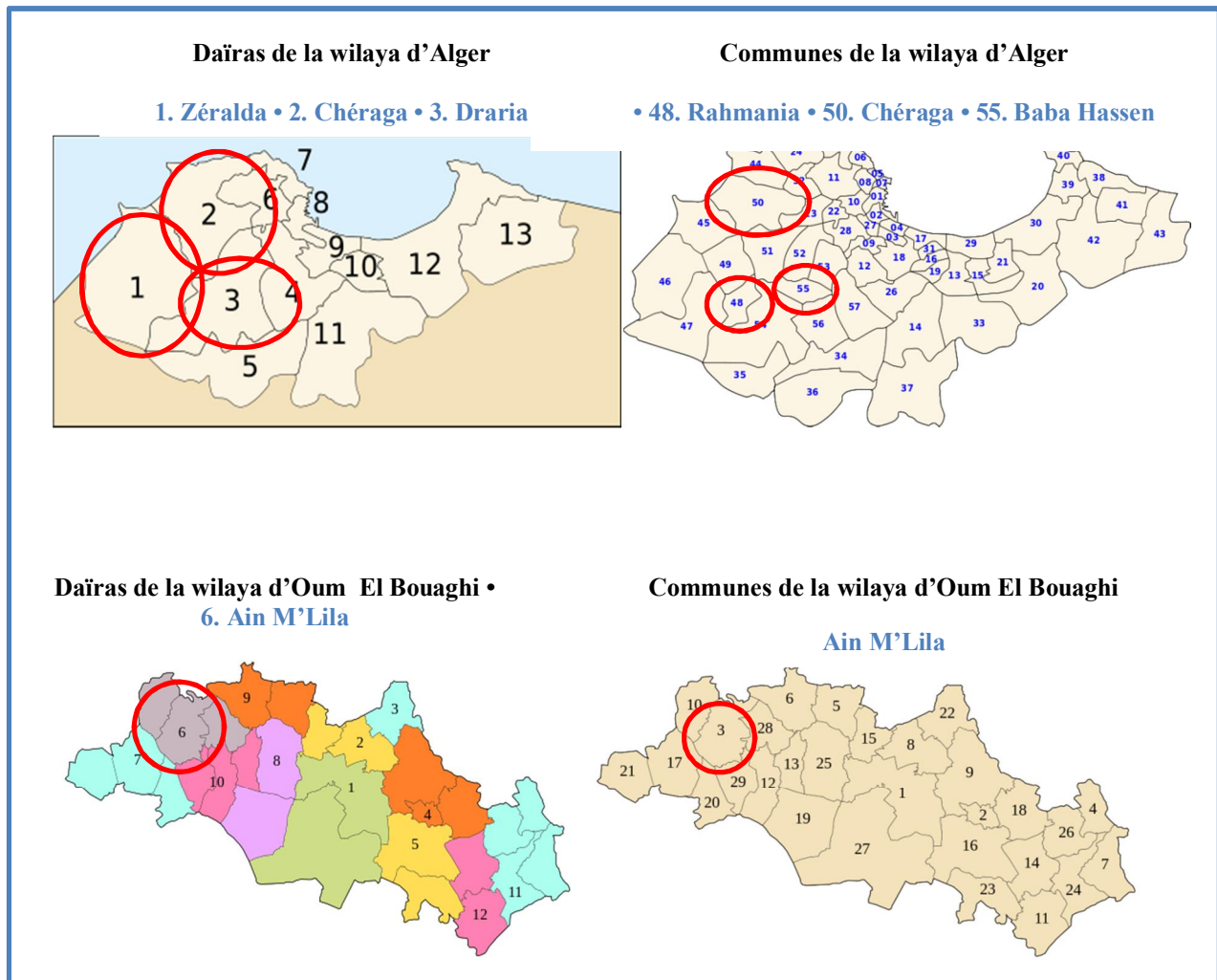


Figure 2. Localisation géographique des communes retenues pour l'étude

Le choix des wilayas a été motivé en tout premier lieu par la collaboration des autorités vétérinaires locales, l'accessibilité aux élevages et la coopération des éleveurs et surtout l'assurance de la possibilité du suivi des cheptels vaccinés pendant une année et bien entendu



oisies de cheptels naïfs de toute vaccination
supplémentaire de recrutement.

II.2. Durée de l'étude

L'étude a été menée sur une durée totale de 14 mois (du 20.03.2011 au 02.05.2012) avec la collaboration active de la Direction des Services Vétérinaires, de l'Inspection Vétérinaire d'Alger, la Direction des Services Agricoles (DSA) de Chéraga à Alger, ainsi que celle d'Oum El Bouaghi et de l'ITELV de Ain Mlila.

II.3. Population étudiée

Après la visite de plusieurs élevages dans les deux wilayas et l'analyse des résultats de l'étude de la faisabilité de leur suivi durant une année, cinq élevages ont été retenus pour cette étude. Trois dans la wilaya d'Alger (communes de Chéraga, Rahmania, Baba Hassen) et deux dans la wilaya d'Oum El Bouaghi (commune d'Ain M'Lila)

L'étude a porté sur un effectif total de 597 têtes ovines naïfs de vaccination anti-claveleuse ; à l'exception de l'élevage de Rahmania qui a été vacciné contre la clavelée l'année précédente.

Une fiche descriptive a été établie pour chaque élevage, dans laquelle ont été notamment reportés le mode d'élevage, le sexe, l'âge, la race, l'alimentation, l'état sanitaire et les antécédents, les mesures de déparasitage avant vaccination (Annexe III).

II.4. Vaccin utilisé

Le vaccin utilisé a été le vaccin **Clavax®**, lots **01/11** et **02/11**.

C'est un vaccin vivant à virus atténué, préparé sur culture cellulaire. Il est produit par Laboratoire de Production et de Développement de Vaccins Viraux Vétérinaires de l'Institut Pasteur d'Algérie.

La souche vaccinale est la souche RM65, issue d'un foyer naturel de clavelée apparue en Yougoslavie, adaptée aux cultures cellulaires puis atténuée par passages successifs sur cellules rénales de mouton à l'Institut Razi d'Iran par Ramyar et Hessam (1968).



la production du vaccin anti-claveleux est nommée à l'Institut Pasteur d'Algérie en 1995 par l'Unité de Production des Vaccins Viraux Vétérinaires de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA) de Dakar au Sénégal. Il titre 1000 DICT 50 par dose vaccinale.

II.4.1. Composition du vaccin

Une suspension lyophilisée du virus vaccinal de la Clavelée, souche RM65, atténué par passages sur culture cellulaire et cultivé sur cellules rénales d'agneau fœtal

Tableau 1. Composants du vaccin **Clavax®**

Matière active	Excipient	Solvant
Virus vaccinal (souche RM65)	Di hydrate de chlorure de calcium	Eau purifiée
	Chlorure de potassium	Chlorure de sodium
	Phosphate monopotassique	Phosphate monosodique
	Phosphate de magnésium	Phosphate disodique
	Sulfate de magnésium heptahydrique	
	Chlorure de sodium	
	Phosphate disodique	
	Bicarbonate de sodium	
	Rouge de phénol	
	Saccharose	
	Hydrolysate de lactalbumine	

II.4.2. Forme de présentation du vaccin

Le vaccin lyophilisé est présenté dans des flacons en verre, sous la forme d'une pastille déshydratée, de couleur rose clair, correspondant à 100 doses vaccinales.

Le vaccin est conditionné en flacons de 100 doses accompagnés chacun d'un flacon de 50 ml de solvant.

II.4.3. Mode d'emploi et posologie

Un flacon de vaccin est remis en suspension dans un flacon de solvant



5 ml de la suspension reconstituée, à injecter par voie
du coude.

Le vaccin peut être administré aux agneaux à partir de deux mois d'âge, le rappel est annuel.
Voir notice en annexe II.

II.4.4. Durée de conservation

La durée de conservation du **Clavax®** est de 12 mois à partir de la date de fabrication,
à une température comprise entre +2° et +6°C.

II.4.5. Effets secondaires

Suite à la vaccination par le **Clavax®** ; une réaction fébrile peut être observée.
Un nodule réactionnel de 2 à 4 cm de diamètre peut également apparaître au point
d'inoculation et qui se résorbe en quelques jours.

II.5. Identification, Vaccination et prélèvements

II.5.1. Matériel utilisé

Le matériel utilisé pour cette étape est présenté dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2. Instruments et consommables utilisés pour l'identification et la vaccination des
moutons, et pour les prélèvements

instruments	consommables
Boucles d'identification,	Seringues pour la vaccination
pince d'identification	Aiguilles stériles sous cutanées pour ovins tubes secs
Pistolet pour la vaccination	Vacutainer® stériles
Holder (porte aiguille)	aiguilles 21G stériles pour les prélèvements
glacière, bacs pan glace	tubes secs 5ml ou eppendorfs pour la récolte des
Une micropipette 1000 µl (pipet4u®)	Portoirs, sérums sanguins
Becher, poubelle, Marqueur permanent	Embouts bleus pour micropipette
	Gants,
Centrifugeuse (Hettich®),	
Congélateur (ENIEM®)	



Les ovins ont été identifiés au moyen de boucles d'identification sur lesquelles a été apposé un numéro d'identification sur les quatre faces de la boucle pour chaque ovin.

Le système d'identification suivant a été retenu :

Numéro de la wilaya + Initiales de l'éleveur + Numéro d'ordre à 3 chiffres

Ex : Les ovins de l'éleveur Zerkouk Moussa ont été les premiers identifiés, les ovins ont été identifiés comme suit : 16 ZM 001, 16 ZM 002, 16 ZM 003

Les boucles d'identification ont été placées au niveau de l'oreille droite pour les mâles et de la gauche pour les femelles immédiatement après l'acte vaccinal.

II.5.3. Protocole vaccinal

Le vaccin a été reconstitué par dilution du lyophilisat vaccinal avec le solvant fourni, pour être utilisé immédiatement.

Chaque animal vacciné a reçu une dose unique de 0,5 ml de la suspension reconstituée, injectée en sous cutané au niveau de l'ars, à l'arrière du coude.

Tous les ovins (mâles et femelles) de chacune des exploitations ont été vaccinés à partir de deux mois d'âge (y compris ceux qui n'ont pas été inclus dans notre étude).

Le vaccin a été stocké et transporté entre 2° et 8°C dans une glacière, munie de pains de glace fréquemment contrôlés. La chaîne de froid a été rigoureusement respectée pendant toute la durée de l'expérimentation.



des opérations d'identification et de vaccination

		Localité	Elevage	Effectif ovins	Sujets vaccinés	Sujets identifiés
Alger	20.03.2011	Rahmania	Zerkouk Moussa	106	97	97 (001 à 097)
	20.03.2011	Bouchaoui	Guechtouli El Hadj	20	18	18 (098 à 115)
	23.03.2011	Baba Hassan	Cherrad Rabah	200	200	132 (116 à 247)
	27.03.2011	Ain M'lila	ITELV	250	250	250 (identification ITELV)
	28.03.2011	Ain M'lila	Laajal Ali	200	200	100 (249 à 348)
Total				776	765	597

II.5.4. Protocole et conditions des prélèvements post-vaccinaux

Un premier prélèvement sanguin a été effectué avant la vaccination (J0) sur 10% du cheptel sélectionné soit 51 sujets ; afin d'en vérifier le statut immunitaire et confirmer l'absence d'anticorps anti-claveleux.

Quatre autres séries de prélèvements ont été effectuées à 30, 90, 180 et 365 jours après vaccination.

Les prélèvements du sang veineux ont été réalisés au niveau de la veine jugulaire après désinfection rigoureuse en s'assurant d'une bonne contention de l'animal par un aide.

Les prélèvements clairement numérotés et identifiés ont ensuite été transportés au laboratoire sous couvert du froid dans une glacière munie de pain de glace.

II.5.5. Recueil et conservation des échantillons sériques

Une fois au laboratoire, les prélèvements ont été centrifugés à 3°000 tours pendant 5 minutes. Le sérum délicatement recueilli a été aliquoté dans des microtubes sur lesquels ont été repris les numéros d'identification des animaux ainsi que le stade de prélèvement post-vaccinal. Ils ont été par la suite congelés et conservés à -20°C jusqu'au jour de leur analyse.



[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Biologie des prélèvements effectués

		Alger			Oum El Bouaghi	
Elevage		Zerkouk Moussa	Guechtouli El Hadj	Cherad Rabah	ITELV Ain M'lila	Laadjal Ali
Date vaccination /identification		20.03.2011	20.03.2011	23.03.2011	27.03.2011	28.03.2011
Prélèvement J0		non	non	non	27.03.2011	non
Prélèvement J30		20.04.2011	24.04.2011	21.04.2011	26.04.2011 27.04.2011 28.04.2011	30.04.2011
Prélèvement J90		22.06.2011	20.06.2011	21.06.2011	26.06.2011 27.06.2011	28.06.2011
Prélèvement J180		20.09.2011	20.09.2011	22.09.2011	26.09.2011 27.09.2011	29.09.2011
Prélèvement J365		24.04.2012	non	non	02.05.2012*	non

* Le prélèvement J365 de l'élevage ITELV n'a pas pu être réalisé à la date prévue du 26.03.2012 en raison de la vaccination de l'élevage contre l'entérotoxémie, le 21.03.2012.

Tableau 5. Nombre de sujets vaccinés et prélevés pour cette étude

Prélèvement	J0 Mars 2011	J30 Avril 2011	J90 Juin 2011	J180 Septembre 2011	J365 Mars 2012	Total
Elevages						
Zerkouk Moussa	0	87	90	80	18	275
Guechtouli El Hadj	0	18	18	18	0	54
Cherad Rabah	0	127	126	55	0	308
Laadjal Ali	0	100	3	65	0	168
ITELV Ain M'lila	50	260	257	236	79	882
Total	50	592	494	454	97	1677



II.6. Techniques de laboratoire

II.6.1. Matériel & Instruments

II.6.1.1. Matériel Biologique

a) Animaux

- **Un mouton** : un mouton en bonne santé et indemne de toute vaccination a été utilisé dans le cadre de l'hyper immunisation.
- **Fœtus d'ovins** : Des matrices de brebis ont été récupérées des abattoirs de Rouiba et d'El Harrach juste après abattage des brebis. Les fœtus ont été extraits des matrices, dès leur arrivée au laboratoire de productions du *Clavax*®.

b) Cellules

Deux lignées cellulaires ont été utilisées dans le cadre de la présente étude :

➤ Les cellules RM

Ce sont des cellules rénales d'agneau fœtal de première explantation, obtenues par trypsination de la couche corticale des reins stérilement prélevés à partir du fœtus de mouton.

➤ Les cellules VERO

Ce sont des cellules de lignée continue, issues des cellules épithéliales de rein du singe vert africain (*Cercopithecus aethiops*).

La lignée VERO fut isolée à partir de cellules épithéliales de rein extraites d'un singe vert adulte d'Afrique. La lignée a été développée le 27 mars 1962, par Yasumura et Kawakita à l'Université de Chiba au Japon. La souche originale fut nommée « VERO » d'après l'abréviation de « Verda Reno », qui signifie « rein vert » en espéranto.

c) Suspension virale

La souche utilisée est la souche issue de deux boîtes Falcone T75 (B61 et B62 du lot°1) de culture cellulaire RM 2 inoculées par la souche ISRA RM65, non titrées et congelées à - 20°C.

- *B61 : RM2 du 24.07.2012/F2, inoculée le 25.07.2012 P1*



lée le 25.07.2012 P1

stérifiées sur filtre Nalgène. Le filtrat a été récupéré dans deux flacons de 50 ml stériles. Ce filtrat a été congelé. Il a constitué la suspension virale qui a été utilisée durant toute l'étude. Le filtrat d'un flacon a été réparti dans des cryotubes, à raison de 1ml /cryotube et congelés à -20°C pour les utilisations ultérieures.

Un contrôle de stérilité sur trois milieux a été effectué. Ils ont ainsi été contrôlés tous les jours, les résultats des lectures quotidiennes ont été rapportés sur une fiche de contrôle de stérilité (voir fiche de contrôle type en Annexe IV).

d) Sérums sanguins

Les sérums suivants ont été utilisés :

- **Les sérums post-vaccinaux :** issus de prélèvements sanguins post-vaccinaux d'ovins des élevages sélectionnés pour cette étude, et prélevés aux stades J0, J30, J90, J180, J365 après vaccination
- **Le sérum hyper immunisé interne :** issu du prélèvement sanguin d'un ovin hyperimmunisé à l'Institut Pasteur d'Algérie, annexe de Kouba, et prélevé au stade J107 après hyper-immunisation
- **Le sérum de référence international :** Fourni par le laboratoire de référence de la clavelée en Afrique du sud. Ce sérum porte la référence : *LSD + serum cattle exp 2006, day 37 pi, 230306, VN84*

II.6.1.2. Milieux et réactifs

Différents milieux et réactifs ont été utilisés pour la production et l'entretien des cellules ainsi que pour le titrage viral et la séro-neutralisation.

Tous les milieux ont été stérilisés par deux filtrations successives sur filtres de 0,45µm et de 0,22µm). Ces milieux ont fait l'objet de contrôle de stérilité sur trois milieux (bouillon nutritif, thioglycolate, sabouraud liquide) avant leur utilisation. Tous les milieux et réactifs ont été réchauffés à 37°C avant leur emploi.



eux, leurs protocoles de préparation, ainsi que leurs en annexe IV et V.

➤ ***Le milieu de culture DMEM (Dulbecco Modified Eagles Medium) (Eurobio)***

Il s'agit d'un milieu synthétique constitué de glucose, d'acides aminés, de vitamines et d'électrolytes. Il est commercialisé sous forme de poudre conditionnée en flacons.

Après sa répartition stérile du milieu dans les flacons, ces derniers sont mis à l'étuve pendant 48h, puis conservés au réfrigérateur à +4°C.

➤ ***Le sérum de veau fœtal ou SVF (Eurobio)***

Le SVF est fourni sous forme liquide et stérile par le fabricant. Il a été décomplémenté au bain Marie à 56°C pendant une heure. Il a été ensuite réparti stérilement dans des tubes en verre stériles à raison de 10 ml/tube et conservé au congélateur à -20°C.

Le SVF est ajouté au milieu de culture à raison de 10% pour la mise en culture des cellules, de 5% pour leur entretien et de 2% pour l'infection des cellules.

➤ ***Trypsine-Versene (SIGMA)***

La solution trypsine-Versene est utilisée pour disperser les cellules du tapis cellulaire et pour les détacher de leur support (verre, plastique). Cette solution est constituée de trypsine 2,5g/l et de versene (EDTA: Acide Ethylène-Diamine Tétracétique) dissous dans une solution de PBS.

Le versene est un chélateur des ions bivalents (Ca^{2+} , Mg^{2+}) qui sont nécessaires à l'interaction des cellules entre elles et avec leur support, il renforce et accélère ainsi l'action de la trypsine

➤ ***Solution antibiotique/antimycotique (SIGMA)***

Les antibiotiques sont utilisés pour éviter la prolifération des micro-organismes dans les milieux et la contamination des cultures. Les inhibiteurs utilisés sont la gentamycine, la néomycine, et l'amphotéricine B.



répartie dans des microtubes stériles à raison
ieu.

➤ ***P.B.S (Phosphate Buffer Solution) (SIGMA)***

Le PBS est une solution saline stérile, employée pour le lavage des cellules et des fragments tissulaires.

➤ ***L-Glutamine (SIGMA)***

La glutamine est un acide aminé, utilisée pour compléter le milieu de culture pour l'entretien et la survie des cellules en culture *in vitro*.

Le milieu de culture a été préparé en mélangeant le milieu nutritif DMEM, le SVF dans les proportions adéquates et additionné de L-glutamine, d'antibiotiques et d'antifongiques au moment de l'emploi.

➤ **Trypsine-HBSS : Trypsine + Hank's Balanced Salt Solution**
Utilisés pour la trypsination des renis

➤ **Les milieux de culture utilisés pour le contrôle de stérilité**

Le contrôle de stérilité se fait sur les milieux ci-dessous. Ils sont préparés par le Service des Milieux de Culture de l'IPA

- ✓ **Bouillon nutritif**, incubé 7 jours à 37°C pour la recherche de germes aérobies.
- ✓ **Thioglycolate**, incubé 14 jours à 37°C pour la recherche de germes anaérobies.
- ✓ **Sabouraud liquide**, incubé 14 jours à température ambiante pour la recherche de champignons microscopiques

II.6.1.3. Equipements de laboratoire

(Voir annexe VI)

II.6.1.4. Consommables



II.6.2. Protocoles opératoires

II.6.2.1. Production d'un immun-sérum interne IPA

L'objectif de cette hyper-immunisation est la constitution d'un immun-sérum au titre satisfaisant et connu qui servira de sérum de référence interne au laboratoire.

a) Protocole de l'hyper-immunisation du mouton de l'IPA

Cette hyper-immunisation a été effectuée sur un mouton indemne de toute vaccination. Son état général a été contrôlé, et la température rectale a été relevée (38,9°C), afin de vérifier l'absence d'une hyperthermie pathologique.

L'hyper-immunisation a été obtenue par 6 injections de la souche ISRA RM65 à 14 jours d'intervalle. Les prélèvements post immunisation ont été effectués au 28^e, 42^e, 56^e, 77^e, 86^e et 107^e jour après immunisation. Le mouton a fait l'objet d'observations quotidiennes durant toute cette durée.

b) Recueil de prélèvements et conservation des échantillons

Les prélèvements sanguins ont été réalisés au niveau de la veine jugulaire du mouton. Après la récolte du sang, ce dernier a été centrifugé pendant 10 min à 3°000 tours/min. Le sérum sanguin formé a été recueilli dans des cryotubes, sur lesquels ont été inscrits la date et le stade du prélèvement. Ils ont été conservés à -70°C.

Le sérum hyperimmun qui a été titré dans cette étude en même temps que les sérums post vaccinaux et que le sérum international de référence, est le sérum du stade J107 prélevé le 08/12/2011. Il a été décomplémenté, filtré, et titré par séro-neutralisation sur cultures cellulaires primaire RM et de lignée VERO.

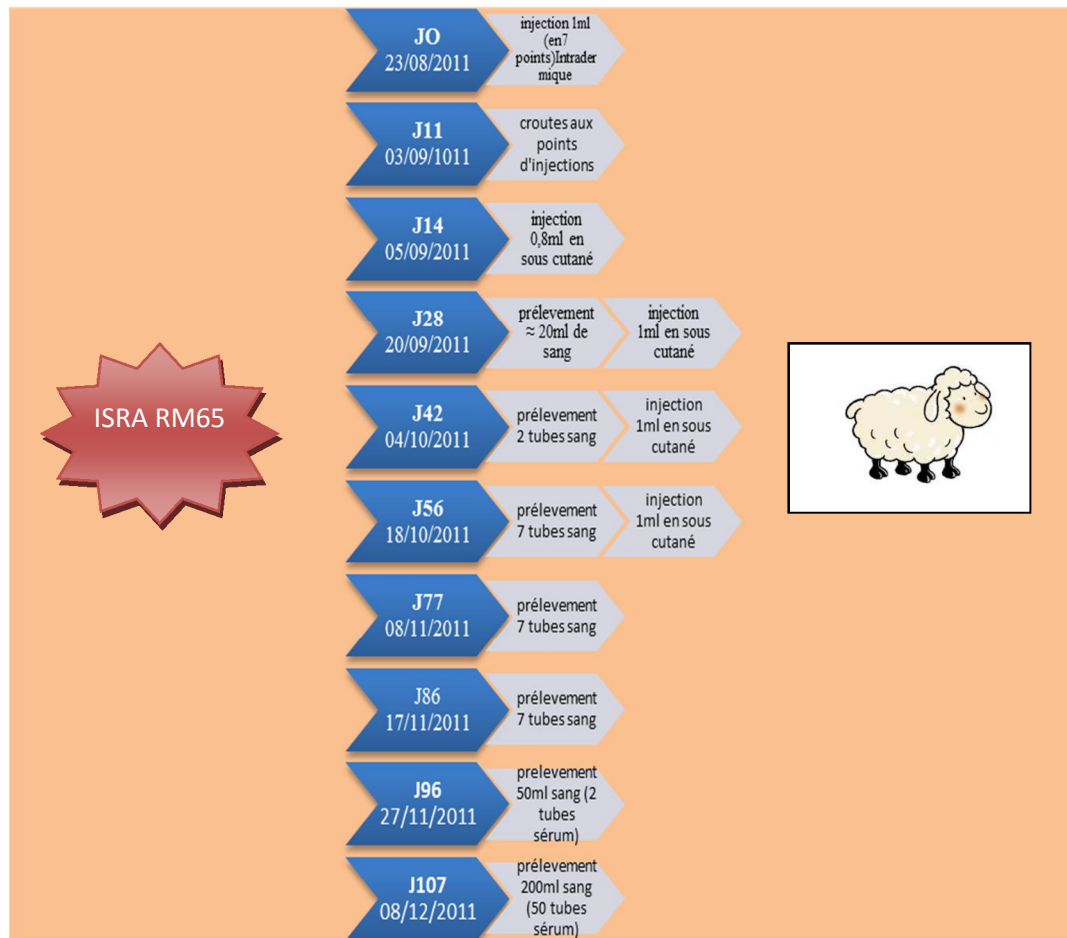


Figure 3. Protocole d'hyper-immunisation et chronologie des prélèvements sanguins

II.6.2.2. Mise en culture et entretien des cellules

Deux types de culture cellulaire ont été réalisés lors de cette étude. Des cellules primaires RM (reins de mouton), et des cellules de lignée continue ; les cellules VERO.

a) Mise en culture et entretien des cellules RM

La culture du virus de la clavelée pour la production du vaccin anti-claveleux à l'IPA, est réalisée sur des cultures de cellules RM de reins de fœtus d'agneau, obtenus à partir de brebis



u des abattoirs d'Alger. Deux fœtus seulement ont pu

Ces cellules RM étaient le seul support cellulaire habituellement utilisé au niveau du laboratoire, pour la production et le titrage viral.

➤ **Prélèvement du fœtus**

La matrice utérine une fois rapportée au laboratoire est lavée à l'eau, puis placée dans un plateau stérile. Une incision de la paroi utérine est faite, afin d'en extraire le fœtus. Ce dernier est transféré dans un autre plateau stérile.

➤ **Extraction des reins du fœtus**

Le plateau contenant le fœtus est transféré sous une hotte à flux laminaire. Son flanc est alors aspergé d'alcool chirurgical afin d'être rigoureusement désinfecté. Une incision de la paroi abdominale à hauteur des reins du fœtus est pratiquée, afin d'extraire les reins pour les transférer par la suite dans une grande boîte de pétri stérile.

➤ **Trypsination des reins**

Les reins sont décapsulés et débarrassés de leurs membranes puis leur couche corticale soigneusement raclée au bistouri. Les tissus ainsi prélevés sont ensuite dissociés mécaniquement et enzymatiquement par incubation dans la trypsine-HBSS pendant 1h00 à température ambiante. Les cellules rénales sont ensuite récupérées par centrifugation 2500^{tr}/mn pendant 10 mn à + 4°C et sont prêtes à êtreensemencées.

➤ **Mise en culture**

Le culot cellulaire obtenu est repris dans 5 ml de DMEM à 10% SVF. Après une bonne homogénéisation, la suspension cellulaire est répartie dans des flacons de culture cellulaire de 75ml. Ces derniers sont mis à incuber dans un incubateur à CO₂ à 37°C.

Les cellules ainsi mises en culture constituent les cellules rénales de 1^{er} explant : RM. La confluence cellulaire est atteinte en 5 à 7 jours.

Repiquage des cellules RM



Une fois le tapis cellulaire arrivé à confluence. Ensuite, les cellules sont détachées par un mélange de trypsine-EDTA puis réensemencées à une densité plus faible dans un nouveau récipient.

Les cellules RM peuvent subir un certain nombre de passages. Théoriquement une trentaine de passages sont possibles. En production, les cellules sont infectées au 2^e, 3^e, voire au-delà du 4^e et 5^e passage. Compte tenu du nombre élevé de sérums à titrer et de l'indisponibilité des fœtus, les titrages effectués au cours de cette étude ont été réalisés sur des cellules jusqu'au 9^e passage.

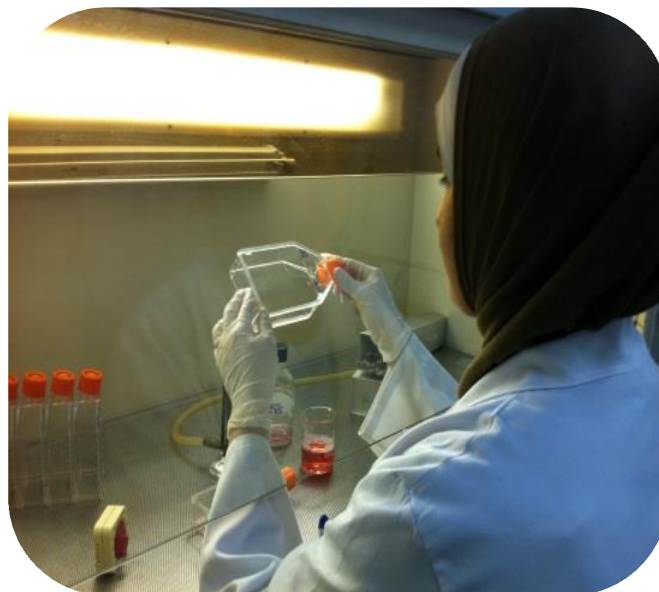




Figure 4. Repiquage des cellules RM (photo personnelle)

Le passage est réalisé selon le diagramme ci-dessous.

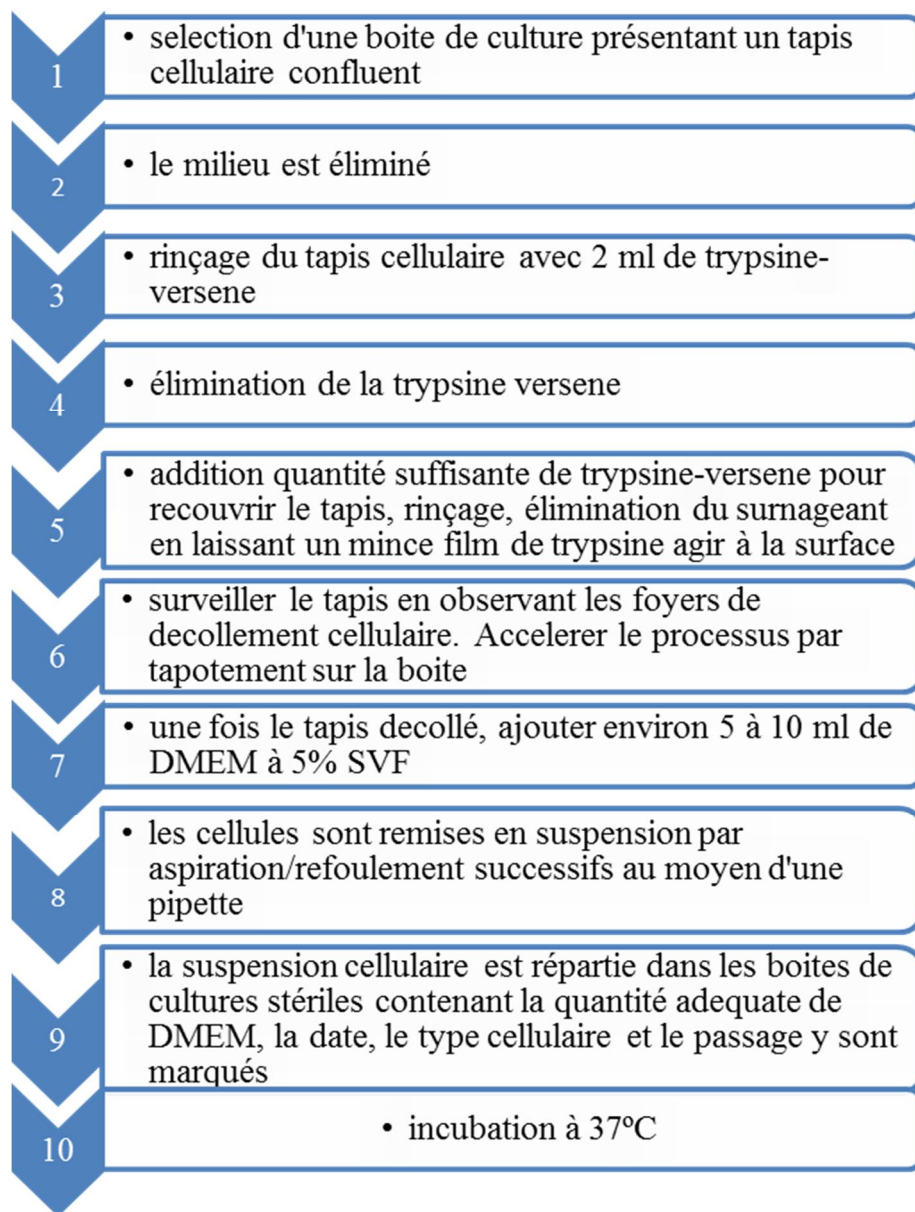


Figure 5. Phases opératoires de repiquage des cellules RM



s cellules VERO

➤ **Caractéristiques des cellules de lignée continue**

Ce sont des cellules de lignée continue (established cell-line) qu'il est possible de maintenir en culture indéfiniment. Une lignée cellulaire est une population homogène de cellules, stables après plusieurs mitoses successives et ayant en théorie une capacité illimitée de division. Donc qui peut être répliquée à plusieurs reprises sans pour autant devenir sénescence. Contrairement aux cellules primaires, les cellules de lignées continues peuvent être sous-cultivées des centaines de fois. Elles se caractérisent par une croissance rapide (2 à 4 jours).

➤ **Source des cellules VERO**

Les cellules VERO utilisées dans cette étude nous ont été fournies en décembre 2012 par le Laboratoire de Contrôle de Qualité de l'IPA. Ces cellules y étaient conservées dans l'azote liquide en cryotubes à -180°C.

Décongélation des cellules VERO et mise en culture

Le cryotube contenant les cellules VERO est plongé immédiatement dans un bain-marie à 37°C jusqu'à décongélation complète. La suspension cellulaire est ensuite transférée dans un flacon de culture cellulaire de 25 cm² avec un volume suffisant de milieu de culture (DMEM à 10% de SVF et additionné d'antibiotiques). Le flacon est incubé jusqu'à fixation des cellules au support pendant 3h à 37°C. Le milieu est ensuite changé pour éliminer toute trace du cryo-conservateur et les cellules remises en culture dans un incubateur à CO₂ à 37°C.

➤ **Repiquage et entretien des cellules VERO**

L'entretien des cellules VERO se fait de manière identique à celles des RM (voir paragraphe ci-dessus). Les cellules sont observées quotidiennement, pour apprécier la stérilité, la viabilité et la confluence du tapis cellulaire.

Le repiquage est réalisé tous les trois à quatre jours en moyenne. L'amplification des boîtes se fait ainsi par dédoublement.

Les cellules VERO utilisées lors de la présente étude ont été entretenues du 40^e au 65^e passage (soit du mois de Novembre 2012 au mois d'Avril 2013).



Cellules VERO

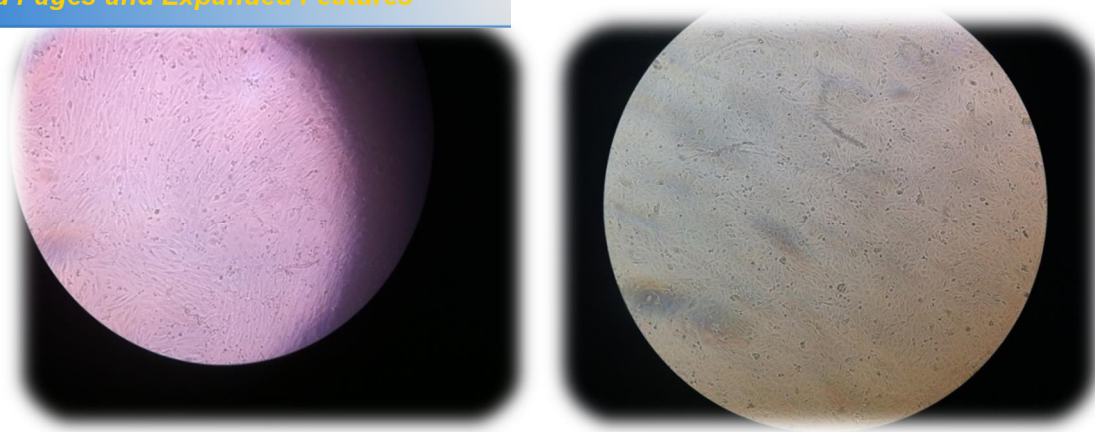


Figure 6. Aspect des cultures cellulaires RM et VERO
(Microscope photonique inversé grossissement 5x10) (**Photo personnelle**)

II.6.2.3. Titrage de la suspension virale

Le titrage de la suspension du virus claveleux a été déterminé par la mise en œuvre de la technique de l'effet cytopathique (ECP). Le titre d'une suspension est exprimé en nombre de DICT50/ml ou le nombre de doses infectieuses par ml de suspension virale, capables d'induire la lyse de 50% des cellules inoculées,

Le titre de la suspension virale a été calculé selon la Formule de Kärber (**Kärber, 1931**) qui permet de calculer le log de la dilution capable de lyser les cellules (apparition d'ECP) dans 50% des cupules

La formule suivante est utilisée pour le calcul de la dose infectieuse 50% :

$$\text{DICT50} = \frac{1}{\Delta} \cdot \log(S - 0,5)$$

Ou $\log_{10}$ = log10 de la dilution montrant 100% de dégénérescence

$\log_{10}$ = log10 du facteur de dilution (le facteur de dilution dans notre cas c'est le facteur 10 car nous avons effectué des dilutions décimales) donc $\log_{10} = 1$



l'unité

ées, incluant celles de la dilution où il y a 100% de valeur l'unité, et chaque autre dilution une fraction de

Une DICT50 correspond à la dilution du virus capable de produire un ECP sur 50% des plaques cellulaires infectées par cette dilution.

Le titrage de la suspension virale a été effectué à la fois sur cultures cellulaires, primaire RM et de lignée continue VERO. Ce titrage a été répété à chaque fois parallèlement à celui des sérums post vaccinaux des moutons par séroneutralisation sur culture cellulaire.

a) Technique de titrage de la suspension virale

Après la dilution en série de la suspension virale dans du DMEM à 2% de SVF, celle-ci ainsi que la suspension cellulaire à tester sont réparties sur une microplaque pour être incubées dans une étuve à 37°C en atmosphère enrichie à 5% CO₂.

La plaque fait ensuite l'objet d'une observation quotidienne pendant 7 jours. Deux lectures de l'ECP sont faites au 5^e et 7^e jour au microscope photonique inversé. Les résultats sont notés sur la feuille de lecture (voir modèle feuille de lecture en annexe VII).

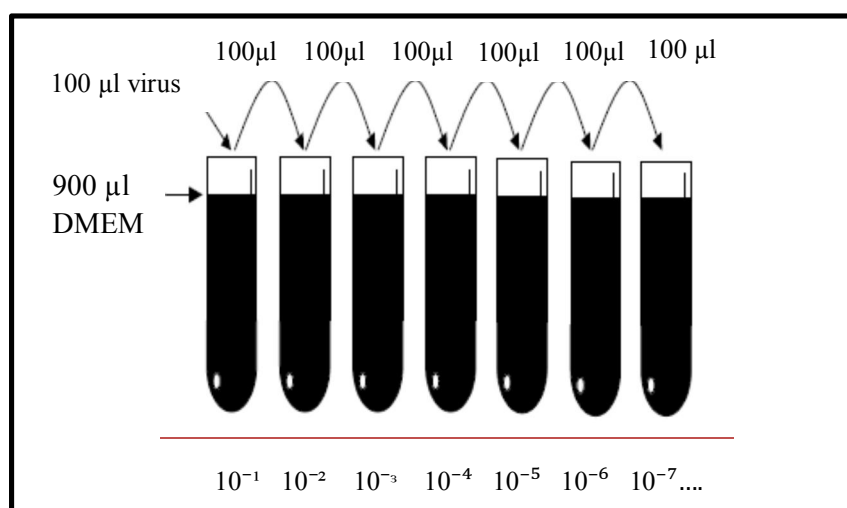


Figure 7. Dilutions en série de la suspension virale

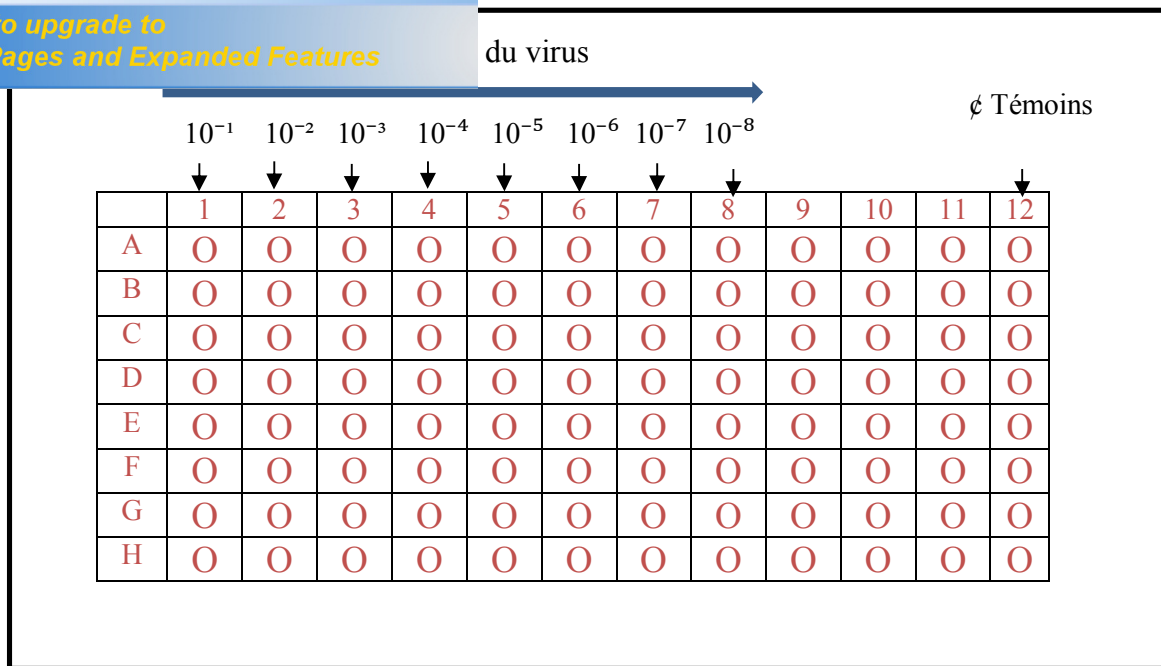


Figure 8. Schéma de la microplaque du titrage de la suspension virale

La validité de l'essai est conditionnée par l'inclusion rigoureuse du même nombre de cupules pour chacune des dilutions testées ainsi que par l'intégrité du support cellulaire utilisé (absence de contamination bactérienne ou fongique, signe de toxicité cellulaire...).

b) Titrage de la suspension virale sur cellules RM

La suspension virale a été titrée sur les cellules RM à différents passages cellulaires, compris entre le 1^{er} et le 9^e passage (RM1 à RM9), ainsi que les sérums post-vaccinaux et les sérums de références.

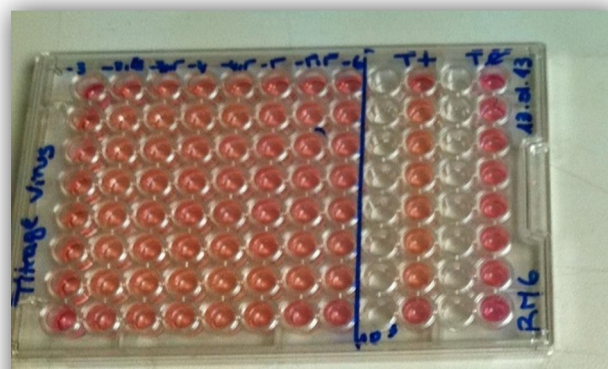


Figure 9. Microplaque du titrage de la suspension virale sur RM

c) Titrage de la suspension virale sur cellules VERO

La suspension virale a été titrée sur les cellules VERO à différents passages compris entre le 47^e et le 65^e passage, ainsi que les sérums post-vaccinaux et les sérums de références.

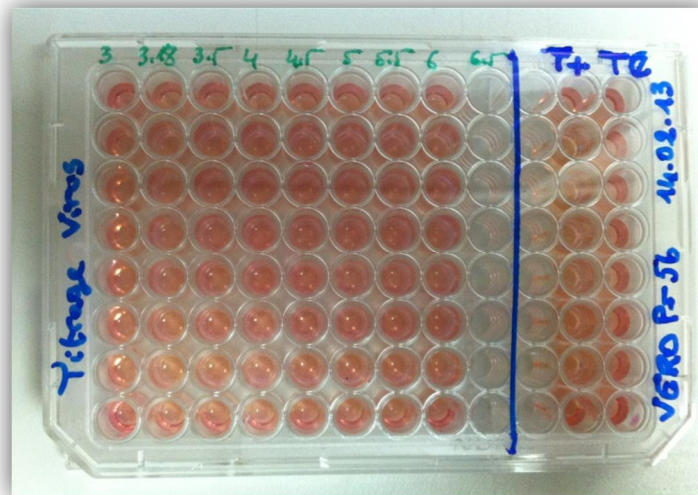


Figure 10. Microplaque du titrage de la suspension virale sur VERO
 (Photo personnelle)

II.6.2.4. Titrage des sérums sanguins par la technique de séro-neutralisation sur culture cellulaire

Les titres vaccinaux des sérums ont été évalués par la technique de séro-neutralisation sur les cultures cellulaires primaires RM et de lignée VERO

a) La Technique de séro-neutralisation sur culture cellulaire

La séro-neutralisation est une technique de référence recommandée par l'OIE, hautement spécifique et sensible pour les virus capables de provoquer un ECP (*Hart et al, 1997 ; Quinn et al, 2003*).

Elle est également considérée comme la technique standard de référence pour la détection et la quantification des anticorps anti-viraux (*Murphy et al, 1999*). Le taux d'anticorps neutralisants est en effet étroitement corrélé à la protection immune conférée (*Quinn et al, 2003*).



➤ Objectif de la technique

L'épreuve de neutralisation permet de déterminer la quantité d'anticorps neutralisants présents dans un sérum et dirigés contre un virus donné. Le titre du sérum correspond à la plus forte dilution à laquelle le virus est neutralisé (**Murphy et al, 1999 ; Quinn et al, 2003**).

➤ Principe de la technique

Le principe de la séro-neutralisation repose sur l'interaction des anticorps avec les protéines de la capside externe du virus. La fixation des anticorps aux virus prévient la pénétration et donc la multiplication virale dans les cellules sensibles (**Knipe et al, 2001**).

La mise en évidence d'une inhibition de l'effet cyto-pathogène par les sérums testés permet de conclure à la présence d'anticorps neutralisants (**Quinn et al, 2003 ; Tortora et al, 2003**).

➤ Mise au point de la technique

La mise au point de la technique de séro-neutralisation sur culture cellulaire a été nécessaire avant de pouvoir procéder au titrage des sérums recueillis au cours de cette étude.

Elle a été effectuée dans un premier temps sur les sérums d'un seul individu (J0, J30, J90, J180), afin d'optimiser les différentes étapes de la technique, de déterminer la fourchette de dilutions du sérum, la concentration cellulaire adéquate et faire un suivi de l'apparition des ECP pour déterminer le jour de la lecture finale.

Après plusieurs essais, le protocole suivant a été établi.

➤ Protocole de séroneutralisation sur culture cellulaire

Une fois décongelés, décomplementés et filtrés les sérums sont dilués à raison de 6 dilutions/sérum et répartis sous ambiance stérile sur microplaque à 96 puits à fond plat, stérile (figure 11) Huit répétitions sont exécutées pour chaque dilution.

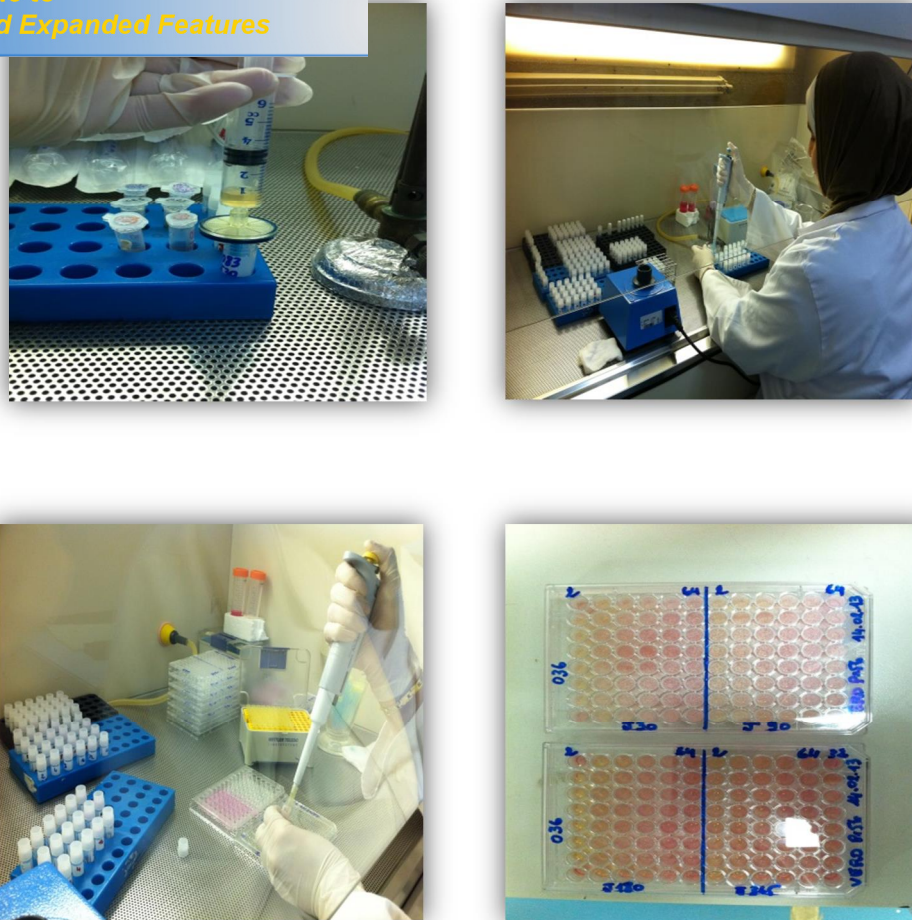


Figure 11. Filtration, dilution, et répartition sur microplaque des sérums post-vaccinaux
(Photos personnelles)

Une suspension virale titrant à 100 DICT 50 est préparée afin de réaliser la séro-neutralisation à virus constant. Elle est ensuite diluée en série pour être répartie dans tous les puits contenant les dilutions des sérums. Les microplaques sont ensuite incubées 36°C pendant 90 min.

Les cellules sontensemencées à la concentration de 10^5 cellules/ml dans les cupules de la microplaque qui ensuite recouverte et incubés à 37°C sous une atmosphère enrichi à 5% CO₂, pendant 7 jours, durant lesquels elles sont quotidiennement examinées.



Figure 12. Préparation et répartition de la suspension cellulaire, et incubation (*Photos personnelles*)

La lecture des microplaques se fait sous un microscope inversé, deux lectures sont effectuées, une première au 5^e jour, et une seconde au 7^e jour. La présence d'ECP est notée (+), et l'absence d'ECP (-). Les résultats sont portés sur la fiche de lecture (voir fiche de lecture type en annexe VII).

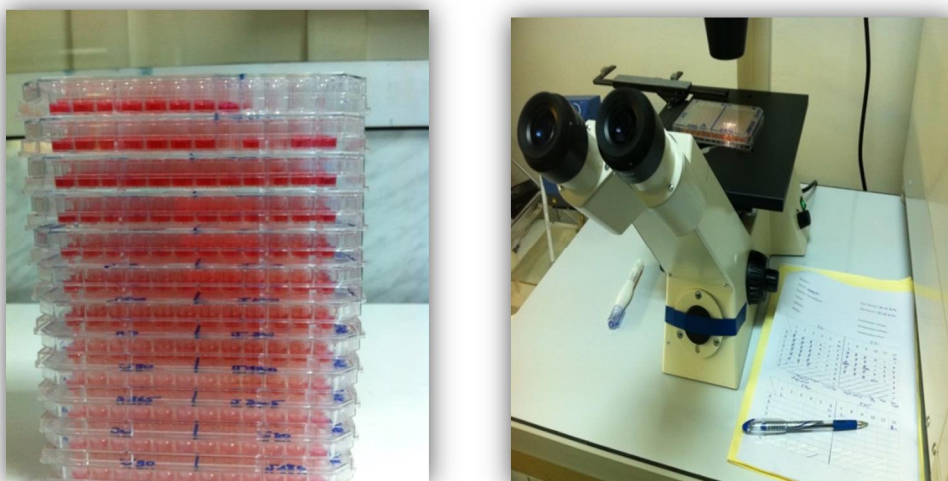


Figure 13. Lecture des microplaques des titrages des sérums post vaccinaux, des sérums hyper immunisés, et de la suspension virale (*Photos personnelles*)



b) Titrage des sérums sanguins post-vaccinaux

Les sérums post vaccinaux de 55 individus ont été titrés par la technique de séroneutralisation décrite ci-dessus et ceci sur 2 supports cellulaires dans le but de vérifier la superposabilité des deux types cellulaires étudiés.

➤ Titrage des sérums sanguins post-vaccinaux sur **cellules RM**

Les sérums de 22 individus issus de l'élevage de l'ITELV Ain M'Lila (Oum El Bouaghi) ont été titrés (J0, J30, J90, J180, J365) sur cellules RM.

➤ Titrage des sérums sanguins post-vaccinaux sur **cellules VERO**

Sur ce support ont été titrés :

Les sérums de 22 individus issus de l'élevage de l'ITELV Ain M'Lila. Ainsi que les sérums de 27 individus issus de l'élevage de Zerkok Moussa (wilaya d'Alger) (J30, J90, J180, J365).

NB : Pour des raisons pratiques, des pools de sérums selon leurs fourchettes de dilution ont également été constitués pour faciliter l'interprétation des résultats.

Détermination de l'indice de protection

Les titres neutralisants ont été calculés par la formule de Spearman-Karber et l'indice de protection en a été déduit selon la formule suivante :

$$IP = T - V$$

T : le titre (en log) fourni par les témoins

V : le titre (en log) observé chez les animaux vaccinés



Le sérum de référence interne J107 a été titré par la technique de séro-neutralisation décrite ci-dessus. Et ceci sur 2 supports cellulaires RM et VERO

d) Titrage du sérum de référence international

Le sérum de référence international a été titré par la technique de séro-neutralisation décrite ci-dessus sur cellules VERO.



II.6.3. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats a été réalisée en utilisant les tests non paramétriques, comme le test de Mann Whitney, le test de Kruskal Wallis, le test de Tukey, ainsi que le test de Wilcoxon. Les représentations graphiques ont été exécutées en utilisant le logiciel Excel 2010.

Résultats & Discussion

Le calcul des titres a été effectué par la formule de **Spearman-Karber**, communément utilisée et qui se caractérise par un degré relativement élevé de précision (**Karber, 1931**).

III.1. Etude comparative du titrage de la suspension virale sur support cellulaire RM versus VERO

Les résultats de l'évaluation du titre de la suspension virale par la technique de l'ECP, réalisée sur les deux supports cellulaires : cellules RM (du premier au neuvième passage cellulaire) et cellules VERO (du 47^e au 65^e passage) sont présentés dans le tableau 6, ci-dessous.

Tableau 6. Résultats des titrages de la suspension virale sur RM et VERO

Ordre passage cellulaire RM	Titre virus (DICT 50/100µl)	Ordre passage cellulaire VERO	Titre virus (DICT 50/100µl)
RM1/F1	$10^{4,18}$	VERO P47	$10^{4,75}$
RM2/F2	$10^{4,31}$	VERO P50	$10^{4,68}$
RM3/F1	$10^{4,50}$	VERO P52	$10^{4,93}$
RM5/F1	$10^{4,62}$	VERO P55	$10^{4,68}$
RM6/F2	$10^{4,56}$	VERO P56	$10^{4,93}$
RM7/F1	$10^{4,00}$	VERO P57	$10^{4,5}$
RM8 /F1	$10^{4,24}$	VERO P58	$10^{4,75}$
RM9/F1	$10^{4,24}$	VERO P60	$10^{4,32}$
		VERO P61	$10^{4,55}$
		VERO P63	$10^{4,31}$
		VERO P65	$10^{4,68}$
Moyenne	$10^{4,37}$	Moyenne des titres	$10^{4,64}$

NB : certains passages cellulaires n'ont pas pu être inclus pour des raisons d'ordre logistique

En fonction du numéro de passage cellulaire a révélé une différence observée entre les titres de la suspension virale en fonction des passages RM étaient non significatives (test de Tukey, $p > 5\%$; $p = 0,75$).

La comparaison des titres sur VERO en fonction du numéro de passage cellulaire a révélé également une corrélation moyenne négative. Les différences observées entre les titres de la suspension virale en fonction des passages VERO étaient non significatives ($p > 5\%$; $p = 0,12$).

La valeur moyenne du titre de la suspension virale était de $10^{4,37}$ DICT50/100 μ l sur support cellulaire RM et de $10^{4,64}$ DICT50/100 μ l sur support cellulaire VERO. L'analyse statistique des résultats obtenus par le test de Tukey, a montré qu'il y avait une différence significative entre les deux types cellulaires ($p < 5\%$; $p = 0,01$) (cette valeur a été confirmée par le test de Mann Whitney). Par ailleurs, en effectuant des tests de comparaisons multiples, les titres viraux obtenus sur VERO étaient supérieurs à ceux obtenus sur RM.

III.2. Etude comparative du titrage des sérums post-vaccinaux par séro-neutralisation sur support cellulaire RM versus VERO

Le titre d'un sérum correspond à la dilution pour laquelle on observe une neutralisation virale dans 50 % des puits lus. Ce titre est exprimé en unité internationale par millilitre (UI/ml), en le comparant à la dilution neutralisant un étalon titré dans les mêmes conditions (sérum de référence international).

Néanmoins faute d'accès à la valeur du titre du sérum de référence international en UI/ml, les valeurs des titres des sérums testés ont été exprimées en DICT50/50 μ l.

Les résultats de l'évaluation des titres par séro-neutralisation sur culture cellulaire RM et VERO, des sérums de cinq sujets différents, prélevés à J0, J30, J90, J180 et J365 (issus de l'élevage de l'ITELV de Ain M'Lila) sont repris dans le tableau 7 ci-dessous.

Tableau 7. Titres des sérums post-vaccinaux des cinq individus évalués par séro-neutralisation sur cellules RM et VERO

Sérum testé	DICT50/50 μ l									
	J0		J30		J90		J180		J365	
	RM	VERO	RM	VERO	RM	VERO	RM	VERO	RM	VERO
F03/9	ND	ND	$10^{-0,82}$	$10^{-0,57}$	$10^{-1,01}$	$10^{-0,75}$	$10^{-1,05}$	$10^{-0,63}$	$10^{-1,03}$	$10^{-0,91}$
F07/10	ND	ND	$10^{-2,21}$	$10^{-1,65}$	$10^{-2,25}$	$10^{-1,72}$	$10^{-1,80}$	$10^{-1,65}$	$10^{-2,10}$	$10^{-1,95}$
F53/10	0	0	$10^{-1,28}$	$10^{-1,46}$	$10^{-1,95}$	$10^{-2,14}$	$10^{-1,76}$	$10^{-1,57}$	$10^{-2,04}$	$10^{-1,80}$
F57/10	0	0	$10^{-1,01}$	ND	$10^{-1,36}$	$10^{-1,17}$	$10^{-1,20}$	$10^{-1,11}$	$10^{-1,23}$	$10^{-0,85}$
M20/10	ND	ND	$10^{-1,08}$	$10^{-1,01}$	$10^{-1,57}$	$10^{-1,57}$	$10^{-1,80}$	$10^{-0,52}$	ND	ND
Moyenne des DICT50	0	0	$10^{-1,28}$	$10^{-1,17}$	$10^{-1,62}$	$10^{-1,47}$	$10^{-1,52}$	$10^{-1,09}$	$10^{-1,60}$	$10^{-1,37}$
Moyenne des IP	0	0	$1,28 \pm 0,48$	$1,17 \pm 0,59$	$1,62 \pm 0,43$	$1,47 \pm 0,47$	$1,52 \pm 0,32$	$1,09 \pm 0,46$	$1,60 \pm 0,47$	$1,37 \pm 0,50$

ND : non défini en raison de l'absence de prélèvement ou de contamination

L'absence d'immunité antérieure vis-à-vis de la clavelée chez les ovins étudiés est bien confirmée par la valeur nulle des titres des sérums prélevés à J0. Les valeurs des titres des sérums augmentent ensuite pour atteindre en moyenne $10^{-1,28}$ et $10^{-1,17}$ à J30 et $10^{-1,62}$ et $10^{-1,47}$ à J90 sur respectivement les cellules RM et VERO.

L'analyse statistique des résultats obtenus par le test de Mann Whitney, a révélé globalement l'absence de différence significative ($P > 5\%$) entre les titres sériques obtenus sur chacun des supports cellulaires RM et VERO à J30 ($p = 0,57$), J90 ($p = 0,57$), J180 ($p = 0,63$), et à J365 ($P = 0,83$), permettant ainsi de valider la technique de séro-neutralisation sur des cellules de lignée de type VERO.

sérum de référence international

Les résultats de l'évaluation des titres du sérum de référence international par séro-neutralisation sur cellules VERO, repris dans le tableau 8 ci-dessous, ont permis d'arrêter le chiffre de $10^{-3,74}$ DICT50/50 μ l comme valeur moyenne.

Tableau 8. Résultats du titrage du sérum de référence international sur cellules VERO

Numéro Passage	SRI (DICT50/50 μ l)	Indice de protection
VERO P57	ND	ND
VERO P60	$10^{-3,70}$	3,7
VERO P61	ND	ND
VERO P63	ND	ND
VERO P65	$10^{-3,79}$	3,79

ND : non défini en raison de problème de contamination des cultures cellulaires.

III.4. Etude comparative du titrage de l'immun sérum interne IPA

L'immun sérum a également été titré plusieurs fois sur les deux supports cellulaires, et en parallèle avec les sérums post vaccinaux. Les résultats de ces titrages sont compilés dans le tableau 9 ci-dessous.

Tableau 9. Résultats du titrage de l'immun-sérum interne IPA sur RM et sur VERO

Cellules	Immun sérum IPA DICT50/50 μ l	Indice de protection	Cellules	Immun sérum IPA DICT50/50 μ l	Indice de protection
RM7/F1	ND	ND	VERO P47	ND	ND
RM7/F1	$10^{-2,33}$	2,33	VERO P50	$10^{-2,14}$	2,14
RM8 RM9/F1	$10^{-2,36}$	2,36	VERO P 52	ND	ND
RM1/F2	ND	ND	VERO P55	$10^{-1,99}$	1,99
RM2/F2	$10^{-2,74}$	2,74	VERO P56	ND	ND
RM5/F2	ND	ND	VERO P57	$10^{-2,14}$	2,14
RM6/F2	$10^{-1,95}$	1,95	VERO P58	ND	ND
RM6/F2	ND	ND	VERO P60	$10^{-2,53}$	2,53
			VERO P61	$10^{-2,20}$	2,2
			VERO P65	ND	ND
moyenne	$10^{-2,34}$	2,34 $\pm$ 0,27	moyenne	$10^{-2,20}$	2,20 $\pm$ 0,17

ND : non défini en raison de problème de contamination des cultures cellulaires

Les titres moyens de l'immun sérum IPA obtenus étaient respectivement de $10^{-2,34}$ DICT50/50 μ l et de $10^{-2,20}$ DICT50/50 μ l sur supports cellulaires RM et VERO.

L'analyse statistique de ces résultats par le test de Mann Whitney, a révélé qu'il n'y avait pas de différence significative $P > 5\%$ ($P = 0,46$), entre les titrages de ce sérum sur RM et ceux sur VERO. Ce dernier résultat validant également le titrage de l'immun sérum interne sur support VERO.

Par conséquent la validation de la technique de titrage des sérums par la technique de seroneutralisation sur cellules VERO est considérée comme positive.

III.5. Cinétique des titres sériques post vaccinaux de l'élevage ITELV Ain M'Lila sur supports cellulaires RM et VERO

Les valeurs de titres moyens des sérums individuellement titrés sur cellules RM et VERO, de 28 ovins issus de l'élevage ITELV ainsi que celles des valeurs des indices de protections conférés sont présentées dans le tableau 10 ci-dessous.

Tableau 10. Titres vaccinaux obtenus et indices de protection moyens conférés par le **Clavax®** aux ovins de l'ITELV Ain M'lila

Type cellulaire	DICT50/50 μ l		Indice de protection	
	RM	VERO	RM	VERO
J0	0	0	0	0
J30	$10^{-1,30}$	$10^{-0,87}$	1,30	0,87
J90	$10^{-1,25}$	$10^{-1,16}$	1,25	1,16
J180	$10^{-1,22}$	$10^{-1,02}$	1,22	1,02
J365	$10^{-1,39}$	$10^{-1,22}$	1,39	1,22

de protection conférés par le Clavax® aux ovins de l'élevage ITELV Ain M'lila (Figure 14) montre une nette augmentation de l'indice de protection à J30 suivie d'un léger déclin à J180 pour ensuite se maintenir à une valeur de 1,39 sur cellules RM et 1,22 sur cellules VERO à J365.

L'analyse statistique de ces résultats par le test de Kruskal Wallis a révélé qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différents stades (J0, J30, J90, J180, J365) au sein d'un même élevage.

En comparant les indices de protections entre les individus de l'élevage ITELV titrés sur RM, et ceux du même élevage titrés sur VERO, l'analyse statistique des résultats obtenus par le test de Wilcoxon permet de conclure à l'absence de différences statistiquement significatives ($P > 5\%$), entre les indices de protection calculés à partir des résultats de séro-neutralisation réalisée sur les deux types cellulaires étudiés.

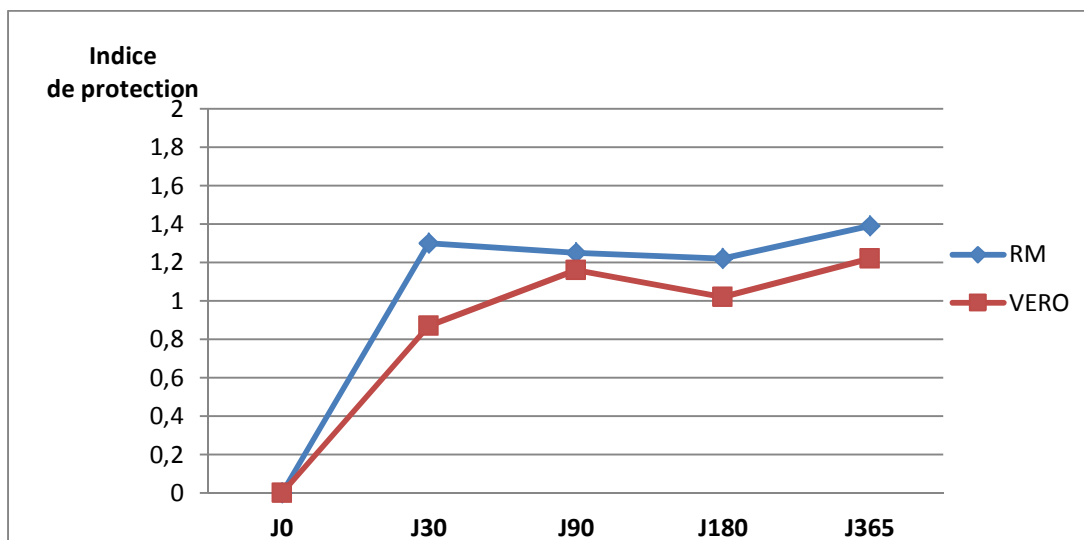


Figure 14. Courbes d'évolution des indices de protection conférés par le Clavax® aux ovins de l'élevage ITELV Ain M'lila en fonction des supports cellulaires utilisés

par le **Clavax®** aux ovins des élevages de Zerkouk Moussa Alger

Les valeurs des titres moyens des sérums individuellement titrés sur le support VERO (11 ovins issus de l'élevage ITELV Ain M'lila et 27 sujets de l'élevage de Zerkouk Moussa), ainsi que celles des valeurs des indices de protections conférés sont présentées dans le tableau 11 ci-dessous.

Tableau 11. Titres vaccinaux obtenus et indices de protection moyens conférés par le **Clavax®** aux ovins des élevages de l'ITELV Ain M'lila et Zerkouk Moussa

Elevage	DICT50/50µl		Indice de protection	
	ITELVAin M'lila	Zerkouk Moussa	ITELVAin M'lila	Zerkouk Moussa
J0	0	ND	0	ND
J30	$10^{-0,87}$	$10^{-0,98}$	0,87	0,98
J90	$10^{-1,16}$	$10^{-1,03}$	1,16	1,03
J180	$10^{-1,02}$	$10^{-1,22}$	1,02	1,22
J365	$10^{-1,22}$	$10^{-0,73}$	1,22	0,73

L'étude de l'évolution des indices de protection conférés par le Clavax® aux ovins des élevages ITELV Ain M'lila et Zerkouk Moussa Alger (**figure 15**) confirme l'absence d'immunisation préalable pour l'élevage de l'ITELV à J0. Une nette augmentation de l'indice de protection à partir de J30 est notée, suivie d'un léger déclin à J180 pour l'élevage ITELV. Une réduction plus marquée de l'indice de protection est constatée à J365, atteignant une valeur de 0,73 de pour l'élevage Zerkouk Moussa Alger, alors qu'elle est de 1,22 pour l'élevage de Ain M'lila.

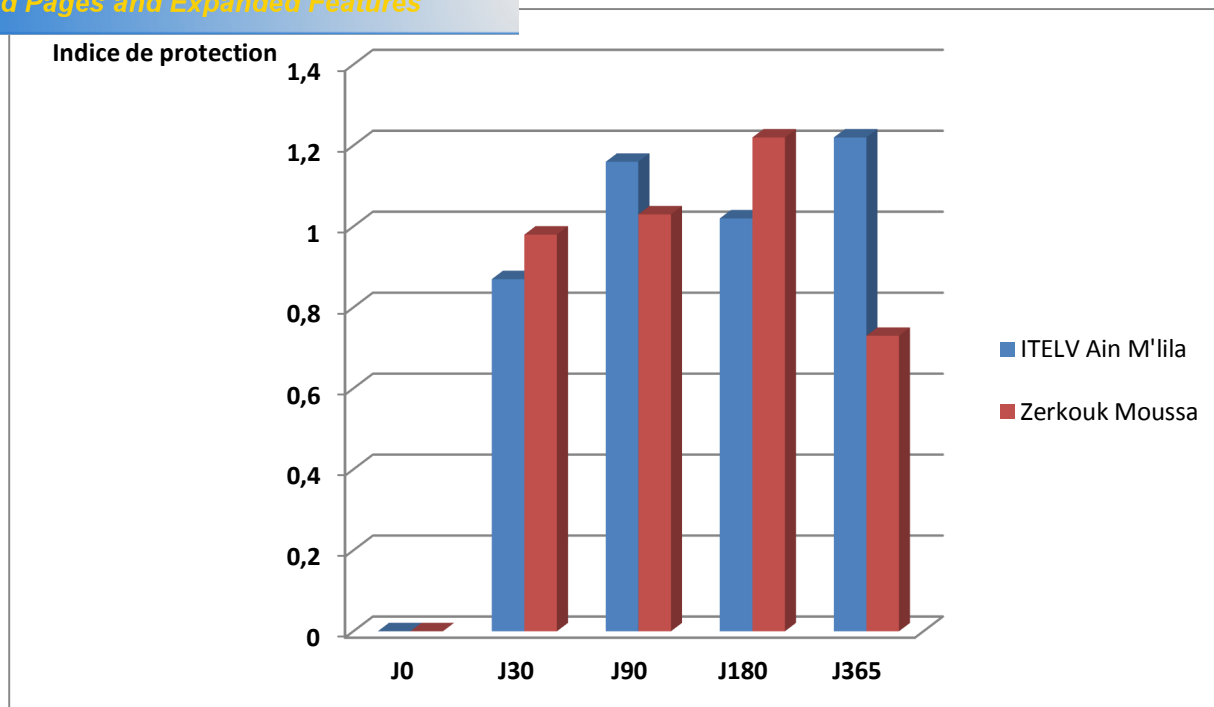


Figure 15. Indices de protection conférés par le Clavax® aux ovins des élevages
ITELV Ain M'lila et Zerkouk Moussa Alger

L'analyse statistique de ses résultats par le test de Kruskal wallis a révélé qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différents stades (J0, J30, J90, J180, J365) pour un même élevage.

En comparant les indices de protections entre les individus de l'élevage ITELV Ain Mlila, et ceux de l'élevage de Zerkouk Moussa Alger, l'analyse statistique des résultats obtenus par le test de Wilcoxon permet de conclure à l'absence de différences statistiquement significatives ($P > 5\%$), entre les indices de protection calculés sur la base des résultats de séro-neutralisation obtenus sur les cellules VERO.



La clavelée est une maladie virale, hautement contagieuse, virulente, inoculable et spécifique du mouton. Sévissant à l'état enzootique en Algérie, la clavelée est responsable de lourdes pertes économiques en raison de la mortalité élevée enregistrée chez les jeunes, les avortements et la dépréciation de la qualité de la laine qu'elle induit (**Achour et Bouquedour, 1999**). Elle constitue de plus, souvent une entrave à la commercialisation et l'exportation du cheptel ovin.

La vaccination qui constitue à ce jour la seule mesure efficace de lutte contre cette maladie en Algérie, repose sur l'utilisation d'un vaccin vivant atténué : le **Clavax®** produit par l'Institut Pasteur d'Algérie, à partir de la souche RM65 atténuée sur culture cellulaire rénale d'agneau fœtal, et pour lequel aucune donnée récente sur son efficacité sur le terrain n'est disponible.

Les titres vaccinaux conférés par un vaccin anti-claveleux sont habituellement déterminés par séro-neutralisation sur culture cellulaire rénale d'agneau fœtal. Les cellules dans ce cas, sont prélevées à partir d'organes fœtaux frais issus le plus souvent de saisies d'abattoir. La législation algérienne interdisant formellement l'abattage de brebis gestantes, l'approvisionnement en cellules est par conséquent irrégulier avec pour première conséquence majeure une production de vaccin extrêmement aléatoire. Par conséquent, l'objectif premier de la présente étude, a été la mise au point de la technique de séro-neutralisation sur des cellules de lignée continue, en l'occurrence les cellules VERO dont la sécurité de la lignée de la banque principale a été démontrée et validée depuis de nombreuses années (**Kistner, 1998**).

Les anticorps anti-claveleux sont décelables par différents tests sérologiques, citons à titre d'exemple la fixation du complément, l'immunodiffusion, l'hémagglutination, la réaction d'immunofluorescence directe et indirecte ou encore la séroneutralisation (**Davies, 1976 ; Fassi-Fehri et El Harrak, 1977 ; Fassi-Fehri et al, 1984**). La plupart de ces techniques sont malheureusement peu sensibles, le virus de la clavelée entraînant lors de la fixation du complément et du test d'immuno-diffusion des réactions croisées avec le virus de l'ecthyma, le virus de la maladie nodulaire cutanée bovine, souche Nethling, et le virus de la variole caprine (**Davies et Otema, 1983 ; Sharma et Dhanda, 1971**). Aussi, la technique de séro-



techniques. Le choix de cette technique trouve sa justification, elle est considérée comme technique de référence recommandée par l'organisation mondiale de la santé animale (**OIE, 2008**), en raison de sa spécificité et sensibilité (**Hart et Shears, 1997 ; Quinn et al, 2003**).

Le choix de ces cellules VERO a été motivé par l'étendue de son spectre de sensibilité aux virus homologues et hétérologues d'une part, et d'autre part par un entretien de leur culture bien plus aisé que celui des cellules primaires. En effet, elles présentent l'avantage de s'adapter aux conditions de cultures les plus basiques. De plus, elles échappent à tout phénomène de sénescence, et par conséquent à l'apoptose, autorisant ainsi un nombre illimité de passages cellulaires sans pour autant noter de perte de leurs caractéristiques cellulaires, permettant une réduction appréciable des coûts des essais de titrage en production.

Les résultats obtenus lors de l'étude comparant l'efficacité de la séro-neutralisation sur culture cellulaire primaire RM versus cellules de lignée VERO ont permis de valider ces dernières comme support possible au titrage des sérums post-vaccinaux. Ceci devrait permettre à l'avenir de s'affranchir de l'emploi des cellules primaires RM, qui présentent l'inconvénient d'être fortement exigeantes en SVF (couteux et souvent indisponible), d'être très sensibles à la cryo-conservation et de se différencier rapidement au cours des divisions cellulaires successives, limitant ainsi le nombre de passages cellulaires possible à leur utilisation (**Fassi-Fehri, 1982 ; Payment Trudel, 1989**). En effet, les lectures de l'ECP ou de son inhibition sur cellules RM, se sont révélées de plus en plus difficiles, au fur et à mesure des passages du fait de la souffrance et parfois de la mort cellulaire observées, contrairement aux cellules VERO qui ont permis l'obtention de titres statistiquement comparables d'un passage cellulaire à l'autre.

Par ailleurs, le nombre limité de passages possibles, impose un approvisionnement régulier en reins de fœtus d'agneau. Hors il est légalement interdit d'abattre en Algérie des femelles gestantes, ce qui rend encore plus qu'aléatoire un approvisionnement régulier de ces cellules. De plus, le statut épidémiologique des femelles abattues ou/et des fœtus prélevés étant souvent méconnu, le risque de portage latent de virus ou d'autres contaminants microbiens n'est pas à exclure, augmentant d'autant plus le risque de contamination des cultures cellulaires ultérieures et d'invalidation des résultats des ECP réalisés (**Fassi-Fehri, 1982**). De plus, les cellules primaires se caractérisent par une sensibilité aux contaminations bien plus



que. Il est établi que la contamination d'une culture cellulaire ou biologique ralentit drastiquement la croissance des cellules, et modifie leurs caractéristiques et altère de ce fait la fiabilité des résultats des titrages réalisés et peut entraîner un surcoût économique important.

Des essais antérieurs d'adaptation de la souche RM65 sur cellules VERO ont déjà été tentés au Laboratoire Développement et production des vaccins viraux vétérinaires de l'IPA. Néanmoins, bien que l'intervalle des titres obtenus par rapport au nombre de passages sur cellules VERO pouvait être superposable à celui observé sur cellules rénales fœtales de mouton, le nombre fort limité de passages cellulaire testé n'a pas permis de conclure définitivement. Dans la présente étude, les résultats obtenus n'ont pas permis la validation des résultats du titrage du virus claveleux souche RM65 sur cellules de lignée VERO. Les titres viraux obtenus sur VERO étaient supérieurs à ceux obtenus sur RM suggérant une plus grande sensibilité des cellules VERO à la souche vaccinale. Néanmoins ces résultats restent préliminaires et ne permettent pas de conclure définitivement.

Par ailleurs, nos résultats de titrage de la suspension virale obtenus sur RM et ceux obtenus sur VERO ont montré que les titres n'augmentaient pas d'un passage cellulaire à l'autre, ce qui rejoint les constatations de Ramiss et al, (1978).

Une autre alternative possible à l'utilisation des cellules primaires serait l'utilisation des cellules BHK 21, largement utilisées comme support dans la production de vaccins, tels les vaccins vétérinaires, antirabiques (*Fayaz et al, 1997 ; Rodrigues et al, 2000 ; Kallel et al, 2006*), le vaccin contre la maladie de Newcastle (*Enamul Haque et al, 2014*).

Très peu d'études ont concerné l'étude de l'efficacité de la souche vaccinale RM65 utilisée en Algérie (*Achour et al, 2000*), et aucune n'a concerné celle du Clavax®, seul vaccin anti-claveleux utilisé dans la prophylaxie médicale de la Clavelée dans notre pays. La production du Clavax® est passée de 9 938 000 doses vaccinales produites en 2003, à vingt et un millions de doses en 2013, couvrant ainsi 90 % du cheptel ovin, estimé à vingt six millions de têtes en Algérie (*Figure 16*).

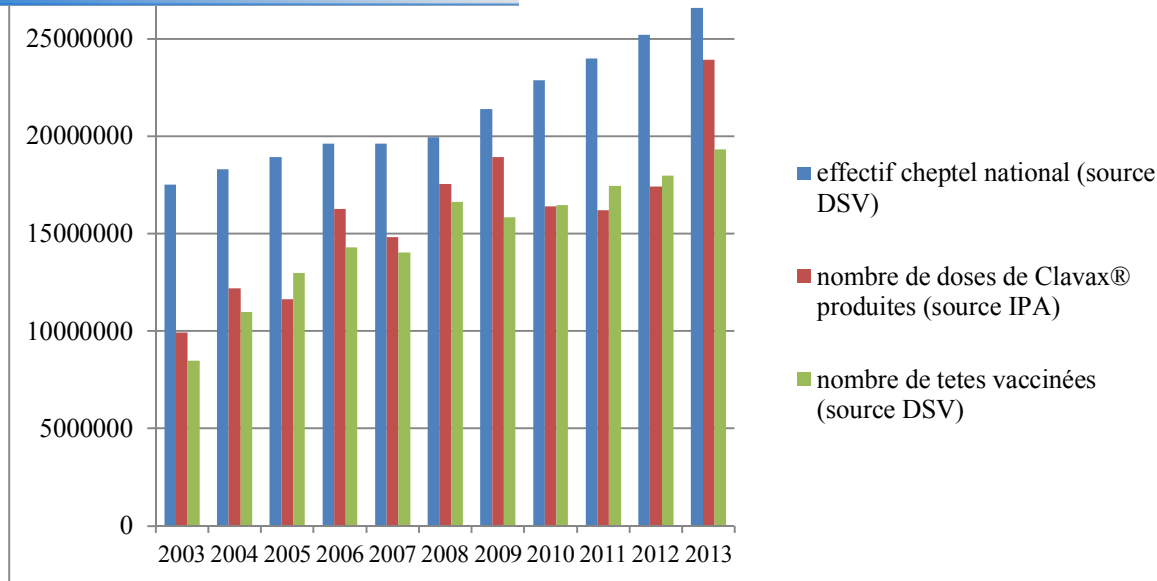


Figure 16 : Evolution du nombre doses vaccinales de Clavax® produites et de têtes vaccinées entre 2003 et 2013.

A titre d'exemple, le coût de cette dernière campagne de vaccination anti-claveleuse s'est élevée à 346 000 000 DA, à raison de 6,5 DA la dose et une rémunération des praticiens vétérinaires de 10 DA/tête d'ovin vacciné. Par conséquent, toute réduction de la qualité de la couverture vaccinale conférée par ce vaccin exclusivement utilisé dans ces campagnes de vaccination, pourrait se révéler rapidement fortement préjudiciable tant sur le plan sanitaire qu'économique. Une recrudescence des foyers de clavelée a été constatée ces dernières années (**figure 17**), justifiant selon nous la mise en place d'un contrôle régulier des titres vaccinaux conférés par le **Clavax®** par les autorités vétérinaires.

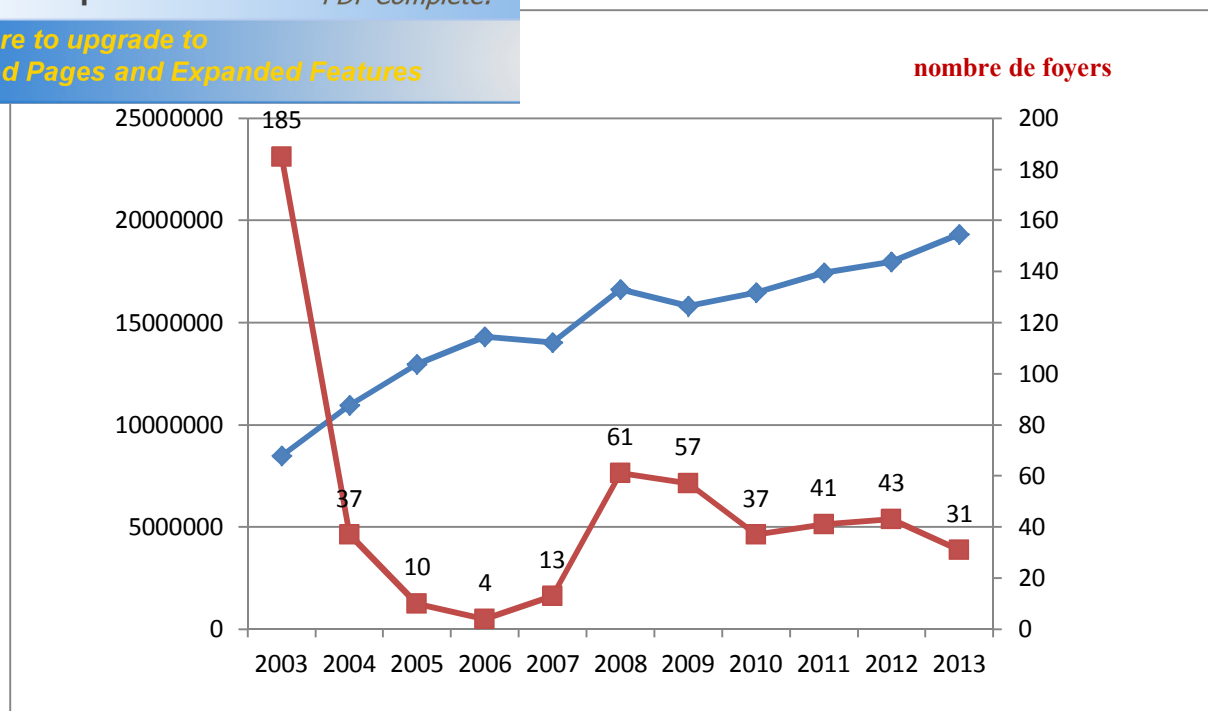


Figure 17 : évolution de la clavelée en Algérie depuis 2003. Comparaison entre le nombre d'animaux vaccinés et le nombre de foyers

L'objectif second de cette étude a donc été d'étudier l'évolution des titres sérologiques conférés par ce vaccin sur une durée de 365 jours.

Les résultats de l'étude de la cinétique de la réponse humorale conférée par le Clavax® aux ovins de l'élevage ITELV Ain M'lila (**figure 14**) ont rapporté une nette augmentation de l'indice de protection à J30 suivie d'un léger déclin à J180 pour ensuite se maintenir à une valeur de 1,22 sur cellules RM et 1,39 sur cellules VERO à J365. En effet une immunité de 22 mois a déjà été rapportée pour la souche RM65 (**Ramyar et Hessami, 1971**). L'immunité conférée par la souche Ranipet se maintenait 23 mois. La souche Rumanian Fanar quant à elle procure une protection de plus de 12 mois. Alors qu'une immunité de seulement 8 mois a été rapportée pour la souche Russian (**Carn, 1993**).

Dans notre étude, la souche RM65 utilisée pour la production du **Clavax®** titrait à au moins 10^3 DICT50/dose (0,5ml), conférant un indice de protection moyen compris entre 1,22 et 1,39 sur RM et 0,87-1,22 sur VERO. Ces résultats concordent avec ceux de (**Ramyar et al, 1976**)



compris entre 1 et 2 pour une dose vaccinale de 10^2 (1984).

Bien que différents auteurs admettent une corrélation positive étroite entre les titres en anticorps neutralisants et la protection réellement conférée par le vaccin anti-claveleux (**Soman, 1983 ; Rajendran et Kalaimathi. 1992 ; Bhanuprakash et al, 2004**), d'autres études ne la rapportent pas. Ceci pourrait être expliqué en partie par la part prépondérante de la réponse à médiation cellulaire dans l'immunité anti-claveleuse (**Fassi-Fehri et El Harrak, 1977 ; Fassi-Fehri et al, 1984**) ou/et le type et le titre des souches vaccinales utilisées, ou encore les procédés de production et d'atténuation retenus. A titre exemple, l'inoculation d'une dose de 10^2 DICT50 du vaccin Perego ne procure pas selon Fassi-Fehri et al (1984), une protection suffisante ($IP=0,17$), en revanche à la concentration de 10^4 DICT50, l'indice de protection passait à 3.14. La souche roumaine, utilisée au Maroc, confère quant à elle à la dose de 10^2 DICT50, un indice de protection de 4.04.

Néanmoins, le nombre de sérums testés (55), ne permet pas en l'état de conclure définitivement quant à l'efficacité du vaccin anti-claveleux utilisé. La lourdeur et la technicité de la méthode de titrage utilisé ainsi que les nombreuses difficultés rencontrées lors de la réalisation de ce travail expérimental (indisponibilité des cellules, du réactifs, coût global, contamination des cultures cellulaires) ayant limité de manière drastique le nombre de sérums titrés. L'évaluation ultérieure des titres de l'ensemble des sérums collectés sur une durée d'une année devrait permettre une évaluation plus précise des indices de protection conférés par le **Clavax®** en conditions de terrain. Il serait également judicieux de prolonger la présente étude à au moins 24 mois, dans la mesure où une immunité de plus de 22 mois comme cité plus haut, a déjà été rapportée pour la souche RM65 (**Ramyar et Hessami, 1971 ; Carn, 1993**).

Conclusion & Perspectives



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Par son incidence économique, la clavelée constitue encore en Algérie un problème préoccupant pour la filière ovine. Le caractère nomade d'une grande majorité d'éleveurs ovins et la pratique ancestrale de la transhumance rendent très difficile l'identification des cheptels, le contrôle de leurs mouvements et de leur état sanitaire. Dans le cas de notre pays, où la maladie sévit de manière endémique, la vaccination constitue le seul moyen qui permettrait l'éradication de la maladie ou tout au moins de limiter les lourdes pertes économiques qu'elle engendre systématiquement. Ce qui implique un contrôle régulier de l'efficacité du vaccin utilisé.

La présente étude a permis en premier lieu, la mise point du titrage des anticorps anti-claveleux par séro-neutralisation sur culture cellulaire primaire et de le valider sur culture cellulaire de lignée continue VERO, afin de surmonter notamment l'indisponibilité fréquente des cellules RM et permettre ainsi une évaluation régulière de la vaccination sur le terrain et des titres intrinsèques du vaccin produit.

Les résultats obtenus ne permettent pas de conclure définitivement sur l'efficacité de la vaccination par le **Clavax®**, une évaluation d'un échantillon plus important et sur une plus longue période nous semble nécessaire. La mise en œuvre de la technique de séro-neutralisation dans les différents laboratoires vétérinaires régionaux et/ou académiques devrait permettre d'atteindre cet objectif à court terme. Il serait également judicieux d'évaluer de manière directe la vaccination par la réalisation de challenge *in vivo*.

Enfin, le développement d'un nouveau vaccin sur culture cellulaire de lignée continue (ex : VERO) devrait permettre de s'affranchir des difficultés liées à l'emploi des cultures cellulaires primaires et d'assurer une production régulière, rapide, à un moindre coût qui couvrirait les besoins en vaccins anti-claveleux en Algérie qui s'élèvent à plus de 20 millions de doses par an.

A moyen terme, l'adaptation de la souche RM65 sur culture cellulaire RM immortalisée constituerait également une perspective de recherche intéressante à explorer dans le cadre de l'élaboration et de la production d'un nouveau vaccin contre la clavelée.



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)



Conclusion & perspectives

l'un vaccin recombinant, dirigé contre les virus de la
avelée pourrait apporter une réponse intéressante aux
pathologies ovines rencontrées dans notre pays.

Références bibliographiques



Références bibliographiques

Abbas AK, Litchman AH ; 2009 : Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique, traduction de la 3^e édition anglaise, Editions Elsevier-Masson, France, 283 pages, ISBN 978-2-81010-023-1

Achour H, Bouguedour R, Bouhbal A, Guechtouli A, Aouissat M ; 2000 : Etude comparative de quelques souches atténuées de virus de la clavelée et d'un vaccin sensibilisé, Rev. sci. tech Off. int. Epiz., 2000,19 (3), 773-783

Achour H, Bouguedour R; 1999: Epidémiologie de la clavelée en Algérie, Rev. sci. tech Off. int. Epiz., 1999,18 (3), 606-617

Bhanuprakash V; 2001: Epidemiology of sheep pox infection in Karnataka, the analysis of viral protein profiles of field and vaccine strains and evaluation of live attenuated vaccines. Phd Thesis. Uni Agri Sci, Bangalore, Karnataka, India

Bhanuprakash V, Indrani B, Hegde R, Kumar M, Moorthy A; 2004: A classical live attenuated vaccine for sheep pox, Trop. Anim. Health Prod., 36 (2004), pp. 307–320

Bhanuprakash V, Indrani BK, Hosamani M, Singh RK; 2006: The current status of sheep pox disease, Comparative Immunology Microbiology & Infectious Disease 29: 27-60

Bhanuprakash V, Hosamani M, Singh RK; 2011: Prospects of control and eradication of capripox from the Indian subcontinent: A perspective, Antiviral Research 91 (2011) 225–232

Boshra H, Truong T, Nfon C, Gerdts V, Tikoo S, Babiuk LA, Kara P, Mather A, Wallace D, Babiuk S; 2013: Capripoxvirus-vectored vaccines against livestock diseases in Africa, Antiviral Research 98: 217–227

Brugere-Picoux J ; 2004 : Maladies des moutons, 2^e édition, Editions France Agricole, Paris, 287 pages, ISBN 2-85557-079-4

Carn V; 1993: Control of capripoxvirus infections, Vaccine volume 11, Issue 13, October 1993, Pages 1275–1279



Verma P, Gupta P; 2009: A VERO cell derived and Peste des Petits ruminants for sheep. Vaccine

volume 27 (2009) 2548-2553

Crainic R, Nicolas JC ; 1993 : Virologie médicale, éditions médicales internationales, Paris, 527 pages, ISBN 2-85206-909-1

Davies F, Otema C; 1983: Relationship of capripox viruses found in Kenya with two middle eastern strains and some orthopox viruses. Res. Vet. Sci; 31, 2, 253-255

Davies F; 1976: Characteristics of a virus causing a pox disease in sheep and goats in Kenya, with observations on the epidemiology and control, J. Hyg., Camb. (1976), 163-171, Great Britain

Diallo A, Viljoen G; 2007: Genus Capripoxvirus, Poxviruses, Birkhäuser Verlag Basel/Switzerland, P167-181

DSV ; 2004 : Bulletin sanitaire vétérinaire année 2004, Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural, Algérie

DSV ; 2009 : Bulletin sanitaire vétérinaire année 2009, Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural, Algérie

DSV ; 2012 : Bulletin sanitaire vétérinaire année 2012, Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural, Algérie

Enamul Haque M, Ferdousur Rahman Khan M, Rahman M, Tanvir Rahman M, Saha S, Bahanur Rahman M; 2014: Development of BHK-21 Cell line Adapted Inactivated Newcastle Disease Vaccine, Microbes and Health, June 2014. 3(1): 1-4

Fassi-Fehri M ; 1988 : La clavelée, Les maladies infectieuses du mouton, Tome II, Actes éditions, pages 5-27

Fassi-Fehri M ; 1982: Éléments de virologie animale et comparée. Les éditions Maloine Paris, France. 270 pages

Fassi-Fehri M, El Harrak M, Bertin F ; 1983 : Etude comparée du développement de deux souches vaccinales du virus claveleux sur cellules testiculaires et rénales d'agneau. Résultats préliminaires, Rev. sci. tech. Int. Epiz ; 1983, 2 (2), 499-507



- son D, Abbadi M, El-Idrissi AH ; 1984 :** Etude
 euse post-vaccinale, Ann. Rech. Vét ; 1984, 15 (1), 59-
- Fayaz A, Zafarei A, Howaizi N, Eslami N; 1997 :** Production of rabbies vaccine using
 BHK-21with roller bottle cell culture technique, Iranian Biomedical Journal 1 (1):35-38
 (octobre1997)
- Ganière JP (ENVN) et al; 2000 :** Les Maladies Animales Exotiques Réputées Contagieuses,
 fascicule
- Haller S, Peng C, McFadden G, Rothenburg S; 2013:** Poxviruses and the evolution of host
 range and virulence, Infection, Genetics and Evolution 21 (2014) 15–40
- Hart T, Shears P; 1997 :** Atlas de poche de microbiologie, 1ere édition. Edition Medecine-
 Sciences Flammarion, Paris, ISBN 2-257-10125-1, 313 pages.
- Institut Pasteur d'Algérie ; 2011 :** Dossier technique Clavax, Institut Pasteur d'Algérie,
 Laboratoire de production et de développement des vaccins viraux vétérinaire, unité vaccin
 anticlaveux, Annexe Kouba, Alger
- Institut Pasteur de France ; 2013 :** Alfred Boquet (1879-1947) – Biographie, archives de
 l'institut Pasteur, France, <http://www.pasteur.fr/infosci/archives/>
- Kallel H, Diouani M, Loukil H, Trabelsi K, Snoussi M, Majoul S, Rourou S, Dellagi K ;
 2006 :** Immunogenicity and efficacy of an developed cell-culture derived veterinarian rabies
 vaccine, Vaccine. 2006 Mar 20.
- Karber G; 1931:** Beitrag zur kollektiven behandlung pharmakologischer reihenversuche.
 Archive fürExperimentelle Pathologie Pharmakologie, 162, 480.483
- Kistner O, Barrett PN, Mundt W, Reiter M, Schober-Bendixen S, Dorner F; 1998:**
 Development of a mammalian cell (Vero) derived candidate influenza virus vaccine, Vaccine.
 1998 May-Jun 16(9-10):960-8.
- Kitching P; 1983:** Rewiew: Progress towards sheep and goat pox vaccines, Vaccine, vol 1,
 December 1983, P4-9, Animal Virus Research Institute, Pirbright, Surrey, UK



amb R, Martin M, Roizman B, Straus S ; 2001 : Editions Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (USA), 1395 pages

Lamien C, Lelenta M, Goger W, Silber R, Tuppurainen E, Matijevic M, Luckins A, Diallo A; 2011: Real time PCR method for simultaneous detection, quantitation and differentiation of capripoxviruses, Journal of Virological Methods 171 (2011) 134–140

Lefevre PC; 1983: Clavelée et variole caprine
http://agriculture.gouv.fr/guide_epizooties

Mangana O, Kottaridi C, Nomikou K ; 2008 : The epidemiology of sheep pox in Greece from 1987 to 2007, Rev. sci. tech Off. int. Epiz ; 2008, 27 (3), 899-905

Moss B; 2006: Poxvirus entry and membrane fusion, virology 344 (2006) 48-54, ELSEVIER

Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ; 1999: Veterinary virology (third edition), Editions Academic press, California (USA), 629 pages

O.I.E, 2000: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 4th edition. Chapter 2.1.10

O.I.E, 2008 : Clavelée et Variole caprine, Manuel terrestre de l'OIE 2008, Chapitre 2.7.14, pages 1157-1168

O.I.E, 2013 : Clavelée et Variole caprine, Code sanitaire pour les animaux terrestres, Chapitre 14.10, pages 719-721

OIE-WAHID (World Animal Health Interface Database):
http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Animalsituation

Pasquier C, Bertagnoli S, Messud-Petit F, Izopet J ; 2005 : Virologie humaine et animale, les éditions Dunod, Paris, 281 pages, ISBN 2 10 048845 7

Pastoret PP, Govaerts A, Bazin H ; 1990 : Immunologie animale, éditions Medecine – Sciences Flammarion, Paris, 740 pages, ISBN 2-257-10221-5

Payment P, Trudel M ; 1989 : Manuel de techniques virologiques. Les éditions Presses de l'Université du Québec, Canada. 350 pages. ISBN 2-7605-0509-X

Plowright W, MacLeod WG, Ferris RD; 2012: The Pathogenesis of Sheep Pox in the Skin of Sheep, Infectious Disease: Archival Paper, J. Comp. Path. 2012, Vol. 146, Pages 97-105



A new freeze-dried living virus vaccine against sheep-
is., Vol. 1: 305-319.

Prescott Lansing M, Harley J, Klein D ; 2003 : Microbiologie, 2e édition française, Editions De Boeck, Bruxelles, 1137 pages, ISBN 2-8041-4256-6

Quinn P, Markey B; 2003: Concise review of veterinary microbiology, edition Blackwell publishing Oxford, UK, 153 pages ISBN 1-4051-0898-3

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(1) : 11-19.

Ramyar H, Hessami M; 1968: Development of an attenuated live virus vaccine against sheep pox, Arch.Inst.Razi, 20, 77-80

Ramyar H, Hessami M; 1971: Studies on the duration of immunity conferred by a live modified sheep pox tissue culture virus vaccine, Arch. Inst. Razi, 23: 27-32

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

Rheinbaben F, Gebel J, Exner M, Schmidt A; 2007: Environmental resistance, disinfection, and sterilization of poxviruses, Birkhäuser Advances in Infectious Diseases, P397-405, online ISBN 978-3-7643-7557-7

Ribeiro M, Sureau P ; 1967 : Vaccin anticlaveleux lyophilisé à virus sensibilisé, Archives de l'institut Pasteur d'Algérie, 45 : 11-29

Rodrigues A, Dasilva, Caporale M, Gonçalves C, Targueta M, Comin F, Zanetti C, Kotait I; 2000: Antibody response in cattle after vaccination with inactivated and attenuated rabies vaccines, Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo vol.42 n.2 São Paulo Mar. /Apr. 2000

Salah H, Yassa L ; 1999 : Vaccin anticlaveleux sur cultures cellulaires : Production et Contrôles – Essais cliniques, Projet de fin d'études en microbiologie, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger



7: Données actuelles sur la composante virale dans les petits ruminants en zone sahélienne et Soudano-sahélienne, Institut Sénégalais de recherches agricoles (I.S.R.A)

Sharma R, Dhanda M; 1971: Studies on the inter-relationship between sheep and goat pox viruses. Ind. J. Anim. Sci; 41, 4, 267-272

Soman JP, Singh IP; 1980: Cytopathic and immunogenic studies of sheep pox virus serially cultivated in cell culture, J. Comp. Path. Vol 90 (1): 99-106

Thiry E; 2000: Virologie Clinique des ruminants. 2^e édition. Les éditions du point vétérinaire, France, 301 pages, ISBN : 2-86326-151-7

Tortora GJ, Funke BR, Case C, Martin L ; 2003 : Introduction à la microbiologie, éditions ERPI, Québec, Canada, 945 pages, ISBN 978-2-7613-1345-2

Sources internet :

<http://www.cfsph.iastate.edu/> : The center for food security & public health (CFSPH), IOWA state university

<http://www.nature.com>

<http://www.poxvirus.org>

Annexes

Annexe I

CHAPITRE 14.10.

CLAVELÉE ET VARIOLE CAPRINE

Article 14.10.1.

Considérations générales

Aux fins de l'application des dispositions prévues par le *Code terrestre*, la *période d'incubation* de la clavelée et de la variole caprine est fixée à 21 jours.

Les normes pour les épreuves de diagnostic et les vaccins sont fixées par le *Manuel terrestre*.

Article 14.10.2.

Pays indemne de clavelée et de variole caprine

Un pays peut être considéré comme indemne de clavelée et de variole caprine lorsqu'il peut être établi que cette *maladie* n'y existe pas depuis 3 ans au moins.

Ce délai est ramené à 6 mois après l'*abattage* du dernier *animal* atteint de la *maladie* pour les pays qui pratiquent l'*abattage sanitaire*, associé ou non à la vaccination contre la clavelée et la variole caprine.

Article 14.10.3.

Zone infectée par le virus de la clavelée et de la variole caprine

Une *zone* sera considérée comme infectée par le virus de la clavelée et de la variole caprine jusqu'à ce qu'il se soit écoulé :

1. 21 jours au moins après la confirmation du dernier *cas* et l'achèvement des opérations d'*abattage sanitaire* et de *désinfection*, ou
2. 6 mois après la guérison clinique ou la *mort* du dernier *animal* atteint de la *maladie* si l'*abattage sanitaire* n'y a pas été pratiqué.

Article 14.10.4.

Échanges de marchandises

Les *Autorités vétérinaires* des pays indemnes de clavelée et de variole caprine peuvent interdire l'importation ou le transit par leur territoire, en provenance de pays considérés comme infectés par le virus de la clavelée et de la variole caprine, de tout ovin domestique et de tout caprin domestique.

Article 14.10.5.

Recommandations pour les importations en provenance de pays indemnes de clavelée et de variole caprine

Pour les ovins et caprins domestiques

Les *Autorités vétérinaires* doivent exiger la présentation d'un *certificat vétérinaire international* attestant que les *animaux* :

1. ne présentaient aucun signe clinique de clavelée et de variole caprine le jour de leur chargement ;
2. ont été entretenus depuis leur naissance, ou au moins durant les 21 derniers jours, dans un pays indemne de clavelée et de variole caprine.

Article 14.10.6.

Recommandations pour les importations en provenance de pays considérés comme infectés par le virus de la clavelée et de la variole caprine

Pour les ovins et caprins domestiques

Les *Autorités vétérinaires* doivent exiger la présentation d'un *certificat vétérinaire international* attestant que les *animaux* :

1. ne présentaient aucun signe clinique de clavelée et de variole caprine le jour de leur chargement ;
2. ont séjourné depuis leur naissance, ou durant les 21 derniers jours, dans une *exploitation* dans laquelle aucun *cas* de clavelée et de variole caprine n'a été officiellement signalé durant cette période et que cette *exploitation* n'était pas située dans une *zone infectée* par le virus de la clavelée et de la variole caprine, ou
3. ont été maintenus dans une *station de quarantaine* pendant les 21 jours ayant précédé leur chargement ;
4. n'ont pas été vaccinés contre la clavelée et la variole caprine, ou
5. ont été vaccinés, 15 jours au moins et 4 mois au plus avant leur chargement, contre la clavelée et la variole caprine, à l'aide d'un vaccin répondant aux normes fixées par le *Manuel terrestre* (les informations relatives au type de vaccin administré, qu'il contienne un virus inactivé ou un virus vivant modifié, ainsi qu'aux types et souches de virus utilisés pour sa fabrication doivent être portées sur le certificat).

Article 14.10.7.

Recommandations pour les importations en provenance de pays indemnes de clavelée et de variole caprine

Pour la semence d'ovins et de caprins

Les *Autorités vétérinaires* doivent exiger la présentation d'un *certificat vétérinaire international* attestant que les géniteurs ayant fourni la semence :

1. n'ont présenté aucun signe clinique de clavelée et de variole caprine le jour du prélèvement de la semence, ni durant les 21 jours suivants ;

2. ont été entretenus dans un pays indemne de clavelée et de variole caprine.

Article 14.10.8.

Recommandations pour les importations en provenance de pays considérés comme infectés par le virus de la clavelée et de la variole caprine

Pour la semence d'ovins et de caprins

Les *Autorités vétérinaires* doivent exiger la présentation d'un *certificat vétérinaire international* attestant que les géniteurs ayant fourni la semence :

1. n'ont présenté aucun signe clinique de clavelée et de variole caprine le jour du prélèvement de la semence, ni durant les 21 jours suivants ;
2. ont séjourné sur le territoire du *pays exportateur*, pendant les 21 jours ayant précédé le prélèvement de la semence, dans un *centre d'insémination artificielle* ou une *exploitation* où aucun *cas* de clavelée et de variole caprine n'a été officiellement signalé durant cette période, et ce *centre d'insémination artificielle* ou cette *exploitation* n'était pas situé(e) dans une *zone infectée* par le virus de la clavelée et de la variole caprine ;
3. n'ont pas été vaccinés contre la clavelée et la variole caprine, ou
4. ont été vaccinés contre la clavelée et la variole caprine à l'aide d'un vaccin répondant aux normes fixées par le *Manuel terrestre* (les informations relatives au type de vaccin administré, qu'il contienne un virus inactivé ou un virus vivant modifié, ainsi qu'aux types et souches de virus utilisés pour sa fabrication doivent être portées sur le certificat).

Article 14.10.9.

Recommandations pour les importations en provenance de pays considérés comme infectés par le virus de la clavelée et de la variole caprine

Pour les peaux, les fourrures, les laines et les poils (d'ovins ou de caprins)

Les *Autorités vétérinaires* doivent exiger la présentation d'un *certificat vétérinaire international* attestant que les produits :

1. sont issus d'*animaux* qui n'ont pas été entretenus dans une *zone infectée* par le virus de la clavelée et de la variole caprine, ou
2. ont subi un traitement qui soit de nature à assurer la destruction du virus de la clavelée et de la variole caprine dans un établissement agréé par l'*Autorité vétérinaire* du *pays exportateur* et placé sous son contrôle.

Annexe II



INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE

CLAVAX

Vaccin anticlavéleux lyophilisé, à virus atténué,
préparé sur cultures cellulaires

Composition :

- Vaccin lyophilisé : 100 doses vaccinales contenant au moins 10^3 DICT₅₀ chacune.
- Virus vaccinal, souche RM₆₅, obtenu par culture sur cellules rénales d'agneau foetal.
- Solvant : chlorure de sodium 8,3%
phosphate monosodique 0,046%
phosphate disodique 0,13% 50 ml

Indications :

Prévention de la clavelée (variole ovine) chez le mouton.

Présentation :

- 1 flacon de lyophilisat contenant 100 doses de vaccin.
- 1 flacon de 50 ml de solvant.

Mode d'emploi :

Introduire au moyen d'une seringue stérile 3 ml de solvant dans le flacon de 100 doses de vaccin. Agiter jusqu'à complète solubilisation du vaccin, puis reprendre le mélange, et le réinjecter dans le flacon de solvant. Renouveler l'opération afin de récupérer la totalité des particules virales restant dans le flacon et dans la seringue.

Posologie :

La dose vaccinale par animal est de 0,5 ml de la suspension reconstituée, à injecter par voie sous-cutanée au niveau de l'ars, à l'arrière du coude.

La dose est la même, quels que soient l'âge, le sexe ou le poids de l'animal.

- Primo-vaccination : à partir de 2 mois.
- Rappel : tous les ans.

Immunité :

L'immunité est effective 15 jours après la vaccination. Elle doit être entretenue par des revaccinations annuelles.

Précautions :

Respecter les règles d'asepsie.

Ne vacciner que les sujets en bon état de santé et correctement déparasités.

Effets secondaires :

Une réaction fébrile peut être observée.

Au point d'inoculation peut apparaître un nodule réactionnel, de 2 à 4 cm de diamètre, qui se résorbe en quelques jours.

Délai d'attente :

Aucun.

Conservation :

La vaccin lyophilisé doit être conservé à température comprise entre + 2 et + 6°C.
Après réhydratation, le vaccin liquide doit être utilisé dans l'heure qui suit.

Validité :

12 mois après la date de fabrication.

Annexe III

Taille de l'élevage : 106 têtes

Mode de l'élevage : Extensif

Alimentation : Pâturage + Foins + orge

Déparasitage : non

Date de prélèvement

J0/J30/J90/J180/J365

	N° d'identification	sexe	Age
1	16 ZM 001	F	6ans
2	16 ZM 002	F	6ans
3	16 ZM 003	F	6ans
4	16 ZM 004	F	6ans
5	16 ZM 005	F	6ans
6	16 ZM 006	F	6ans
7	16 ZM 007	F	6ans
8	16 ZM 008	F	4ans
9	16 ZM 009	F	6ans
10	16 ZM 010	F	6ans
11	16 ZM 011	F	6ans
12	16 ZM 012	F	6ans
13	16 ZM 013	F	6ans
14	16 ZM 014	F	6ans
15	16 ZM 015	F	6ans
16	16 ZM 016	F	8ans
17	16 ZM 017	F	6ans
18	16 ZM 018	F	6ans
19	16 ZM 019	F	6ans
20	16 ZM 020	F	1ans
21	16 ZM 021	F	6ans



			F	4ans
			M	6ans
24	16 ZM 024		F	6ans
25	16 ZM 025		F	6ans
26	16 ZM 026		M	1an
27	16 ZM 027		F	6ans
28	16 ZM 028		F	6ans
29	16 ZM 029		F	6ans
30	16 ZM 030		F	6ans
31	16 ZM 031		M	6ans
32	16 ZM 032		F	2ans
33	16 ZM 033		F	2ans
34	16 ZM 034		F	6ans
35	16 ZM 035		F	6ans
36	16 ZM 036		F	4ans
37	16 ZM 037		F	6ans
38	16 ZM 038		F	2ans
39	16 ZM 039		F	6ans
40	16 ZM 040		F	3ans
41	16 ZM 041		F	6ans
42	16 ZM 042		F	6ans
43	16 ZM 043		F	6ans
44	16 ZM 044		F	6ans
45	16 ZM 045		M	6mois
46	16 ZM 046		M	1an
47	16 ZM 047		F	6mois
48	16 ZM 048		F	6ans



			M	2ans
			F	6ans
51	16 ZM 051		F	6mois
52	16 ZM 052		F	6ans
53	16 ZM 053		F	1an
54	16 ZM 054		M	8ans
55	16 ZM 055		F	2ans
56	16 ZM 056		F	1an
57	16 ZM 057		F	6mois
58	16 ZM 058		F	2ans
59	16 ZM 059		M	6ans
60	16 ZM 060		F	6ans
61	16 ZM 061		F	6ans
62	16 ZM 062		F	6ans
63	16 ZM 063		F	6ans
64	16 ZM 064		M	2ans
65	16 ZM 065		F	6mois
66	16 ZM 066		F	6mois
67	16 ZM 067		M	2ans
68	16 ZM 068		F	1an
69	16 ZM 069		F	6mois
70	16 ZM 070		F	6mois
71	16 ZM 071		F	9ans
72	16 ZM 072		F	6mois
73	16 ZM 073		M	6mois
74	16 ZM 074		F	6mois
75	16 ZM 075		F	6mois



			M	7mois
			M	6mois
78	16 ZM 078		M	6mois
79	16 ZM 079		M	7mois
80	16 ZM 080		M	6mois
81	16 ZM 081		M	6mois
82	16 ZM 082		F	6mois
83	16 ZM 083		F	6mois
84	16 ZM 084		F	6mois
85	16 ZM 085		F	6ans
86	16 ZM 086		M	7mois
87	16 ZM 087		M	6mois
88	16 ZM 088		F	6mois
89	16 ZM 089		M	6mois
90	16 ZM 090		M	6mois
91	16 ZM 091		F	6mois
92	16 ZM 092		F	6mois
93	16 ZM 093		M	6mois
94	16 ZM 094		F	6mois
95	16 ZM 095		F	2ans
96	16 ZM 096		F	6ans
97	16 ZM 097		F	6mois

oui

Taille de l'élevage : 20 têtes

Date de prélèvement

Mode de l'élevage : Extensif

J0/J30/J90/J180/J365

Alimentation : Pâturage + Foins + orge

Déparasitage : non

	N° d'identification	sexe	Age
1	16 GH 098	F	2 ans
2	16 GH 099	F	2 ans
3	16 GH 100	F	2 ans
4	16 GH 101	F	2 ans
5	16 GH 102	F	2 ans
6	16 GH 103	F	2 ans
7	16 GH 104	F	2 ans
8	16 GH 105	F	2 ans
9	16 GH 106	F	2 ans
10	16 GH 107	M	6 mois
11	16 GH 108	F	2 ans
12	16 GH 109	F	2 ans
13	16 GH 110	F	2 ans
14	16 GH 111	F	2 ans
15	16 GH 112	F	2 ans
16	16 GH 113	M	6 mois
17	16 GH 114	F	2 ans
18	16 GH 115	F	2 ans

Elevage Cherrad Rabah/ Bab Hacen

Taille de l'élevage : 200 têtes

Date de prélèvement

Mode de l'élevage : Extensif

J0/J30/J90/J180/J365

Alimentation : Pâturage + Foins + orge

Déparasitage : oui

N° d'identification			sexe	Age
1	16 CR	116	F	6 ans
2	16 CR	117	F	6 ans
3	16 CR	118	F	6 ans
4	16 CR	119	F	6 ans
5	16 CR	120	F	6 mois
6	16 CR	121	F	6 ans
7	16 CR	122	F	8 mois
8	16 CR	123	F	6 ans
9	16 CR	124	F	3ans
10	16 CR	125	F	6 ans
11	16 CR	126	F	2 ans
12	16 CR	127	F	6 ans
13	16 CR	128	F	6 ans

			F	6 ans
15	16 CR	130	F	6 ans
16	16 CR	131	F	2 ans
17	16 CR	132	F	6 ans
18	16 CR	133	F	6 mois
19	16 CR	134	F	6 ans
20	16 CR	135	F	6 ans
21	16 CR	136	F	6 ans
22	16 CR	137	F	6 ans
23	16 CR	138	M	6 ans
24	16 CR	139	F	2 ans
25	16 CR	140	F	6 ans
26	16 CR	141	M	8 ans
27	16 CR	142	F	6 ans
28	16 CR	143	F	6 ans
29	16 CR	144	F	2 ans
30	16 CR	145	F	2 ans
31	16 CR	146	M	6 ans



			F	6 ans
33	16 CR	148	F	6 ans
34	16 CR	149	F	6 ans
35	16 CR	150	F	2 ans
36	16 CR	151	F	1 ans
37	16 CR	152	F	2 ans
38	16 CR	153	F	6 mois
39	16 CR	154	F	6 mois
40	16 CR	155	F	6 mois
41	16 CR	156	F	3 mois
42	16 CR	157	F	6 mois
43	16 CR	158	F	2 ans
44	16 CR	159	F	1 an
45	16 CR	160	M	6 ans
46	16 CR	161	M	6 ans
47	16 CR	162	F	6 mois
48	16 CR	163	F	6 ans
49	16 CR	164	M	4 ans



			F	6 ans
51	16 CR	166	F	6 mois
52	16 CR	167	F	6 mois
53	16 CR	168	M	9 ans
54	16 CR	169	M	6 mois
55	16 CR	170	F	6 ans
56	16 CR	171	F	6 ans
57	16 CR	172	F	6 ans
58	16 CR	173	F	3 mois
59	16 CR	174	M	2 ans
60	16 CR	175	M	9 ans
61	16 CR	176	F	6 ans
62	16 CR	177	F	6 mois
63	16 CR	178	F	6 mois
64	16 CR	179	M	4 ans
65	16 CR	180	F	3 mois
66	16 CR	181	F	3 mois
67	16 CR	182	M	6 ans



			F	2 ans
69	16 CR	184	F	6 ans
70	16 CR	185	F	6 ans
71	16 CR	186	F	6 ans
72	16 CR	187	F	4 mois
73	16 CR	188	M	3 mois
74	16 CR	189	F	6 ans
75	16 CR	190	F	6 ans
76	16 CR	191	M	9 ans
77	16 CR	192	M	2 ans
78	16 CR	193	M	6 ans
79	16 CR	194	M	6 ans
80	16 CR	195	M	3 mois
81	16 CR	196	M	6 ans
82	16 CR	197	F	3 mois
83	16 CR	198	F	1 an
84	16 CR	199	F	1an
85	16 CR	200	F	3 mois



			M	3 mois
87	16 CR	202	M	4 ans
88	16 CR	203	F	6 mois
89	16 CR	204	M	3 mois
90	16 CR	205	M	8 ans
91	16 CR	206	F	6 ans
92	16 CR	207	F	6 ans
93	16 CR	208	M	9 ans
94	16 CR	209	F	3 mois
95	16 CR	210	F	6 ans
96	16 CR	211	M	1 an
97	16 CR	212	F	2 ans
98	16 CR	213	F	6 ans
99	16 CR	214	F	6 ans
100	16 CR	215	F	6 ans
101	16 CR	216	F	3 mois
102	16 CR	217	F	1 an
103	16 CR	218	F	3 mois



			F	3 mois
105	16 CR	220	F	6 ans
106	16 CR	221	F	6 ans
107	16 CR	222	F	3 mois
108	16 CR	223	F	6 ans
109	16 CR	224	F	6 ans
110	16 CR	225	F	6 ans
111	16 CR	226	F	3 mois
112	16 CR	227	F	6 ans
113	16 CR	228	F	6 ans
114	16 CR	229	F	2 ans
115	16 CR	230	F	6 ans
116	16 CR	231	F	6 ans
117	16 CR	232	F	3 mois
118	16 CR	233	F	6 ans
119	16 CR	234	F	6 ans
120	16 CR	235	F	6 ans
121	16 CR	236	F	1 an



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Annexe III

			F	6 ans
123	16 CR	238	F	6 ans
124	16 CR	239	F	6 ans
125	16 CR	240	F	9 mois
126	16 CR	241	F	9 ans
127	16 CR	242	F	6 ans
128	16 CR	243	F	6 ans
129	16 CR	244	F	1 an
130	16 CR	245	F	6 mois
131	16 CR	246	F	1 an
132	16 CR	247	F	3 mois

Taille de l'élevage : 200 têtes

Date de prélèvement

Mode de l'élevage : Extensif

J0/J30/J90/J180/J365

Alimentation : Pâturage + Foins + orge + concentré

Déparasitage : non

Numero d'identification			sexe	Age
1	04 LA	249	F	1 an
2	04 LA	250	F	6 mois
3	04 LA	251	F	1 an
4	04 LA	252	F	6 ans
5	04 LA	253	F	6 ans
6	04 LA	254	F	1 an
7	04 LA	255	F	9 mois
8	04 LA	256	F	6 ans
9	04 LA	257	F	6 mois
10	04 LA	258	F	6 ans
11	04 LA	259	F	6 ans
12	04 LA	260	F	9 mois
13	04 LA	261	F	3 mois
14	04 LA	262	F	1 an
15	04 LA	263	F	6 ans
16	04 LA	264	F	1 an
17	04 LA	265	F	6 mois
18	04 LA	266	F	6 ans



			F	9 mois
20	04 LA	268	F	6 ans
21	04 LA	269	F	6 ans
22	04 LA	270	F	1 an
23	04 LA	271	F	1 an
24	04 LA	272	F	3 ans
25	04 LA	273	F	3 mois
26	04 LA	274	F	6 ans
27	04 LA	275	F	6 mois
28	04 LA	276	F	6 ans
29	04 LA	277	F	6 ans
30	04 LA	278	F	1 an
31	04 LA	279	F	6 mois
32	04 LA	280	F	2 ans
33	04 LA	281	F	1 an
34	04 LA	282	F	1 an
35	04 LA	283	F	6 ans
36	04 LA	284	F	6 ans
37	04 LA	285	F	6 ans
38	04 LA	286	M	1 an
39	04 LA	287	F	6 mois
40	04 LA	288	F	6 ans
41	04 LA	289	F	9 mois
42	04 LA	290	F	6 ans



			F	1 an
44	04 LA	292	F	1 an
45	04 LA	293	F	6 ans
46	04 LA	294	F	6 ans
47	04 LA	295	F	2 ans
48	04 LA	296	F	6 ans
49	04 LA	297	F	1 an
50	04 LA	298	F	1 an
51	04 LA	299	F	2 ans
52	04 LA	300	F	6 ans
53	04 LA	301	F	2 ans
54	04 LA	302	F	1 an
55	04 LA	303	F	6 ans
56	04 LA	304	F	3 mois
57	04 LA	305	F	1 an
58	04 LA	306	M	4 ans
59	04 LA	307	F	2 ans
60	04 LA	308	F	6 ans
61	04 LA	309	F	4 ans
62	04 LA	310	F	2 ans
63	04 LA	311	F	1 an
64	04 LA	312	F	6 ans
65	04 LA	313	F	6 ans
66	04 LA	314	F	1 an



			M	8 ans
68	04 LA	316	F	1 an
69	04 LA	317	F	1 an
70	04 LA	318	F	6 ans
71	04 LA	319	F	6 ans
72	04 LA	320	F	1 an
73	04 LA	321	F	6 ans
74	04 LA	322	F	4 ans
75	04 LA	323	F	1 an
76	04 LA	324	F	6 ans
77	04 LA	325	F	2 ans
78	04 LA	326	F	1 an
79	04 LA	327	F	3 ans
80	04 LA	328	F	1 an
81	04 LA	329	F	6 ans
82	04 LA	330	F	3 mois
83	04 LA	331	F	6 mois
84	04 LA	332	F	4 ans
85	04 LA	333	F	1 an
86	04 LA	334	F	6 mois
87	04 LA	335	F	1 an
88	04 LA	336	F	6 mois
89	04 LA	337	F	6 mois
90	04 LA	338	F	1 an



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Annexe III

			F	3 mois
92	04 LA	340	F	9 mois
93	04 LA	341	F	6 mois
94	04 LA	342	F	1 an
95	04 LA	343	F	1 an
96	04 LA	344	F	6 mois
97	04 LA	345	F	6 ans
98	04 LA	346	F	6 ans
99	04 LA	347	M	1 an
100	04 LA	348	F	6 ans

Taille de l'élevage : 250 têtes

Date de prélèvement

Mode de l'élevage :

J0/J30/J90/J180/J365

Alimentation : concentré + orge concassé + foin d'avoine (géniteurs)

Pâturage + Concentré + foin de luzerne + foin d'avoine (femelles allaitantes)

Concentré + foin d'avoine (tous les ovins)

Déparasitage : oui

	Numero d'identification	sexe	Age
1	B02	F	4 – 7 ans
2	B04	F	4 – 7 ans
3	B06	F	4 – 7 ans
4	B07	F	4 – 7 ans
5	B10	F	4 – 7 ans
6	B13	F	4 – 7 ans
7	B14	F	4 – 7 ans
8	B16	F	4 – 7 ans
9	B19	F	4 – 7 ans
10	B21	F	4 – 7 ans
11	B22	F	4 – 7 ans
12	B23	F	4 – 7 ans
13	B25	F	4 – 7 ans
14	B26	F	4 – 7 ans
15	B28	F	4 – 7 ans
16	B32	F	4 – 7 ans
17	B35	F	4 – 7 ans
18	B38	F	4 – 7 ans
19	B41	F	4 – 7 ans
20	B45	F	4 – 7 ans
21	B46	F	4 – 7 ans
22	B47	F	4 – 7 ans
23	B48	F	4 – 7 ans
24	B49	F	4 – 7 ans
25	B58	F	4 – 7 ans
26	B59	F	4 – 7 ans
27	B60	F	4 – 7 ans
28	B67	F	4 – 7 ans
29	B69	F	4 – 7 ans
30	B73	F	4 – 7 ans
31	B74	F	4 – 7 ans
32	B77	F	4 – 7 ans



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Annexe III

		F	4 – 7 ans
		F	4 – 7 ans
35	B80	F	4 – 7 ans
36	B85	F	4 – 7 ans
37	B87	F	4 – 7 ans
38	B88	F	4 – 7 ans
39	B89	F	4 – 7 ans
40	B93	F	4 – 7 ans
41	B94	F	4 – 7 ans
42	B97	F	4 – 7 ans
43	B98	F	4 – 7 ans
44	B105	F	4 – 7 ans
45	B107	F	4 – 7 ans
46	B108	F	4 – 7 ans
47	B109	F	4 – 7 ans
48	B111	F	4 – 7 ans
49	B112	F	4 – 7 ans
50	B114	F	4 – 7 ans
51	B115	F	4 – 7 ans
52	B116	F	4 – 7 ans
53	B117	F	4 – 7 ans
54	B118	F	4 – 7 ans
55	9782	F	4 – 7 ans
56	9735	F	4 – 7 ans

Numero d'identification		sexe	Age
1	F10	F	5 ans
2	F15	F	5 ans
3	F16	F	5 ans
4	F22	F	5 ans
5	F28	F	5 ans
6	F45	F	5 ans



		F	5 ans
8	F51	F	5 ans
9	F52	F	5 ans
10	F59	F	5 ans
11	F66	F	5 ans
12	F71	F	5 ans
13	F75	F	5 ans
14	F75	F	5 ans
15	F76	F	5 ans
16	F79	F	5 ans
17	F80	F	5 ans
18	F81	F	5 ans
19	F82	F	5 ans
20	F85	F	5 ans
21	F87	F	5 ans
22	F88	F	5 ans
23	F89	F	5 ans
24	F92	F	5 ans
25	F93	F	5 ans
26	F97	F	5 ans
27	F98	F	5 ans
28	F100	F	5 ans
29	F102	F	5 ans
30	F106	F	5 ans



		F	5 ans
32	F110	F	5 ans
33	F112	F	5 ans
34	F115	F	5 ans
35	F116	F	5 ans
36	F122	F	5 ans
37	F127	F	5 ans

Numero d'identification		sexe	Age
1	F19/7	F	4 ans
2	F40/7	F	4 ans
3	F01/9	F	2 ans
4	F3/9	F	2 ans
5	F04/9	F	2 ans
6	F07/9	F	2 ans
7	F08/9	F	2 ans
8	F09/9	F	2 ans
9	F11/9	F	2 ans
10	F13/9	F	2 ans
11	F15/9	F	2 ans
12	F17/9	F	2 ans
13	F18/9	F	2 ans
14	F18/9	F	2 ans
15	F20/9	F	2 ans
16	F21/9	F	2 ans
17	F23/9	F	2 ans
18	F27/9	F	2 ans
19	F28/9	F	2 ans
20	F28/9(2)	F	2 ans
21	F29/9	F	2 ans
22	F30/9	F	2 ans
23	F31/9	F	2 ans
24	F33/9	F	2 ans
25	F38/9	F	2 ans
26	F39/9	F	2 ans



		F	2 ans
		F	2 ans
29	F45/9	F	2 ans
30	F46/9	F	2 ans
31	F47/9	F	2 ans
32	F48/9	F	2 ans
33	F50/9	F	2 ans
34	F54/9	F	2 ans

Numéro d'identification		sexe	Age
1	F01/10	F	1 an
2	F02/10	F	1 an
3	F03/10	F	1 an
4	F04/10	F	1 an
5	F05/10	F	1 an
6	F06/10	F	1 an
7	F07/10	F	1 an
8	F08/10	F	1 an
9	F10/10	F	1 an
10	F11/10	F	1 an
11	F12/10	F	1 an
12	F13/10	F	1 an
13	F14/10	F	1 an
14	F15/10	F	1 an
15	F18/10	F	1 an
16	F19/10	F	1 an
17	F20/10	F	1 an



		F	1 an
19	F23/10	F	1 an
20	F24/10	F	1 an
21	F25/10	F	1 an
22	F26/10	F	1 an
23	F27/10	F	1 an
24	F28/10	F	1 an
25	F29/10	F	1 an
26	F31/10	F	1 an
27	F32/10	F	1 an
28	F33/10	F	1 an
29	F34/10	F	1 an
30	F35/10	F	1 an
31	F36/10	F	1 an
32	F37/10	F	1 an
33	F38/10	F	1 an
34	F39/10	F	1 an
35	F40/10	F	1 an
36	F41/10	F	1 an
37	F42/10	F	1 an
38	F44/10	F	1 an
39	F45/10	F	1 an
40	F46/10	F	1 an
41	F47/10	F	1 an



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Annexe III

		F	1 an
43	F49/10	F	1 an
44	F50/10	F	1 an
45	F51/10	F	1 an
46	F53/10	F	1 an
47	F55/10	F	1 an
48	F56/10	F	1 an
49	F57/10	F	1 an
50	F58/10	F	1 an
51	F60/10	F	1 an
52	F61/10	F	1 an
53	F62/10	F	1 an
54	F63/10	F	1 an
55	F64/10	F	1 an
56	F65/10	F	1 an
57	F66/10	F	1 an

Numero d'identification		sexe	Age
1	MO1/10	M	1 an
2	M02/10	M	1 an
3	MO4/10	M	1 an
4	MO5/10	M	1 an
5	MO6/10	M	1 an



		M	1 an
	MO8/10	M	1 an
8	M10/10	M	1 an
9	M11/10	M	1 an
10	M13/10	M	1 an
11	M14/10	M	1 an
12	M15/10	M	1 an
13	M16/10	M	1 an
14	M17/10	M	1 an
15	M18/10	M	1 an
16	M19/10	M	1 an
17	M20/10	M	1 an
18	M21/10	M	1 an
19	M22/10	M	1 an
20	M24/10	M	1 an
21	M25/10	M	1 an
22	M26/10	M	1 an
23	M27/10	M	1 an
24	M28/10	M	1 an
25	M29/10	M	1 an
26	M30/10	M	1 an
27	M31/10	M	1 an
28	M32/10	M	1 an
29	M33/10	M	1 an



		M	1 an
31	M35/10	M	1 an
32	M36/10	M	1 an
33	M37/10	M	1 an
34	M38/10	M	1 an
35	M40/10	M	1 an
36	M41/10	M	1 an
37	M42/10	M	1 an
38	M43/10	M	1 an
39	M44/10	M	1 an
40	M45/10	M	1 an
41	M46/10	M	1 an
42	M47/10	M	1 an
43	M48/10	M	1 an
44	M49/10	M	1 an
45	M51/10	M	1 an
46	M52/10	M	1 an
47	M53/10	M	1 an
48	M54/10	M	1 an
49	M55/10	M	1 an
50	M56/10	M	1 an
51	M57/10	M	1 an
52	M58/10	M	1 an
53	M59/10	M	1 an



PDF Complete

Your complimentary use period has ended. Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Annexe III

		M	1 an
55	M61/10	M	1 an
56	M62/10	M	1 an
57	M64/10	M	1 an
58	M65/10	M	1 an
59	M66/10	M	1 an

Annexe IV

 Institut Pasteur d'Algérie Laboratoire de production de Vaccin Anticlavé	Formulaire d'enregistrement	Réf FCS VAC 0101/01
	FICHE DE CONTRÔLE DE STERILITE	Page : 1/1

Produit Contrôlé : Suspension virale Clavelée : B61, B62

Quantité : 100 ml

Date : 04/11/2012

	Bouillon Nutritif	Thioglycolate	Sabouraud Liquide
J1		-	-
J2	-	-	-
J3	-	-	-
J4	-	-	-
J5	-	-	-
J6			
J7	week-end		
J8	-	-	-
J9	-	-	-
J10	-	-	-
J11	-	-	-
J12	-	-	-
J13	-	-	-
J14	-	-	-

- ☐ Bouillon nutritif : permet la croissance des germes ne présentant pas d'exigences particulières
- ☐ Thioglycolate : Milieu sélectif permettant la croissance des germes anaérobies
- ☐ Bouillon Sabouraud : Convient à la culture et l'identification des levures et des moisissures

	Préparateur	Vérificateur	Approbateur
Prénom et nom	MR. MADANI	KALLI KATINA	
Poste	Chef d'unité		
Signature			



Institut Pasteur d'Algérie
Service des Vaccins Viraux Vétérinaires

Formulaires d'enregistrement

FICHE DE
CONTROLE DE STERILITE

Réf FCS VAC 0101/01

Page : 1/1

Produit Contrôlé : DMEM (exp: 23/12/2010)

Quantité : 10 L / ph = 7.14

Date : 06/01/2013

	Bouillon Nutritif	Bouillon glucosé Tamponné	Thioglycolate	Sabouraud liquide
J1 07/01	—	—	—	—
J2 08/01	—	—	—	—
J3 09/01	—	—	—	—
J4 10/01	—	—	—	—
J5	—	—	—	—
J6	—	—	—	—
J7	—	—	—	—
J8	—	—	—	—
J9	—	—	—	—
J10	—	—	—	—
J11	—	—	—	—
J12	—	—	—	—
J13	—	—	—	—
J14	—	—	—	—

- ☐ Bouillon nutritif : permet la croissance des germes ne présentant pas d'exigences particulières
- ☐ BGT : Convient à la culture des streptocoques et des pneumocoques
- ☐ Thioglycolate : Milieu sélectif permettant la croissance des germes anaérobies
- ☐ Bouillon Sabouraud : Convient à la culture et l'identification des levures et des moisissures
- ☐ Gélose de Sabouraud +chloramphénicol : Recommandé pour l'isolement des dermatophytes et autre champignons pathogènes

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Prénom(s) et nom	Kelli Kahina		
Poste			
signature			



Institut Pasteur d'Algérie
Service des Vaccins Viraux Vétérinaires

Formulaires d'enregistrement

Réf FCS VAC 0101/01

FICHE DE
CONTROLE DE STERILITE

Page : 1/1

Produit Contrôlé : Trypsine Versene (0.5g)

Quantité : 2 L

Date : 23/12/2012

	Bouillon Nutritif	Bouillon glucosé Tamponné	Thioglycolate	Sabouraud liquide	Sabouraud gélifié
J1	—	—	—	—	
J2	—	—	—	—	
J3	—	—	—	—	
J4	—	—	—	—	
J5	—	—	—	—	
J6	—	—	—	—	
J7	—	—	—	—	
J8	—	—	—	—	
J9	—	—	—	—	
J10	—	—	—	—	
J11	—	—	—	—	
J12	—	—	—	—	
J13	—	—	—	—	
J14	—	—	—	—	

- ☐ Bouillon nutritif : permet la croissance des germes ne présentant pas d'exigences particulières
- ☐ BGT : Convient à la culture des streptocoques et des pneumocoques
- ☐ Thioglycolate : Milieu sélectif permettant la croissance des germes anaérobies
- ☐ Bouillon Sabouraud : Convient à la culture et l'identification des levures et des moisissures
- ☐ Gélose de Sabouraud +chloramphénicol : Recommandé pour l'isolement des dermatophytes et
autre champignons pathogènes

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Prénom(s) et nom	KALLI Kahina	SABDA NAIM	
Poste			
signature			



Institut Pasteur d'Algérie
Service des Vaccins Viraux Vétérinaires

Formulaires d'enregistrement

Réf FCS VAC 0101/01

FICHE DE
CONTROLE DE STERILITE

Page : 1/1

Produit Contrôlé : Trypsine Versene 2.5g

Quantité : 1 L

Date : 30/12/2012

	Bouillon Nutritif ^{37°}	Bouillon glucosé Tamponné ^{37°}	Thioglycolate ^{5. 37°}	Sabouraud liquide ^{To Ambiant}	Sabouraud gélifié ^{5. To Ambiant}
J1	-		-	-	
J2	-		-	-	
J3	-		-	-	
J4	-		-	-	
J5	-		-	-	
J6	-		-	-	
J7	-		-	-	
J8	-		-	-	
J9	-		-	-	
J10	-		-	-	
J11	-		-	-	
J12	-		-	-	
J13	-		-	-	
J14	-		-	-	

- ☐ Bouillon nutritif : permet la croissance des germes ne présentant pas d'exigences particulières
- ☐ BGT : Convient à la culture des streptocoques et des pneumocoques
- ☐ Thioglycolate : Milieu sélectif permettant la croissance des germes anaérobies
- ☐ Bouillon Sabouraud : Convient à la culture et l'identification des levures et des moisissures
- ☐ Gélose de Sabouraud +chloramphénicol : Recommandé pour l'isolement des dermatophytes et
autre champignons pathogènes

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Prénom(s) et nom	HAMIDOUCHE Med	KALLI Khena	
Poste			
signature			

Annexe V



PDF Complete

Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Annexe V

Réactifs

Milieux de culture	Référence	Date d'expiration
DMEM	Réf: CM0DME60-08, 5litres (sec), lot 980526	23/12/2010
SVF	Ref: CVFSVF00-01, 500ml, lot: S34139-1087	31/07/2012
Trypsine:	Trypsin 1:250, T-4799, 25g, lot 064K7699	
Versene: EDTA	E6511-100G, lot 024K0007	
Gentamycine	G1264-5G	
Neomycine	N6386-25g	
Amphotericine B	A2411-250mg	
L-Glutamine	250g, G15-17, lot 83H0988	
HBSS		

PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE : DMEM (DULBECCO'S MODIFIED EAGLE MEDIUM)

Le milieu pour cultures cellulaires est préparé à partir de milieu en poudre, fourni par le fabricant sous forme de flacons.

Présentation

Les flacons de milieu en poudre pour la reconstitution d'un litre de milieu

Les flacons de milieu en poudre pour la reconstitution de 5 litres de milieu

Le milieu en poudre doit être :

- Reconstitué dans de l'eau permutée ou purifiée
- Adjontion de bicarbonate de sodium et solution d'antibiotiques-antimycotiques
- Ajusté à pH 7.4
- Stérilisé par filtration sur membrane filtrante de 0.22 μ

MODE OPERATOIRE

- 1- Mesurer 90% du volume final d'eau permutée dans un flacon contenant un barreau aimanté
- 2- Placer le flacon sur agitateur magnétique
- 3- Verser le contenu du flacon de milieu en poudre
- 4- Ajouter du bicarbonate de sodium (NaHCO_3) à raison de 1.2 g/litre¹
- 5- Ajouter la solution d'antibiotiques-antimycotiques à raison de 2 ml/litre
- 6- Laisser tourner sur agitation magnétique jusqu'à dissolution complète
- 7- Ajouter le restant d'eau permutée
- 8- Mesurer le pH sur une petite quantité de milieu prélevée dans un flacon
- 9- Ajuster le pH si nécessaire à 7.4 par adjontion de gouttes d'acide chlorhydrique (HCL)
- 10- Pré filtrer (sous hotte) sur membrane filtrante de 0.45 μ
- 11- Filtrer (sous hotte) sur membrane filtrante de 0.22 μ
- 12- Répartir le milieu, selon convenance, en flacons de 100, 250, ou 500ml
- 13- Placer les flacons à l'étuve (37°C) pour au moins 48h (control de stérilité)
- 14- Conserver les flacons au réfrigérateur à +4°C
- 15- Avant utilisation, ramener à 37°C au bain marie

¹ On peut préparer une plus grande quantité de milieu, en respectant la proportion des additifs (Bicarbonate de sodium et antibiotiques)

PREPARATION DE LA SOLUTION

TRYPSINE - VERSENE

MODE OPERATOIRE (Pour la préparation d'un litre de solution) ¹

- 1- Préparer une solution de rouge de phénol à 0.5% dans de l'eau permutée

Comme on n'utilisera que 0.4ml/ litre de cette solution dans la préparation finale, il ne sera pas nécessaire d'en faire beaucoup, 50 ml suffiront amplement

Faite dissoudre 0.25g de rouge phénol en poudre dans 50 ml d'eau permutée

- 2- Verser 900 ml d'eau permutée dans un flacon contenant un barreau aimanté

- 3- Peser et ajouter les ingrédients suivants dans les proportions données

NaCL (Chlorure de sodium)	8 g
KCL (Chlorure de potassium)	0.4 g
C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O (Glucose)	1g
NaHCO ₃ (bicarbonate de sodium)	0.58 g
Trypsine (poudre)	0.5 g
Versène EDTA	0.2 g

- 4- Mettre le flacon sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète
- 5- Ajouter 0.4 ml de la solution de rouge phénol
- 6- Ajouter 2 ml de (solution antibiotique- antimycotique) ²
- 7- Compléter jusqu'à 1 litre avec de l'eau permutée
- 8- Pré filtrer sous hotte sur membrane filtrante à 0.45μ
- 9- Filtrer sous hotte sur membrane filtrante à 0.22μ
- 10- Répartir en flacons
- 11- Conserver à - 20°C
- 12- Avant utilisation, décongeler et ramener à 37°C au bain marie

¹ On peut préparer une plus grande quantité de solution en respectant la proportion des ingrédients.

² La solution antibiotique-antimycotique est préparée selon la Fiche N° 6

PREPARATION DE LA SOLUTION

PBS (Phosphate Buffered Saline)

MODE OPERATOIRE

(Pour la préparation d'un litre de solution) ¹

- 1- Verser 900 ml d'eau permutée dans un flacon contenant un barreau aimanté
- 2- Peser et ajouter les ingrédients suivants dans les proportions données

NaCL (Chlorure de sodium)	8 g
Na ₂ HPO ₄ (Phosphate disodique)	1.15 g
NaH ₂ PO ₄ (Phosphate de sodium monobasique)	0.2 g

- 3- Mettre le flacon sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète
- 4- Ajouter 2 ml de (solution antibiotique- antimycotique) ²
- 5- Compléter jusqu'à 1 litre avec de l'eau permutée
- 6- Répartir en flacons selon convenance
- 7- Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 1 heure
- 8- Conserver au réfrigérateur à +4°C
- 9- Ramener à 37°C au bain marie avant utilisation

¹ On peut préparer une plus grande quantité de solution en respectant la proportion des ingrédients.

² La solution antibiotique – antimycotique est préparée selon la Fiche N° 6

PREPARATION DE LA SOLUTION TRYPSINE - HBSS

COMPOSITION

Solution HBSS (Hank's Balanced Salt Solution), additionné de trypsine à 3g/litre.

MODE OPERATOIRE

(Pour la préparation d'un litre de solution)

1- Préparer la solution A₁

- Peser et verser dans un erlen de 100 ml muni d'un barreau aimanté

NaCL (Chlorure de sodium)	8 g
KCL (Chlorure de potassium)	0.4 g
MgSO ₄ (Sulfate de Magnésium)	0.2 g
Eau permutée	40 ml

- Placer l'erlen sur agitation magnétique jusqu'à dissolution complète

2- Préparer la solution A₂

- Peser et verser dans un erlen de 100 ml muni d'un barreau aimanté

CaCL ₂ (Chlorure de calcium)	0.19 g
Eau permutée	5 ml

- Placer l'erlen sur agitation magnétique jusqu'à dissolution complète

3- Mélanger A₁ et A₂ et ajuster à 50 ml

4- Stériliser la solution (A₁ + A₂) à l'autoclave pendant 20 mn à 120°C

PREPARATION DE LA SOLUTION**TRYPSINE - HBSS****5- Préparer la solution B**

- Peser et verser dans un erlen de 100 ml muni d'un barreau aimanté

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Phosphate disodique à 12 H_2O)	0.19 g
KH_2PO_4 (Phosphate monopotassique)	0.06 g
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Glucose)	0.2 g
Eau permutée	50 ml

- Placer l'erlen sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète

6- Stériliser la solution (B) à l'autoclave pendant 20 mn à 120°C**7- Préparer la solution C**

- Peser et verser dans un erlen de 100 ml muni d'un barreau aimanté

NaHCO_3 (Bicarbonate de sodium)	0.35 g
Rouge de phénol	0.02 g
Eau permutée	25 ml

8- Mélanger les solutions ($A_1 + A_2$) et B dans un flacon de 1 litre, muni d'un barreau aimanté et ajuster à un litre donc ajouter 860 ml d'eau permutée**9- Ajouter la solution C****10- Ajouter la solution antibiotique-antimycotique 2 ml****11- Ajouter la trypsine en poudre 3g****12- Placer l'erlen sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète****13- Pré filtrer sous hotte sur membrane filtrante de 0.45 μ** **14- Filtrer sous hotte sur membrane filtrante de 0.22 μ** **15- Répartir en flacons selon convenance****16- Conserver au congélateur à -20°C****17- Avant utilisation, décongeler et ramener à 37°C au bain-marie**

PREPARATION DE LA SOLUTION

ANTIBIOTIQUE / ANTIMYCOTIQUE

COMPOSITION

La Solution est constituée du mélange d'un antimycotique, l'Amphotéricine B (Fungizone), et d'une association de deux antibiotiques, soit Kanamycine et Néomycine, soit Gentamycine et Néomycine.

Gentamycine sulfate	2.5 g
Néomycine sulfate	2.5 g
Amphotéricine B	0.28 g
Eau permutée stérile	100 ml

ou

Kanamycine monosulfate	5 g
Néomycine sulfate	2.5 g
Amphotéricine B	0.28 g
Eau permutée stérile	100 ml

MODE OPERATOIRE

- 1- Mesurer 100 ml d'eau permutée stérile dans un erlen muni d'un barreau aimanté.
- 2- Placer l'erlen sur un agitateur magnétique
- 3- Peser et transférer dans l'erlen chacun des composants (attendre la dissolution complète de chaque composant avant d'ajouter le suivant)
- 4- Pré filtrer sous hotte sur membrane filtrante de 0.45 μ
- 5- Filtrer sur membrane filtrante de 0.22 μ
- 6- Répartir dans des tubes à congélation, à raison de 2 ml/tube
- 7- Conserver les tubes au congélateur a -20°C

Annexe VI

Consommable

Consommable	Marque
Microplaques 96 puits, à fond plat, stériles, avec couvercles	Microtest™ (FALCONE®) Nunclon™Surface (NUNC®)
Embouts 1000 µl et 200µl	Sorenson™ (Bioscience), Ultratip (Greiner bio-one)
Boîtes de culture cellulaire stériles type Falcon (25cm², 75cm², 150cm²)	CORNING®
Tubes coniques stériles	CORNING®
Cryotubes stériles	Cryo.S™ (Greiner bio-one)
Tubes à vis 10ml stériles	
Système de filtration à usage unique	Sterivac™, Stericup™ (Millipore)
Membranes filtrantes 0,22µm et 0,45µm	Millipore
Filtres à seringues à usage unique, stériles	Millex®GS 0,22µm (Millipore) Acrodisc® 0,2µm (Pall)
Seringues stériles	
Compressees stériles	
Gants, blouses, charlottes, masques, protèges chaussures stériles	
Eau distillée, eau bi distillée stérile	
Alcool	
Papier aluminium, papier adhésif, marqueur permanent	

Equipements de laboratoire

Equipement	Modèle / Marque
Agitateur magnétique et barreaux aimantés stériles	Ika-Combimag®
Autoclave	Lequeux®
Bain-Marie	Kika Werke®, Memmert®
Balance de précision	Sartorius®
Bec benzène	
Bombonne d'azote liquide	Taylor Wharton®
Cellule de numération de Malassez pour le comptage des cellules	
Centrifugeuse réfrigérée	Thermo Scientific Heraus multifuge 3LR®
Chronomètre	
Congélateur -20 °C	AEG®
Congélateur -70 °C	BMS 690 Froilabo®
Dispositifs de filtration	Millipore®
Etuve	Memmert®
Etuve à CO₂	Thermo Scientific Hera cell 150i®Co2 incubateur
Four Pasteur	Lequeux®
Hotte à flux laminaire verticale	SIBM Plastec®
Matériel de dissection, plateaux...	
Micropipettes réglables P1000 et P100	Nichipet®, Costar®
Microscope photonique inversé	Zeiss®
ph mètre	Hanna® instruments
Pipettes en verres graduées 1ml, 2ml, 5ml, 10ml	
Pipetus (pipette-aide) électrique	Pipetus®akku
Pompe à vide	Millipore®
Portoirs pour tubes boîtes porte-embouts	Mettler Toledo Liquisystems
Réfrigérateur	ENIEM®
Stérilisateur d'ambiance	Phagogene®
Système de purification et filtration d'eau	Millipore
Verrerie diverse (Becher, Erlenmeyer, flacons)	
Vortex	Fisher scientific®

Annexe VII

Annexe VIII

Décret exécutif n° 06-118 du 12 Safar 1427 correspondant au 12 mars 2006 complétant le décret exécutif n° 88-252 du 31 décembre 1988 fixant les conditions d'exercice à titre privé des activités de médecine vétérinaire et de chirurgie des animaux.

Le Chef du Gouvernement,

Sur le rapport du ministre de l'agriculture et du développement rural,

Vu la Constitution, notamment ses articles 85-4° et 125 (alinéa 2) ;

Vu la loi n° 88-08 du 26 janvier 1988 relative aux activités de médecine vétérinaire et à la protection de la santé animale ;

Vu le décret présidentiel n° 04-136 du 29 Safar 1425 correspondant au 19 avril 2004 portant nomination du Chef du Gouvernement ;

Vu le décret présidentiel n° 05-161 du 22 Rabie El Aouel 1426 correspondant au 1er mai 2005 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 88-252 du 31 décembre 1988, complété, fixant les conditions d'exercice à titre privé, des activités de médecine vétérinaire et de chirurgie des animaux ;

Vu le décret exécutif n° 90-12 du 1er janvier 1990, modifié et complété, fixant les attributions du ministre de l'agriculture ;

Vu le décret exécutif n° 90-240 du 4 août 1990 fixant les conditions de fabrication, de mise en vente et de contrôle des médicaments vétérinaires ;

Décète :

Article 1er. — Le présent décret a pour objet de compléter les dispositions du décret exécutif n° 88-252 du 31 décembre 1988, complété, susvisé.

Art. 2. — Il est inséré dans les dispositions du décret exécutif n° 88-252 du 31 décembre 1988, complété, susvisé, un *article 3 ter* rédigé comme suit :

«*Art. 3 ter.* — Le vétérinaire exerçant à titre privé peut être suspendu à titre conservatoire par l'autorité vétérinaire nationale en attendant de statuer sur sa situation pour un délai allant de trois (3) mois à une (1) année, pour les cas suivants :

— vente de médicaments vétérinaires à l'éleveur à l'exception des prescriptions liées au dernier alinéa de l'article 40 du décret exécutif n° 90-240 du 4 août 1990, susvisé ;

— mise à la disposition de l'éleveur de produits vétérinaires injectables ;

— utilisation de médicaments vétérinaires périmés ;

— procéder à des essais cliniques sans autorisation préalable de l'autorité vétérinaire nationale ;

— détention et utilisation de produits vétérinaires ne bénéficiant pas d'autorisation de mise sur le marché ;

— délivrance de certificats, de documents officiels et d'attestations de complaisance ;

— omettre de signaler la fermeture du cabinet vétérinaire à l'inspecteur vétérinaire de wilaya pour une période dépassant les dix (10) jours ;

— se faire remplacer par une personne non autorisée à pratiquer la médecine vétérinaire ;

— manquements du vétérinaire considérés comme fautes professionnelles par l'autorité vétérinaire nationale ;

— la non-déclaration de maladies animales à déclaration obligatoire ;

— la non transmission périodique du bilan d'activités vétérinaires à l'autorité vétérinaire nationale ;

— mauvaise conduite du vétérinaire envers les animaux lors de manipulations ».

Art. 3. — Le présent décret sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 12 Safar 1427 correspondant au 12 mars 2006.

Ahmed OUYAHIA.

-----★-----

Décret exécutif n° 06-119 du 12 Safar 1427 correspondant au 12 mars 2006 modifiant et complétant le décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995 fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables.

Le Chef du Gouvernement,

Sur le rapport du ministre de l'agriculture et du développement rural,

Vu la Constitution, notamment ses articles 85-4° et 125 (alinéa 2) ;

Vu la loi n° 85-05 du 16 février 1985, modifiée et complétée, relative à la protection et à la promotion de la santé ;

Vu la loi n° 88-08 du 26 janvier 1988 relative aux activités de médecine vétérinaire et à la protection de la santé animale ;

Vu la loi n° 90-08 du 7 avril 1990, complétée, relative à la commune ;

Vu la loi n° 90-09 du 7 avril 1990, complétée, relative à la wilaya ;

Vu le décret présidentiel n° 04-136 du 29 Safar 1425 correspondant au 19 avril 2004 portant nomination du Chef du Gouvernement ;

Vu le décret présidentiel n° 05-161 du 22 Rabie El Aouel 1426 correspondant au 1er mai 2005 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 88-252 du 31 décembre 1988, complété, fixant les conditions d'exercice à titre privé des activités de médecine vétérinaire et de chirurgie des animaux ;

Vu le décret exécutif n° 90-12 du 1er janvier 1990, modifié et complété, fixant les attributions du ministre de l'agriculture ;

Vu le décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables ;

Décrète :

Article 1er. — Le présent décret a pour objet de modifier et compléter les dispositions du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, susvisé.

Art. 2. — Les dispositions de l'article 2 du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, susvisé, sont modifiées et complétées comme suit :

“Art. 2. — Les maladies animales à déclaration obligatoire sont les suivantes :

- La fièvre aphteuse ;
- La peste bovine ;
- La peste équine ;
- La péripneumonie contagieuse bovine ;
- La rage chez toutes les espèces ;
- La clavelée et la variole caprine ;
- La maladie de Newcastle ;
- L'influenza aviaire ;
- La fièvre charbonneuse chez toutes les espèces de mammifères ;
- La fièvre catarrhale du mouton ;
- La tuberculose bovine ;
- La brucellose dans les espèces bovine, ovine, caprine et cameline ;
- L'anémie infectieuse des équidés ;
- La métrite contagieuse équine ;
- La dourine ;
- La morve ;
- La rhinotrachéite infectieuse bovine ;
- La leucose bovine enzootique ;
- La myiase à *Cochliomyia Hominivorax* ;
- La myiase à *Chrysomya Bezziana* ;
- La campylobactériose génitale bovine ;
- La trichomonose bovine ;
- L'échinococcose/hydatidose ;
- La cysticercose ;
- Le charbon symptomatique ;
- L'avortement enzootique des brebis ;

- La gale des équidés ;
- La paratuberculose ;
- La fièvre Q ;
- La leptospirose bovine ;
- La bronchite infectieuse aviaire ;
- La maladie de Marek ;
- Le choléra aviaire ;
- La bursite infectieuse (maladie de Gumboro) ;
- La variole aviaire ;
- L'ornithose/psittacose ;
- les leucoses aviaires ;
- La myxomatose ;
- La maladie hémorragique virale du lapin ;
- La tularémie ;
- La varroase des abeilles ;
- La loque européenne ;
- La loque américaine ;
- La nosémose ;
- L'acariose des abeilles (acarapisose) ;
- L'infestation des abeilles par l'acarien *Tropilaelaps* ;
- L'infestation de la ruche par le coléoptère *Aethina Tumida* ou “ petit scarabée de la ruche ” ;
- La variole cameline ;
- La trypanosomose des camelins à *T. evansi* (surra) ;
- la trypanosomose (transmise par la mouche tsé-tsé) ;
- La leishmaniose ;
- La peste des petits ruminants ;
- L'encéphalopathie spongiforme des bovins ;
- La fièvre de la vallée du Rift ;
- Les Salmonelloses aviaires à *Salmonella Enteritidis*, *Typhimurium*, *Arizona*, *Dublin*, *Paratyphi* et *Pullorum Gallinarum* ;
- La tremblante ;
- Les encéphalites équines sous toutes leurs formes ;
- Les salmonelloses bovines ;
- La listériose ;
- La rhinopneumonie des équidés ;
- La maedi-Visna ;
- La piroplasmose ;
- La babésiose bovine ;
- L'encéphalomyélite aviaire ;
- La rhinotrachéite infectieuse aviaire ;
- L'entérite hémorragique de la dinde ;
- Le coryza gangréneux ;
- L'adénomatose pulmonaire ovine ;
- La maladie de Nairobi ;
- La salmonellose ovine (*S. abortusovis*) ;
- L'épididymite ovine (*Brucella ovis*) ;
- L'entérite virale du canard ;
- L'hépatite virale du canard ;
- La toxoplasmose ;
- La lymphangite épizootique ;

- L'artérite virale équine ;
- La variole équine ;
- La stomatite vésiculeuse ;
- La dermatose nodulaire contagieuse ;
- La cowdriose ;
- La trichinellose ;
- L'anaplasmose bovine ;
- La dermatophilose ;
- La septicémie hémorragique ;
- La théilériose ;
- L'arthrite/encéphalite caprine (CAE) ;
- L'agalaxie contagieuse ;
- La pleuropneumonie contagieuse caprine ;
- La grippe équine ;
- La laryngotrachéite infectieuse aviaire ;
- La tuberculose aviaire ;
- La mycoplasmosse aviaire (*M. Gallisepticum*) ;
- La chlamydie aviaire. “

Art. 3. — Les dispositions de l'article 4, 3^{ème} tiret du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, susvisé, sont modifiées comme suit :

“Art. 4. — Un animal est déclaré atteint d'une maladie à déclaration obligatoire :

.....(Sans changement).....

— lorsque la maladie est confirmée par un laboratoire agréé par le ministre chargé de l'agriculture”.

Art. 4. — Les dispositions de l'article 10 (2^{ème} alinéa) du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, susvisé, sont modifiées comme suit :

“Art. 10. —(Sans changement).....

L'arrêté doit comporter la déclaration des trois (3) zones concentriques prévues par les dispositions de l'article 69 de la loi n° 88-08 du 26 janvier 1988, susvisée”.

Art. 5. — Le présent décret sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 12 Safar 1427 correspondant au 12 mars 2006.

Ahmed OUYAHIA.

DECISIONS INDIVIDUELLES

Décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006 mettant fin aux fonctions du directeur général de la solidarité nationale au ministère de l'emploi et de la solidarité nationale.

Par décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006, il est mis fin aux fonctions de directeur général de la solidarité nationale exercées par M. Abdallah Bouchenak-Khelladi au ministère de l'emploi et de la solidarité nationale, appelé à exercer une autre fonction.

-----★-----

Décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006 mettant fin aux fonctions du directeur général de l'office national du tourisme.

Par décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006, il est mis fin aux fonctions de directeur général de l'office national du tourisme exercées par M. Abdelaali Tir, appelé à exercer une autre fonction.

Décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006 portant nomination du secrétaire général du ministère des participations et de la promotion des investissements.

Par décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006, M. Driss Tandjaoui est nommé secrétaire général du ministère des participations et de la promotion des investissements.

-----★-----

Décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006 portant nomination du secrétaire général du ministère de la culture.

Par décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006, M. Abdelaali Tir est nommé secrétaire général du ministère de la culture.

-----★-----

Décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006 portant nomination du secrétaire général du ministère de l'emploi et de la solidarité nationale.

Par décret présidentiel du 28 Moharram 1427 correspondant au 27 février 2006, M. Abdallah Bouchenak-Khelladi est nommé secrétaire général du ministère de l'emploi et de la solidarité nationale.

Annexe IX

ANNEXE I

LE MANDAT SANITAIRE

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'AGRICULTURE
ET DU DEVELOPPEMENT RURAL**
*DIRECTION DES SERVICES AGRICOLES
DE LA WILAYA D'ALGER*

DECISION

**MANDAT SANITAIRE POUR LA CAMPAGNE DE VACCINATION
ANTI-CLAVELEUSE DES OVINS, ANTI-APHTEUSE ET ANTI-RABIQUE DES
BOVINS, CONTRE LA BRUCELLOSE DES PETITS RUMINANTS ET TOUTE
AUTRES ACTIONS PROPHYLACTIQUES POUR L'ANNEE 2013**

- Vu le décret exécutif N°03-173 du 12 safar 1424 correspondant au 14 avril 2003 fixant les modalités de mobilisation des vétérinaires en cas d'épizootie et lors d'opération de prophylaxie collective des maladies des animaux ordonnées par l'autorité vétérinaire nationale, notamment ses articles 2 et 3 ;
- Vu l'arrêté du 28 Ramadhan correspondant au 30 novembre 2003 fixant les modalités d'attribution du mandat sanitaire aux vétérinaires praticiens exerçant à titre privé pour la réalisation des programmes de prévention et d'éradication des maladies animales, ordonnées par l'autorité vétérinaire nationale;
- Vu la demande du Drpraticien privé exerçant à Et sur proposition de l'inspectrice vétérinaire de wilaya ;

DECIDE

ARTICLE 1 : le mandat sanitaire prévu par le décret exécutif 03-173 du 12 Safar 1424 correspondant au 14 Avril 2003, susvisé, est octroyé à Mr.....médecin vétérinaire praticien exerçant à titre privé à N°AVN.....(numéro d'enregistrement à l'autorité vétérinaire nationale).

ARTICLE 2 : Le vétérinaire cité à l'article 1 ci-dessus, s'engage à respecter les dispositions édictées par le cahier des charges n°..... du.....

ARTICLE 3 : Le mandat sanitaire est octroyé aux vétérinaires praticiens privés pour une durée d'une année renouvelable.

ARTICLE 4 : Le mandat sanitaire peut être retiré :

- A la demande de l'intéressé
- En cas de non respect des dispositions du cahier des charges cité à l'article 2 ci-dessus.

ARTICLE 5 : L'inspectrice vétérinaire de wilaya est chargée de l'exécution de la présente décision.

Fait à Alger, le.....

LE Directeur Des Services Agricoles

ANNEXE II

**CAHIER DES CHARGES RELATIF AU MANDAT
SANITAIRE
PORTANT CAMPAGNE DE VACCINATION
ANTI-APHTEUSE, ANTI-RABIQUE BOVINE
ET ANTI-CLAVELEUSE OVINE ET CONTRE LA
BRUCELLOSE ET TOUTE AUTRE ACTION
PROPHYLACTIQUE**

REF N°/IVWA//DSADR/ 13 DU/...../2013

ARTICLE 1ER :

Le présent cahier des charges a pour objet de définir les droits et obligations des vétérinaires praticiens exerçant à titre privé dans le cadre de la campagne de vaccination anti-aphteuse, anti-rabique pour les bovins*, anti-claveleuse pour les ovins*, la vaccination contre la brucellose des petits ruminants*, de prélèvements de sang*, de dépistage* en vue de la recherche de maladies et toutes autres actions prophylactiques pour l'année 2013

ARTICLE 2 :

Le présent cahier des charges est établi entre Dr
n° d'enregistrement à l'autorité vétérinaire(AVN), vétérinaire praticien exerçant à et Dr **BAAZIZI RATIBA**
inspectrice vétérinaire de la wilaya d'Alger

ARTICLE 3 :

L'inspectrice vétérinaire de wilaya s'engage à mettre à la disposition du vétérinaire praticien exerçant à titre privé dûment mandaté, la quantité de vaccins nécessaire à la réalisation de sa mission, ainsi que toute autre matériels nécessaire aux actions prophylactiques, selon le programme d'intervention établi par l'inspection vétérinaire de wilaya.

ARTICLE 4 :

Le vétérinaire praticien exerçant à titre privé désigné à l'article 2 ci-dessus s'engage, sur la base du programme d'intervention arrêté, à intervenir dans la ou les zone(s) suivante(s).....dont l'effectif est de
.....bovins* ovins*,caprins*,camelins* et
.....équins*.

ARTICLE 5 :

Le vétérinaire praticien exerçant à titre privé dûment mandaté s'engage à :

- Respecter les conditions de conservation des vaccins et des produits biologiques mis à sa disposition ;
- Remettre, sous quinzaine, à l'inspectrice vétérinaire de la subdivision, un bilan comportant la liste des éleveurs qui ont bénéficié de l'intervention vétérinaire ainsi que l'effectif touché ;
- Etablir un certificat vétérinaire en triple (3) exemplaire portant le nom de l'éleveur, la date de l'intervention ainsi que le nombre d'animaux touchés.

L'original du certificat est remis à l'inspectrice vétérinaire de wilaya qui procédera à sa contre signature. Une copie de ce certificat doit être remise au propriétaire du cheptel ayant bénéficié de cette intervention.

ARTICLE 6 :

Le vétérinaire praticien exerçant à titre privé dûment mandaté doit établir des bilans mensuels et un bilan final et procédera à la restitution de la totalité des flacons de vaccins vides, entamés ou non utilisés et des produits biologiques entamés ou non.

ARTICLE 7 :

Le paiement du vétérinaire dûment mandaté, s'effectue sur le fond de la promotion zoonosanaire et de la protection phytosanitaire, sur présentation d'un dossier comportant : le bilan mensuel, et/ou le bilan final et les originaux des certificats de vétérinaire contresignés par l'inspectrice vétérinaire de wilaya, ainsi qu'une copie du cahier des charges dûment signé et une copie du mandat sanitaire.

ARTICLE 8 :

Toute perturbation dans l'exécution du programme d'intervention doit être signalée immédiatement à l'inspection vétérinaire de wilaya.

ARTICLE 9 :

En cas de non respect des dispositions du présent cahier des charges, l'annulation de ce dernier est prononcée.

Fait à **Alger**, le

LE MEDECIN VETERINAIRE

**L'INSPECTRICE VETERINAIRE
DE WILAYA**

LE DIRECTEUR DES SERVICES AGRICOLES

*Rayer la mention inutile



En Algérie, la prophylaxie de la clavelée est basée sur l'utilisation d'un vaccin vivant, atténué : **Le Clavax®**, produit à partir de la souche RM 65, dont l'efficacité sur le terrain n'est pas connue.

La présente étude a eu pour premier objectif, la mise au point de la technique de séro-neutralisation sur culture cellulaire primaire RM et la validation d'un nouveau support cellulaire, en l'occurrence les cellules de lignée continue VERO. Le second objectif, a été l'étude de l'évolution des titres des sérums post-vaccinaux conférés par le **Clavax®** sur une durée de 365 jours, sur les deux supports cellulaires.

La mise en évidence de résultats superposables entre les titrages des sérums post-vaccinaux effectués sur les deux supports cellulaires, nous ont permis de valider les cellules VERO comme support cellulaire au titrage des sérums post vaccinaux.

Les résultats obtenus ouvrent des perspectives à l'utilisation de cellules de lignée continue VERO et permettront de s'affranchir à l'avenir de l'utilisation particulièrement lourde et coûteuse des cellules primaires dans l'évaluation régulière des titres immuns par séro-neutralisation.

Mots clés : Clavelée, souche RM65, **Clavax®**, titrage, séroneutralisation, culture cellulaire, cellules primaires RM, cellules de lignée continue VERO

Summary

In Algeria, the prophylaxis of Sheep pox is based on the utilization of a live attenuated vaccine, named Clavax®, produced from RM56 strain, with an unknown efficiency.

The first aim of the present study, is the development of sero-neutralization assay on RM primary cell culture, and validation of this assay on the VERO cells. The second objective was the study of the evolution of titrations of the post-vaccinated sera conferred by the Clavax® during a period of 365 days on the two cellular supports.

The revealed superimposable results between the titrations of post-vaccinated sera performed on the two cellular supports, allowed us to validate the VERO cells as an appropriate cellular support for the titration of post-vaccinated sera

The obtained results opened up perspectives for the utilization of VERO cells, and allowing in the future avoiding the heavy and expensive use of the primary cells in the regular evaluation of immune titrations with seroneutralization.

Key words: Sheep pox, RM65 strain, **Clavax®**, titration, séroneutralization, cellular culture, RM primary cells, VERO continue line cells

ملخص

إن الوقاية ضد مرض جدري الأغنام في الجزائر تكمن في استعمال لقاح حي مضعف " كلافاكس® ", المصنوع من سلالة RM65 الذي لا تعلم فعاليته في الميدان .

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تطوير تقنية تعديل المصل في الزراعة الخلوية الأولية RM و اعتماد دعم خلوي جديد , بالأحرى هي الخلايا ذات النمط المستمر VERO , أما الهدف الثاني فهو دراسة تطور تركيز المصل الممنوحة بعد استعمال لقاح " كلافاكس® " خلال فترة 365 يوم و باستعمال الدعين الخليويين المعتمدين في هذه الدراسة .

تسليط الضوء على النتائج المتطابقة بين تراكيز الأمصال الممنوحة بعد اللقاح على الدعين الخليويين , مكنتنا من مصادقة الدعم الخلوي VERO كدعم لحساب تركيز المصل بعد اللقاح .

النتائج المحصل عليها تفتح آفاق استعمال الدعم الخليوي المستمر VERO , كما تسمح بتجنب العوائق المستقبلية في الاستعمال الصعب و المكلف للخلايا الأولية في التقييم المنتظم لتراكيز المناعة بواسطة تقنية تعديل المصل .

الكلمات الدالة:

جدري الأغنام , السلالة RM 65 , كلافاكس® , حساب التركيز , تعديل المصل , الزراعة الخلوية , الخلايا الأولية RM , الخلايا ذات النمط المستمر VERO