

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DU VIRUS DE LA VARIOLE DU DROMADAIRE AU MAROC. MISE AU POINT DU VACCIN ET APPLICATION À LA PROPHYLAXIE

Mehdi EL HARRAK^{*}, Chafiq LOUTFI^{*} & Bachir HARIF^{*}

1. INTRODUCTION

La variole du dromadaire sévit à l'état enzootique là où vit le dromadaire. C'est l'une des maladies infectieuses du dromadaire les plus propagées dans le monde. Son éclosion se produit généralement pendant les saisons sèches et suit des allures cycliques comprises entre 1 à 4 ans.

La maladie est due à un orthopoxvirus (*Orthopoxvirus cameli*) et se caractérise par des lésions éruptives ayant une allure papulopustuleuse à localisations multiples avec une fréquence constante sur la face et les extrémités distales des membres. Les animaux âgés, qui ont contracté la maladie, deviennent résistants à toute nouvelle infection ce qui explique l'allure cyclique de la maladie.

2. SITUATION SANITAIRE DE LA MALADIE AU MAROC

Au Maroc, la maladie est réputée légalement contagieuse (Dahir du 19 septembre 1977, modifié et complété le 21 janvier 1997). Elle est connue depuis longtemps et redoutée des éleveurs sous le nom de "Jedri". Elle sévit annuellement dans les régions du Sud du pays avec une morbidité de 100 %. L'agent causal a été isolé et identifié au cours d'une épizootie survenue dans les provinces du Sud pendant l'été 1984 (Ouarzazate, Laâyoune, Guelmim, Agadir, Tiznit et Tantan). La maladie a atteint son maximum de gravité chez les jeunes de 1 à 3 ans avec généralisation des signes cliniques et un taux de mortalité de 20 %. Chez les chamelles gestantes de 9 à 11 mois, un taux d'avortement de 80% a été enregistré.

L'apparition de cette épidémie semble être en relation avec trois facteurs essentiels :

^{*} Biopharma, Département de Virologie B.P. 4569 Akkari, Rabat, Maroc

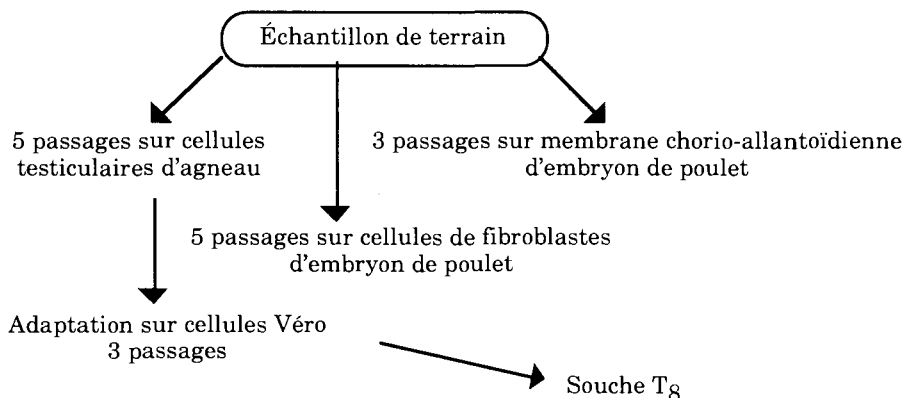
- Repeuplement des régions sahariennes en dromadaires.
- Multiplication des déplacements des troupeaux en quête du pâturage (sécheresse).
- Grande sensibilité des jeunes immunologiquement vierges.

La mise en place de la prophylaxie médicale s'est avérée nécessaire pour éviter la propagation de la maladie dans les zones indemnes. Un vaccin inactivé adjuvé a été alors mis au point à partir de la souche locale et utilisé dans les campagnes de vaccination depuis 1991 (El Harrak, 1991).

En 1993, une nouvelle éclosion de la maladie s'est déclarée dans les provinces du Sud et de nouveaux foyers ont été signalés. Cependant, la maladie a été rapidement contrôlée grâce à l'instauration des mesures de prophylaxie sanitaire dans les zones infectées et la vaccination des dromadaires autour des foyers. La généralisation de la vaccination dans toutes les provinces du Sud a été par la suite appliquée avec un rappel vaccinal annuel des jeunes dromadaires.

3. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DU VIRUS DE LA VARIOLE DU DROMADAIRE AU MAROC

Le virus, isolé à partir de croûtes sèches de jeunes dromadaires pendant l'épizootie de 1984, a été passé sur la membrane chorio-allantoïdienne d'embryon de poulet puis adapté à la lignée cellulaire Véro. Le virus à son 8^{ème} passage sur cellules a été dénommé "T₈".



L'effet cytopathogène de la souche T₈ se caractérise par l'apparition d'inclusions intracytoplasmiques et par la formation de gros syncytia ronds avec des noyaux disposés en couronne dont la nécrose donne des plages de lyse ronds qui, après confluence, entraîne la destruction du tapis cellulaire (Figure 1). Le virus cultivé sur cellules Véro montre un titre de 5.5 log DICT 50 / ml à 37°C (Tableau 1).

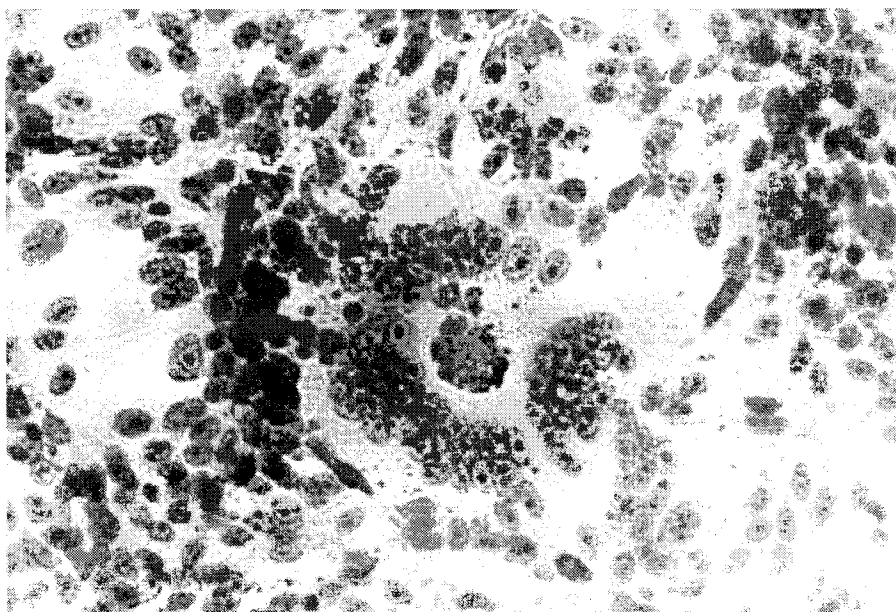


Figure 1. Cellules Véro infectées avec la souche T₈ Syncytia rond (X100). Coloration MGG.

Tableau 1. Titre viral en fonction de la température d'incubation

Température d'incubation (°C)	Titre infectieux (log DICT ₅₀ / ml)		
	Virus total	Virus intracellulaire	Virus extracellulaire
28	6.3	6.2	4.4
30	6.4	6.2	4.4
33	6.3	6.3	4.2
35	6.5	NR	NR
37	5.5	6.2	2.5
38	4.0	NR	NR

La souche T₈ est très sensible aux solvants lipidiques (éther et chloroforme). Le traitement à l'aide d'une solution de trypsine à 2,5% pendant 15 minutes à 37°C fait diminuer le titre viral de 1,2 log. Le virus s'avère aussi sensible à la chaleur : il s'inactive complètement après 15 minutes à 56°C (Figure 2).

Une étude des caractères ultrastructuraux a été réalisée à l'aide de la microscopie électronique (Figure 3). Elle montre que le virus suit un cycle normal d'adsorption, pénétration, décapsidation puis synthèse du matériel viral. Les particules virales définitives restent liées à la cellule. Par contre, le bourgeonnement n'a pas été observé.

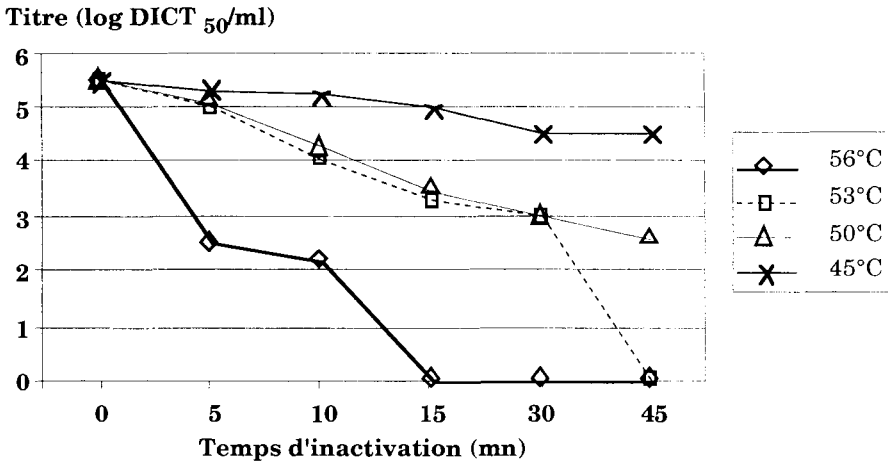


Figure 2. Inactivation thermique de la souche T₈

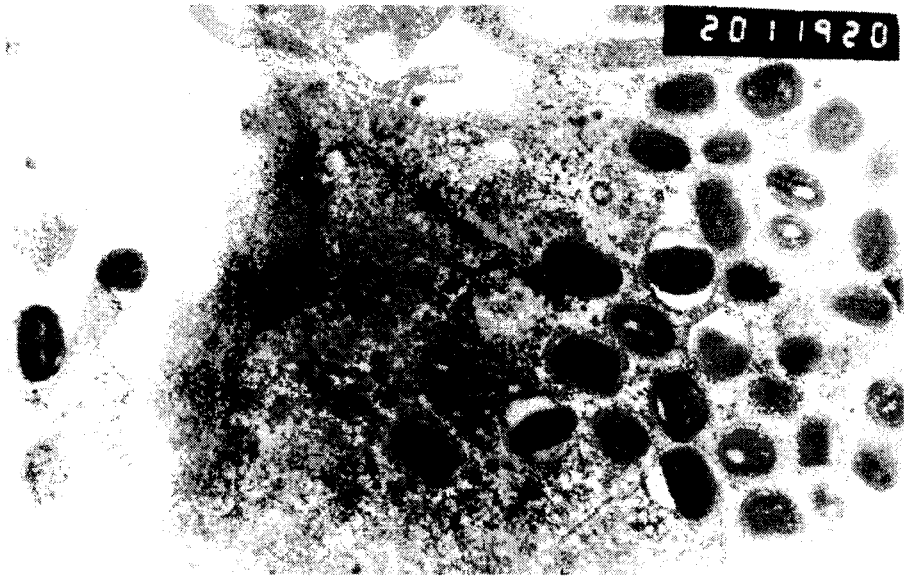


Figure 3. Cellules Véro infectées avec la souche T₈
Particules virales matures (X 40 000)

4. MISE AU POINT DU VACCIN INACTIVÉ

La souche T₈ est utilisée pour la production du vaccin inactivé. Le virus est cultivé sur les cellules Véro dans des flacons roulants. La suspension virale récoltée après généralisation de l'effet cytopathique est inactivée avec le formol puis adsorbée sur l'hydroxyde d'alumine.

Le contrôle d'innocuité a été réalisé sur 8 chamelons primovaccinés par voie sous-cutanée avec une dose vaccinale de 5 ml renfermant 6,8 log DECP₅₀ du virus vaccinal. L'innocuité spécifique est appréciée par l'absence de la généralisation de la maladie ou d'une réaction locale importante au cours des 21 jours qui suivent l'inoculation. Les réponses sérologiques et immunologiques des animaux vaccinés ont été évaluées à l'aide du test de séroneutralisation et de l'index de protection après l'épreuve virulente.

Les résultats obtenus montrent une innocuité parfaite. Aucune réaction post-vaccinale ou élévation thermique n'est enregistrée après vaccination. Une bonne réponse sérologique est détectée à partir du 7^{me} jour et un pouvoir protecteur satisfaisant avec un indice de protection moyen de 2,5 log.

5. MISE AU POINT DU VACCIN ATTÉNUÉ

La souche virale T₈ a été adaptée à la culture à des températures basses : 28°C, 30°C et 33°C par des passages en série. Les souches obtenues ont été clonées et purifiées selon la technique de la dilution limite (El Harrak, 1994). Les clones sélectionnés ont été comparés à la souche d'origine T₈ selon :

- leur stabilité thermique après chauffage à 53°C ;
- leur sensibilité à la culture à des températures d'incubation supérieures;
- leur structure antigénique et génomique.

Trente clones ont été alors sélectionnés par des passages en série à basses températures puis purifiés suivant la technique de la dilution limite. Les clones ont montré un titre élevé (10⁶ DICT₅₀/ ml) avec généralisation précoce de l'effet cytopathique, comparativement à la souche T₈. Seuls les clones les plus fragiles ont été retenus selon leur sensibilité élevée au chauffage à 53°C et la diminution du titre viral après culture à 37°C (Figure 4). L'analyse structurale et génomique a été réalisée sur 3 clones froids en comparaison avec la souche T₈ mais aucune différence n'a été observée dans les protéines ou le génome viral. Deux clones ont été choisis pour le test sur dromadaires. Ce sont les clones A₂₈ et A₃₃.

6. VACCINATION À L'AIDE DES CLONES THERMOSENSIBLES ET AVIRULENTS

L'inoculation de 4 dromadaires avec le clone A₃₃ a engendré une variole généralisée avec la mort d'un animal le 10^{me} jour (Tableau 2).

Par contre, la vaccination avec le clone A₂₈ n'a entraîné aucune réaction post-vaccinale. Une séroconversion significative est notée le 7^{me} jour avec un titre neutralisant moyen de 2,6 après 14 jours.

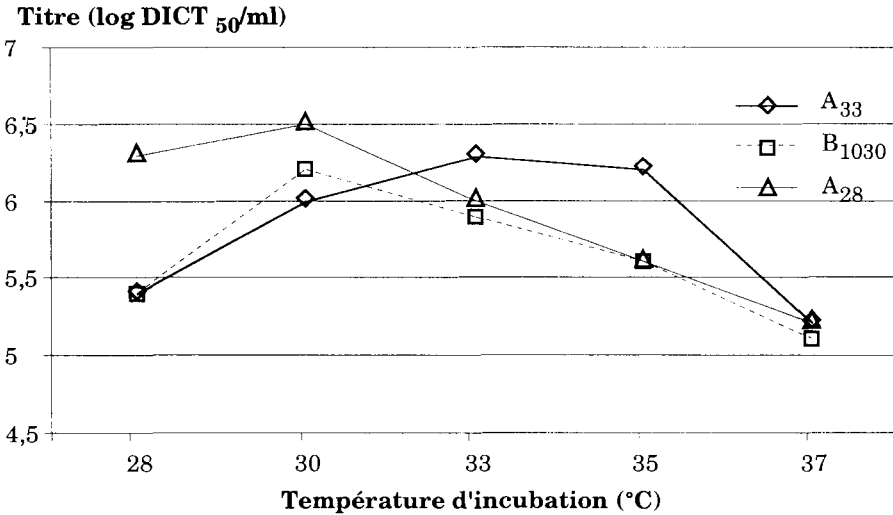


Figure 4. Thermosensibilité des 3 clones sélectionnés

Après épreuve, une protection solide est enregistrée chez les animaux ayant reçu le vaccin inactivé (indice de protection de 2,5) et le clone A₂₈ (indice de protection de 4,5). Aucune réaction locale ou généralisation de la maladie n'a été observée dans les deux groupes d'animaux, alors que les deux témoins ont montré les signes de la variole généralisée qui a évolué vers la mort pour un témoin.

Tableau 2. Réponse sérologique et immunologique des dromadaires vaccinés

Cinétique des anticorps neutralisants.....							Épreuve virulente		
Jours après vaccination.....							Réaction locale	Fièvre	IP
	0	7	14	21	28	35	42			
Vaccin inactivé	-	0.6	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	+	-	2.5
Clone atténué A ₂₈	-	1.5	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6	-	-	4.5
Virus sauvage	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	0

IP = Indice de protection

7. APPLICATION À LA PROPHYLAXIE AU MAROC

La prophylaxie de la variole du dromadaire a été conduite, depuis 1991, au Maroc et dans d'autres pays grâce au vaccin inactivé (Figure 5). Avant son utilisation à grande échelle, ce vaccin a subi un essai clinique sur le terrain en vaccinant un troupeau de jeunes, adultes et femelles gestantes. Le suivi de ce troupeau a permis de constater l'innocuité totale du vaccin et sa capacité d'induire une protection révélée par le taux des anticorps

neutralisants (El Harrak, 1990). Ce vaccin a été utilisé dans les campagnes de vaccination annuelles organisées par la Direction de l'Élevage.

À partir de 1993, des campagnes de prophylaxie de masse ont été réalisées dans toutes les provinces du Sud (Agadir, Tiznit, Ouarzazate, Guelmim, Boujdour, Tata, Tantan, Smara, Laâyoune, Oued Eddahab, Tafilalet).

Les effectifs vaccinés variaient d'une année à l'autre selon l'incidence de la maladie (de 7 000 à 22 000 têtes vaccinées). Entre 1993 et 1997, 15 000 jeunes dromadaires en moyenne par an ont été immunisés.

La situation sanitaire actuelle de la maladie est jugée satisfaisante mais des enquêtes sérologiques en cours ont montré la présence d'environ 50 % d'animaux séronégatifs dans le cheptel marocain. Une couverture vaccinale plus élevée et atteignant un minimum de 80 % des jeunes serait souhaitable pour prévenir toute résurgence de la maladie.

Vaccin CPV inactivé (doses)

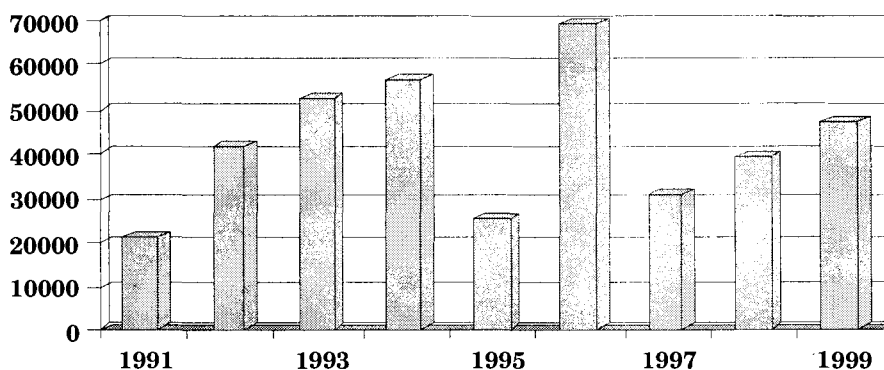


Figure 5. Production du vaccin CPV inactivé au Maroc (doses)

La figure 5 montre la production du vaccin Camel Pox au cours des dernières années. Le taux de production varie selon les commandes formulées par les pays utilisateurs. Plus de la moitié de la production est exportée principalement vers les pays de l'Afrique du Nord (Rapports annuels de Biopharma).

8. CONCLUSION

Lors d'une épizootie survenue en 1984, un virus de la famille des *Orthopoxvirus* a été isolé et identifié comme étant l'agent responsable de la variole du dromadaire dans le Sud marocain. L'adaptation à la culture sur lignées cellulaires a été réussie et un vaccin inactivé adjuvé a été mis au point (El Harrak, 1990).

La vaccination de masse est conduite au Maroc depuis 1993 grâce au vaccin inactivé qui a fait preuve d'innocuité totale et d'efficacité. Ce vaccin a été également exporté vers d'autres pays.

Un vaccin vivant modifié a été également développé via la sélection de clones froids avirulents. Le clone A₂₈ induit une bonne protection sans réaction post-vaccinale sévère (El Harrak, 1994). L'utilisation de vaccins vivants n'est pas encore appliquée à grande échelle vu la proximité antigénique du virus de la variole du dromadaire avec celui de la variole humaine.

RÉFÉRENCES CITÉES

- El Harrak M. (1990) Dossier d'homologation du vaccin inactivé adjuvé Camel Pox. Département de Virologie, Biopharma, Maroc
- El Harrak M. (1991) Isolement et identification du virus de la variole du dromadaire au Maroc. *Ann. Rech. Vét.* 22 : 95-98
- El Harrak M. (1994) A live attenuated vaccine against Camel pox. Conference on vaccines new technologies and applications. Mars 1994, Alexandria, USA