République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Yahia Fares de Médéa
Faculté des Sciences
Département de Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Option : Immunologie et maladies infectieuses.

Thème

Techniques de diagnostic permettant une étude épidémiologique de Camelpox chez les camélidés

Présenté par :

Djellakh Malika

Malaoui Fadhila

Ouzeri Souad Nour El Houda

Sous l'encadrement de :

Mr OUMOUNA. Mustapha	***Professeur***	**Université de Médéa**
Mr Haroun Mohamed Anis	***Doctorant***	**Université de Médéa**

Année Universitaire : 2020 /2021

REMERCIEMENT :

Avant tout, Nous remercions DIEU le tout puissant de nous avoir accordé la force et le courage pour réaliser ce modeste travail, atteindre nos but et réaliser ainsi un rêve.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre Encadreur professeur Mustapha OUMOUNA, professeur en immunologie.

Nous tenons aussi à adresser un énorme merci au Co-encadreur Mr HAROUN Mohamed Anis Pour ses conseils et sa disponibilité, ainsi qu'à ses innombrables services.

Dédicace :

À mes parents,
Mes frères et sœurs
Et toute la famille.

Djellakh Malika.

Dédicace :

À mes parents,
Mes frères et sœurs
Et à mon fiancé
Et toute la famille.

Malaoui Fadhila.

Dédicace :

À mes parents,
À ma sœur (Anfal).
Et à Titola,

Ouzeri Souad Nour El Houda.

Sommaire:

REMERCIMENT	
DEDICACE	
SOMMAIRE	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
Résumé	**01**
Abstract	**02**
الملخص	**03**
Introduction	**04**
Problématique	**05**
CHAPITRE 01 : L'importance de la population des camélidés :	
1. Répartition des Camélides dans le monde :	**07**
1.1. Classification :	**07-13**
1.1.1. Camelus dromedarius:	**13-14**
1.1.2. Camelus Bactrianus :	**14-15**
2. Distribution en Afrique:	**15-16**
3. Distribution en Péninsule Arabe :	**16-17**
4. Répartition en Algérie :	**17**
4.1. historique de la population cameline en Algérie:	**18**
4.2. Evolution numérique du cheptel camelin en Algérie :	**18-19**
1.1. Les principales races dominantes du dromadaire en Algérie :	**20-22**
5. Mécanismes physiologiques d'adaptation du dromadaire :	**22-24**
6. Le système immunitaire des camélidés :	**24-28**
Chapitre 02 : Les pathologies infectieuses dominantes du dromadaire en Algérie :	
1. Les maladies infectieuses chez les camélidés :	**30-31**
1.1. Maladies bactériennes :	**30**
1.2. Maladies virales :	**31**
2. Camelpox (La variole des camélidés):	**32-33**
2.1. Le virus de Camelpox (CMLV) :	**33**
2.1.1. La morphologie du virus (CMLV) :	**33-34**
2.1.2. Les propriétés physicochimiques et la résistance de Camelpox virus :	**34**

2.1.3. La réplication virale:	**34-35**
2.2. Pathogenèse :	**35-37**
2.3. Modes de transmission:	**37**
2.4. Morbidité et taux de mortalité :	**37-38**
2.5. Le diagnostic clinique de camelpox :	**38-39**
2.6. Potentiel zoonotique :	**39-40**
2.7. Prévention et vaccination :	**40-41**
2.8. Le traitement :	**41-42**
Chapitre 03 : Les techniques de diagnostic du Camelpox : Le diagnostic expérimental :	
1. La microscopie électronique à transmission (MET) :	**44**
1.1. Imagerie MET:	**44-46**
2. Immunohistochimie :	**47**
3. Isolement du virus:	**48**
3.1. La préparation des échantillons pour l'isolement du virus :	**48-50**
3.2. Œufs embryonnés:	**50**
3.2.1. Inoculation membranaire chorioallantoïque:	**50-52**
3.3. Cultures cellulaires :	**52-53**
3.3.1. Isolement dans des cellules rénales de singe vert d'Afrique (Vero) :	**53-54**
4. Test Sérologique:	
4.1. ELISA: Test immuno-enzymatique pour la détection d'anticorps contre le virus Camelpox :	**54**
4.1.1. Préparation de l'antigène :	**54-55**
4.1.2. préparation de conjugué IGg raifort-peroxydase anti-camel de lapin :	**55**
4.1.3. Production d'Antisérum :	**55**
4.1.4. Procédure de test:	**55-56**
5. Test de neutralisation:	**56-57**
6. PCR : réaction en chaine par polymérase :	
6.1. Définition de PCR :	**57**
6.2. Principe de la PCR :	**57**
6.3. L'appareil de thermocycleur :	**57-58**

6.4. L'utilisation de la technique PCR dans le diagnostic de camelpox:	
6.4.1. Animaux vivants:	
6.4.1.1. L'extraction de l'ADN :	**58-59**
6.4.1.2. Réaction en chaine par polymérase pour le diagnostic de Camelpox :	**59-61**
6.4.1.3. Bioinformatique :	**61**
6.4.2. Animaux morts :	**61**
6.5. Les types de PCR pour diagnostiquer le camelpox :	**62**
L'intérêt d'utilisation :	**62-63**
Les avantages et les inconvénients :	**64-65**
CONCLUSION	**66**
Les références	**67-73**

Liste des figures :

Figures :	Page :
Figure 01 : Carte de migration de la famille historique des camélidés (Burger P et al, 2019).	**07**
Figure 02 : Carte de répartition des différentes espaces de camélidés (Mousa Z, 2010).	**11**
Figure 03 : Répartition des camélidés par région. (Amanat A et al, 2019).	**12**
Fig.4 : Pourcentage du cheptel dromadaire dans l'UTT total dans les pays chameliers en 2018. En gris, les pays avec un pourcentage décroissant depuis 1961 (Faye B, 2020). En noir, les pays avec un pourcentage.	**13**
Figure 05 : La répartition du C. bactrianus et C. dromedarus (Maurizio D, 2020).	**14**
Figure 06 : Changements démographiques comparés entre les camélidés de Bactriane et les dromadaires au niveau mondial 1961-2018 (FAOstat, 2020).	**15**
Figure 07 : carte distribution géographique des camélidés dans l'Afrique (camelids cirad.fr, 2021).	**16**
Figure 08 : carte distribution géographique du camélidés dans Péninsule Arabe (Camelids cirad.Fr, 2021).	**17**
Figure 09 : Aires de distribution du dromadaire en Algérie (MERZOUK, 2015).	**19**
Figure 10 : La rate du dromadaire (Zidan et al, 2020).	**25**
Figure 11 : Les ganglions lymphatiques du dromadaire (Abdel-Magied et al, 2011).	**26**
Figure 12 : coupe histologique du thymus du chamelon (Aly et Khabir, 1986).	**26**
Figure 13 : modèles structuraux d'anticorps (Hamers and De Haard, 2007).	**28**
Figure 14 : Répartition géographique de camelpox dans le monde (Balamurugan V et al, 2013).	**32**
Figure 15 : Cellules Véro infectées par le CMLV (Bhanuprakash v et al, 2010).	**35**
Figure 16:lésions de camelpox du camélidés sur différentes parties du corps d'un dromadaire (Shyam S, 2016).	**39**
Figure 17 : stade avancé de camelpox des camélidés (Mcgrane J et al, 1985).	**39**
Figure 18:Lésion de camelpox sur la main d'un éleveur de camélidés, Soudan (Abdelmalik L et al, 2017).	**40**
Figure 19 : Microscope électronique d'un échantillon de peau homogénéisé (Oran Et al, 2018).	**46**
Figure 20 : Images de microscopie électronique à transmission (MET).	**46**
Figure 21:Lésions de gueule on CAM inoculées avec une suspension de croutes cutanées (Yassein M et al, 2014).	**52**

Figure 22: Le thermocycleur.	**58**
Figure 23:étapes de la réaction en chaine par polymérase (PCR) (Faoud T et al, 2008).	**60**

Liste des tableaux:

Tableaux :	Page :
Tableau 1 : La classification des camélidés (Ji et al, 2009).	08
Tableau 2 : Effectifs camelins en Algérie (têtes) en 2014 (LAKHDARI, 2016).	19
Tableau 3 : Les races dominantes de Camelus dromedarius en Algérie (Harek er al, 2017).	21-22
Tableau 4 : la classification de camelpox virus (Wikipedia, 2021).	33
Tableau 5 : Les avantages et les inconvénients de : MET, Immunohistochimie, l'isolement de virus : (Weledgabrial G, 2016) (Veerakyathappa B et al, 2015).	64
Tableau 6 : l'utilisation et les caractéristiques des tests sérologiques (Marennikova, 1975).	65
Tableau 7 : les avantages et les inconvénients de la technique de PCR : (Ziada B, 2020).	65

Résumé :

Le Camelpox est systématiquement diagnostiqué sur la base de signes cliniques, de résultats pathologiques et d'analyses cellulaires et moléculaires. Un diagnostic provisoire peut être posé sur la base des signes cliniques et des lésions de la variole, mais confondra avec d'autres maladies, telles que l'ecthyma contagieux, la papillomatosis et la réaction aux piqures d'insectes. L'identification de l'agent et la détection des anticorps à partir d'échantillons de sérum peuvent être utilisées pour le diagnostic différentiel de la maladie. Différents méthodes de testes complémentaires ont été développées pour le diagnostic de la maladie de Camelpox. Le choix de la méthode d'essai dépend de l'objectif de l'enquête et de la disponibilité des méthodes d'essai à un moment donné. Généralement, l'isolement et l'identification du virus par microscopie électronique à transmission (MET), immun histochimie, cultures cellulaires et techniques moléculaires (PCR) sont conseillés pour la confirmation des cas cliniques. D'autre part, les tests sérologiques sont précieux pour les tests de confirmation secondaires. Les principes de base, les avantages comparatifs et les inconvénients des différentes techniques de diagnostic de la variole du dromadaire sont décrits dans cette étude.

Abstract:

Camelpox is routinely diagnosed based on clinical signs, pathological findings and cellular and molecular assays. Tentative diagnosis can be made based on clinical signs and pox lesions, but will confuse with other diseases, such as contagious ecthyma, papillomatosis and reaction to insect bites. Identification of the agent and antibody detection from serum samples can be used for the differential diagnosis of the disease. Different complementary test methods have been developed for the diagnosis of Camelpox disease. The choice of the test method depends on the purpose of the investigation and the availability of the test methods at a time. Generally isolation and identification of the virus using transmission electron microscopy TEM, immunohistochemistry, cell cultures and molecular techniques (PCR) are advised for the confirmation of clinical cases. On the other hand serological tests are valuable for secondary confirmatory testing. The basic principles, comparative advantages and disadvantages of the different diagnostic techniques of Camelpox diseases are described in this note.

ملخص:

يتم تشخيص جدري الجمل بشكل روتيني بناءا على العلامات السريرية و النتائج المرضية و التقنيات الخلوية والجزيئية. يمكن إجراء التشخيص المبدئي بناءا على العلامات السريرية وأعراض الجدري، ولكن سيتم الخلط بينه وبين الأمراض الأخرى مثل: الإكثيما المعدية...يمكن استخدام تحديد العامل وكشف الأجسام المضادة من عينات المصل للتشخيص التفريقي للمرض. تم تطوير طرق اختبارات تكميلية مختلفة لتشخيص مرض جدري الجمل. يعتمد اختيار طريقة الاختبار على الغرض من التحليل وتوفر طرق الاختبار في كل مرة. ينصح عموما بعزل الفيروس والتعرف عليه باستخدام الفحص المجهري الالكتروني والكيمياء المناعية وزراعة الخلايا والتقنيات الجزيئية لتأكيد الحالات السريرية. من ناحية أخرى، تعتبر الاختبارات المصلية ذات قيمة للاختبار التأكيدي الثانوي. تم وصف المبادئ الأساسية والمزايا والعيوب النسبية لتقنيات التشخيص المختلفة لأمراض جدري الإبل في هذه المذكرة.

Introduction :

Camelpox (la variole du dromadaire) peut être diagnostiqué sur la base des signes cliniques, des résultats epizootiologiques et pathologiques, de l'isolement du virus dans les lignées cellulaires, de la microscopie électronique (EM) et des tests sérologiques tels que le test immunosorbant lié à une enzyme de capture spécifique de genre (ELISA).

Cependant, il doit être différencié des autres maladies provoquant des lésions cutanées similaires chez les camélidés. Camelpox peut être différencié des autres infections à orthopoxvirus (OXPV) et parapoxvirus utilisant l'analyse par enzyme de restriction (REA) et la microscopie électronique à transmission. L'isolement du virus en culture cellulaire est fastidieux et nécessite des jours pour les résultats du diagnostic.

Parmi les techniques moléculaires : la PCR a été largement appliquée pour le diagnostic de diverses maladies infectieuses. Des techniques serval telles que l'hybridation par transfert de Southern, la REA, la cartographie de l ADN viral et les testes PCR bases sur le gène ATI (A type inclusion) et l'hémagglutinine (HA) pour la détection des infections OPXV et sa différenciation des autres OPXVs ont été rapportées (Venkatesan G et al, 2012).

Problématique :

Camelpox est une maladie cutanée contagieuse économiquement importante des camélidés causée par le virus de la variole du dromadaire (CMLV) et se caractérise par une infection cutanée locale bénigne et des infections systémiques graves moins courantes. La maladie est confinée aux ceintures d'élevage de dromadaire en particulier dans les pays en développement et un impact économique en raison de pertes considérables en termes de morbidité, de mortalité, de perte de poids et de réduction de la production laitière. Le virus a attiré l'attention des chercheurs en raison de son émergence récente avec une étroite parenté génétique avec le virus de la variole, et porteur de gènes responsables des mécanismes d'évasion immunitaire de l'hôte. Le CMLV était auparavant considéré comme un agent zoonotique, mais jusqu'à présent, peu de preuves ont été documentées.

Bien que la maladie puisse être diagnostiquée sur la base de signes cliniques, les lésions cutanées confusionnelles similaires nécessitent l'identification de l'infection par des techniques de diagnostic basées sur le biologie moléculaire, à savoir l'analyse par enzyme de restriction du génome du virus et de gènes spécifiques, une PCR diagnostique spécifique au genre et à l'espèce, y compris la PCR quantitative temporelle, et analyse de séquence et phylogénétique pour le diagnostic et la différenciation du CMLV. La séquence complète du génome du CMLV est connue et contient plus de 211 gènes putatifs, qui codent pour différents protéines avec une gamme d'hôtes, une immunomodulation, une virulence et d'autres fonctions.

Des vaccins inactivés et vivants atténués sont disponibles dans certains pays. Cependant, les vaccins vivants sont préférés car ils offrent une immunité de longue durée. Etant donné que le virus se propage dans des environnements contaminés, une méthode améliorée de diagnostic et de contrôle serait d'une immense valeur pour réduire l'infection sur le terrain. Les thérapies alternatives telles que les agents antiviraux sont un domaine qui doit être exploré

(Bhanuprakash V et al, 2010).

Chapitre 01 : L'importance de la population des camélidés.

1. Répartition des Camélides dans le monde :

La famille des camélidés descend d'animaux vivants en Amérique du Nord pendant la période éocène (il y a 45 millions d'années). Les ancêtres des Camélidés ont migré vers l'Amérique du Sud et à travers le détroit de Béring en Asie centrale, ce qui a donné naissance aux Camélidés de l'Ancien Monde (Camélidés de Bactriane et dromadaires) et les Camélidés du Nouveau Monde (Camélidés d'Amérique du Sud; SAC). Ainsi, l'évolution des Camélidés a été récemment abordée à l'aide de techniques moléculaires par Manee et al. (2019). Selon Payne et Wilson (1999) (Figure.1). (Mousa z, 2020).

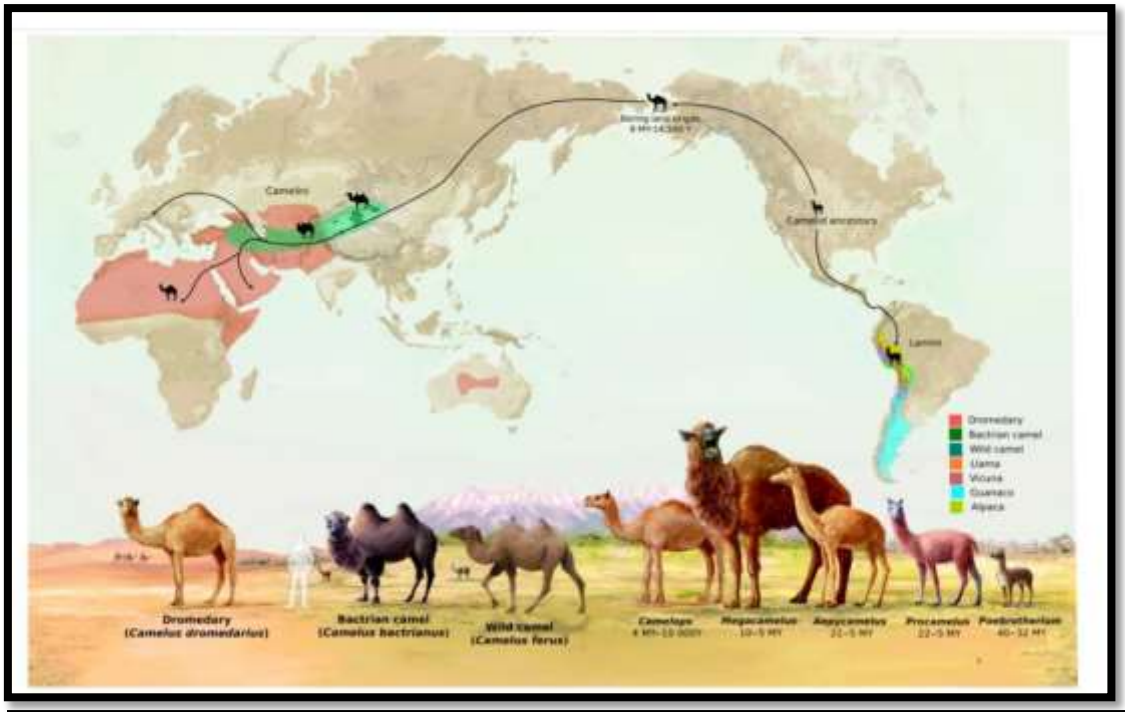


Figure.1 : Carte de migration de la famille historique des camélidés (Burger P et al, 2019).

1.1. Classification :

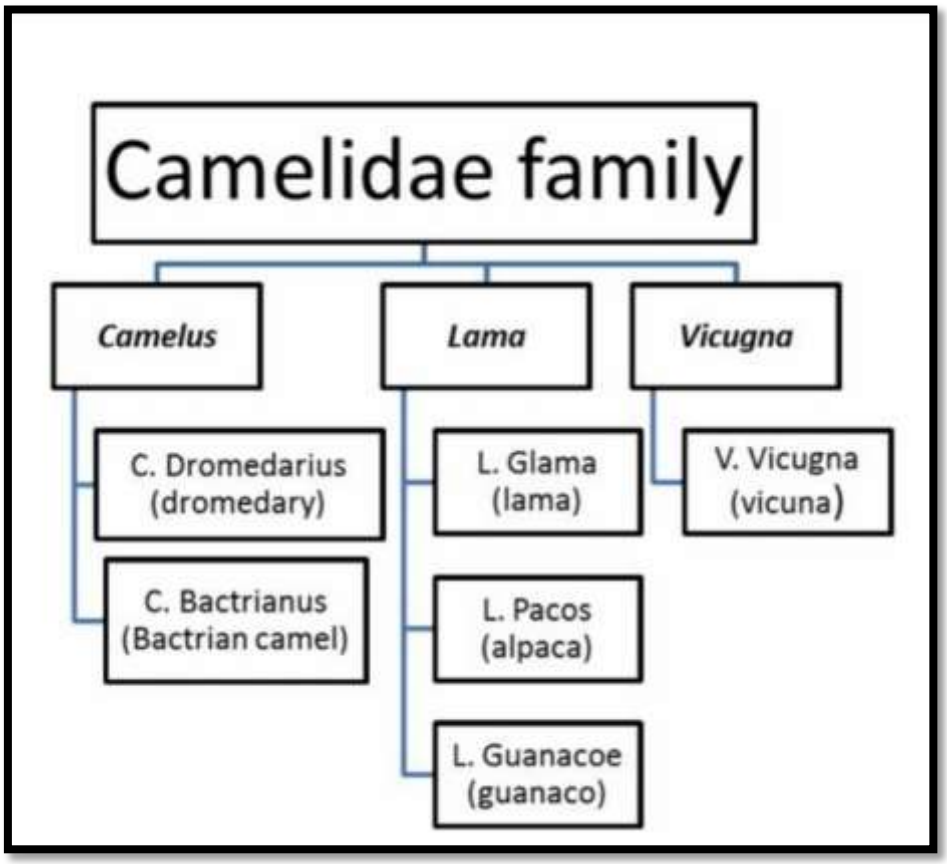
Le dromadaire appartient à la famille des mammifères camélidés de l'ordre des Artiodactyles et au sous-ordre des tylopodes (animaux aux pattes rembourrées). Ainsi, ils sont différents des ruminants (en particulier de la famille des bovinés) : bien que le Camélide soit un animal ruminant, ce n'est pas un ruminant. La famille des camélidés comprenait deux types principaux (grands et petits camélidés) répartis en trois genres : Camelus, Lama et Vicugna.

Les petits camélidés originaires des montagnes Andin d'Amérique du Sud comprennent deux espèces domestiques (lama et alpaga) et deux espèces sauvages (guanaco du genre lama et vigogne du genre vicugna). Les grands camélidés sont représentés par deux espèces domestiquées, le dromadaire à une bosse (dromadaire) et le dromadaire à deux bosses (Camélide de Bactriane) ,(Bernard ,2015)137Ainsi, la famille des camélidés est caractéristique des animaux occupant des zones reculées, des terres arides ou de hautes montagnes. Ceci est lié à la forte adaptation de ces espèces à leur écosystème (tableau .1)

(Ji et al, 2009).

Tableau 1 : La classification des camélidés.

Règne:	Animalia
Embranchement :	Chordata
Classe:	Mammalia
Sous-classe :	Placentalia
Ordre :	Artiodactyla
Famille :	Camelidae
Genre :	Camelus



Les Camélidés aujourd'hui: a touts et potentiels.Bien qu'occupant une place marginale parmi les herbivores domestiques (0,4 % de la population mondiale des herbivores domestiques), les grands camélidés (dromadaire et Camélide) les herbivores domestiques sonter putes arides du monde (sauf le sud de l'Afrique) sur une étendue de plus de 35 millions de km². Ces espèces valorisent remarquablement ces espèces de par leur potentiel productif et de par leur rôle dans l'équilibre des systèmes agro économiques des terres arides, spécialement avec les changements climatiques présents.

Au niveau mondial, le nombre officiel actuel de grands camélidés ne peut être déterminé avec précision (il est estimé à plus de 35 millions de têtes), et le rôle des Camélidés dans l'économie de l'élevage est très variable. Les seules statistiques fiables sont fournies par la FAO depuis 1961. Selon ces données, cinq modèles différents de changements démographiques ont été

observés. Dans les pays marqués par un déclin régulier ou drastique de leur population de camélidés, une tendance à la ré-augmentation est en vigueur depuis le début du siècle, sauf en Inde. De manière générale, les pays marqués par une forte augmentation récente de leur importante population de camélidés ont mis en place un recensement et réajusté leurs données. De nombreuses incohérences apparaissent dans les données disponibles, notamment des cas résultant de changements survenus dans le statut de l'État (par exemple, sécession de l'Érythrée, effondrement de l'Union soviétique). De plus, les stocks importants de camélidés en Australie, dans les pays de nouvelle implantation chamelière (pays occidentaux) et ceux liés à l'expansion de l'élevage de Camélidés, notamment en Afrique, ne sont pas enregistrés dans la base de données internationale. De plus, il n'y a pas de distinction entre les données dromadaires et bactriennes. La grande population actuelle de camélidés dans le monde est probablement de plus de 40 millions et pourrait atteindre 60 millions dans 25 ans si la tendance démographique actuelle se maintient(Faye B, (2020)

"pays chameliers" Il existe, officiellement, 46 entités nationales dans le monde déclarant le cheptel Camélide. Parmi eux, 20 pays sont en Afrique, 25 en Asie et un en Europe (Ukraine"). Concernant la répartition géographique des deux espèces impliquées, seuls les dromadaires se trouvent dans les pays africains et dans les pays du Proche et Moyen-Orient et de l'Asie du Sud, et Seuls les Bactrianes habitent l'Asie centrale. Les deux espèces, cependant, ne cohabitent que dans quelques pays, principalement au Kazakhstan (Carte 1). En 1961, ces entités nationales ne représentaient que 38 pays, car l'ex-Union soviétique comprenait tous les pays d'Asie centrale. De plus, la Namibie n'est devenue un nouveau pays chamelier que depuis les années 2000. Globalement, 70% des données des pays africains et 42% des données des pays asiatiques sont basées sur des estimations en raison du manque de bétail facilement disponible Pour les données les plus récentes disponibles en 2018, le nombre total de Camélidés recensés dans le monde était de 35 525 270 (FAOSTAT 2020). En 1961, date des premières données disponibles, 60 % des 38 entités nationales déclarent données officielles rouges. La population totale de Camélidés à cette époque était estimée à 12 926 638 têtes. La croissance annuelle de la population mondiale de Camélidex a été estimée à 3,07 % mais avec des résultats nationaux contrastés variant entre - 1,95 % (4, calculé dès l'indépendance en 1992) et

+ 45,3 % (Oman, calculé à partir de 1961). Globalement, 35% des entités nationales ont enregistré un taux de croissance négatif (tableau 1).

Une croissance moyenne de plus de 10 à 15 % ne peut être maintenue sans l'importation d'animaux vivants car la croissance naturelle d'un troupeau de Camélidex peut être d'environ 5 à 10 % (Figure.2 et 3 et 4) (Bonnet ; 2008).

En Amérique du Sud, le guanaco (Lama guanacoe) et la vigogne (Vicugna vicugna) sont les deux espèces sauvages SAC. La population estimée est d'environ 650 000 et 250 000 animaux, respectivement (FAOstat 2019). La domestication des guanacos et des vigognes a conduit à l'établissement des espèces domestiques SAC, respectivement le lama (Lamaglama) et l'alpaga (Vicugnapacos). Selon FAOstat (2019), il y a environ 5 millions de lamas et 4,5 millions d'alpagas en Amérique du Sud (Figure.2, 3 et 4) (Mousa z et al, 2020).

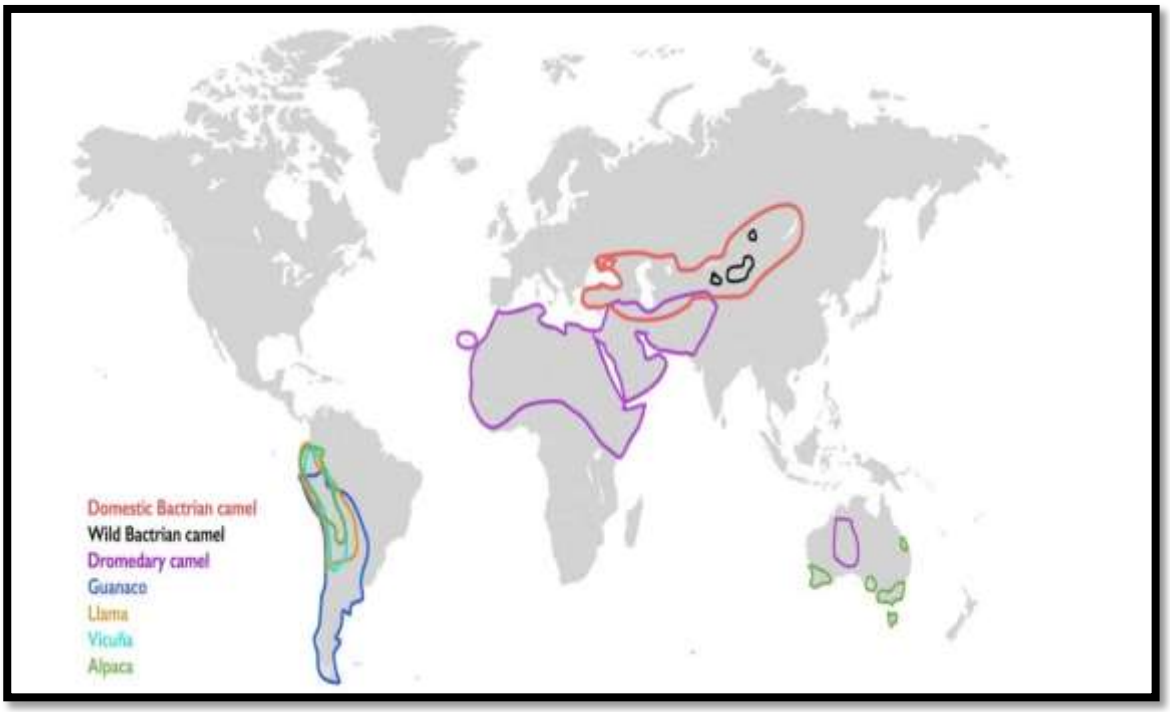


Figure.2 : Carte de répartition des différentes espèces de camélidés (camélidé domestique de Bactriane, camélidé sauvage de Bactriane, dromadaire, alpaga, lama, vigogne et guanaco) (Mousa Z, 2020).

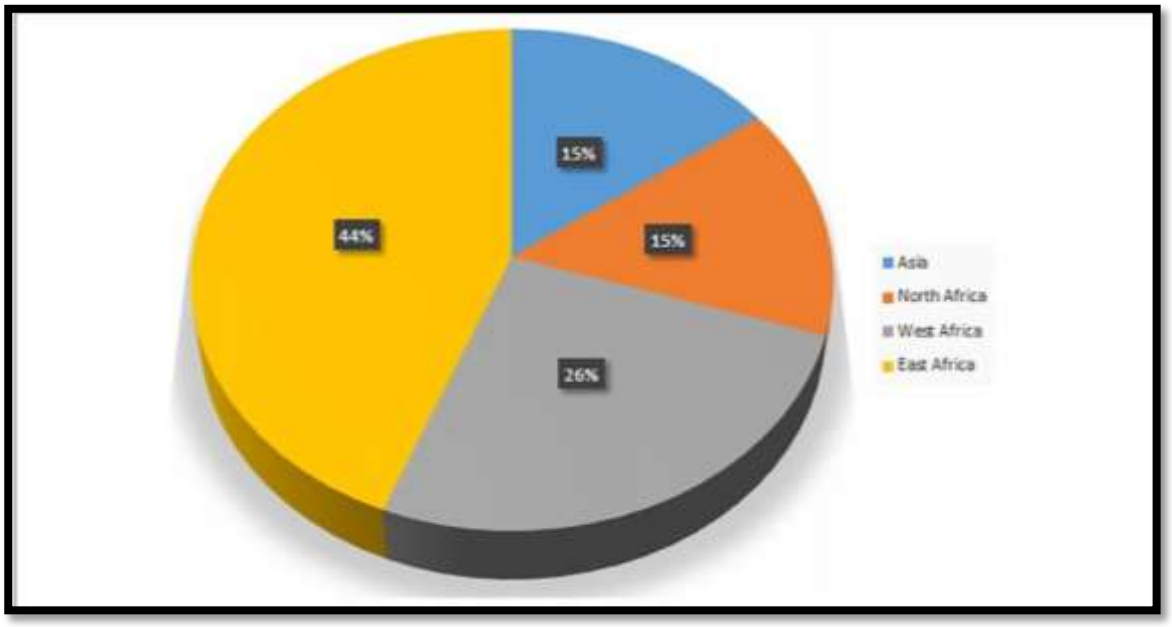


Figure.3 : Répartition des camélidés par région. (Amanat A et al, 2019).

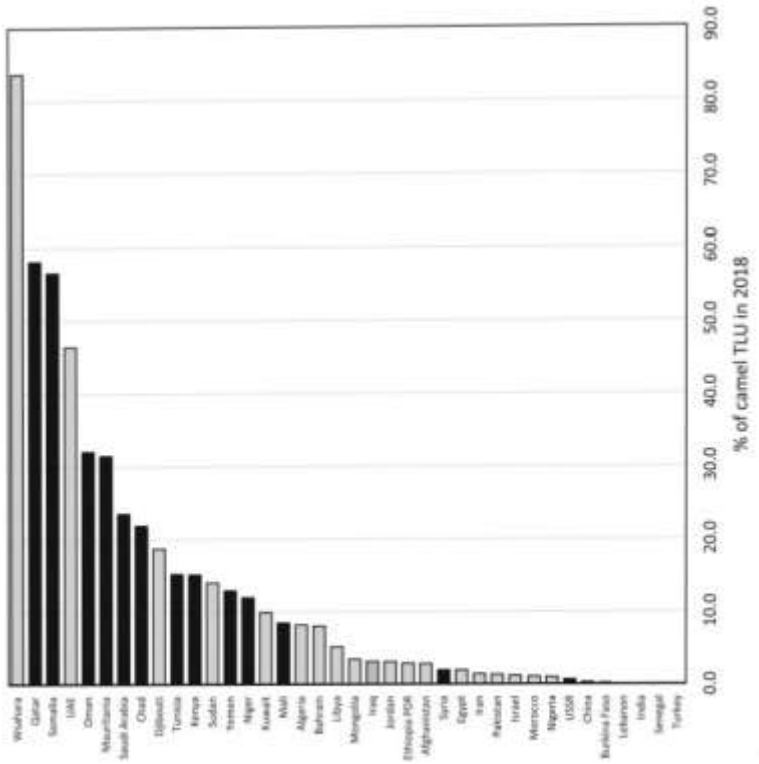


Fig.4 : Pourcentage du cheptel chameau dans l'UTT total dans les pays chameliers en 2018. En gris, les pays avec un pourcentage décroissant depuis 1961 (Faye B,

1.1.1.Camelus dromedarius:

Le dromadaire (Camelus dromedarius, Camélide à une bosse ou Camélide d'Arabie) est l'une des ressources naturelles les plus importantes d'Afrique et des terres arides du Moyen-Orient et d'Asie occidentale et sont principalement répandus dans la région chaude et aride entre l'est de l'Asie et la partie nord de l'Afrique. Le Camélide dromadaire a été domestiqué pour la première fois il y a environ cinq mille ou six mille ans dans la région arabe (Trinks et al., 2012 ; Almathen et al., 2016), En 2018, l'Afrique détenait plus de 86 % des stocks mondiaux de Camélidés. Dans ces pays, le dromadaire joue un rôle de grande importance économique et sociale (Figure.5)

(Zappaterra M,2021).

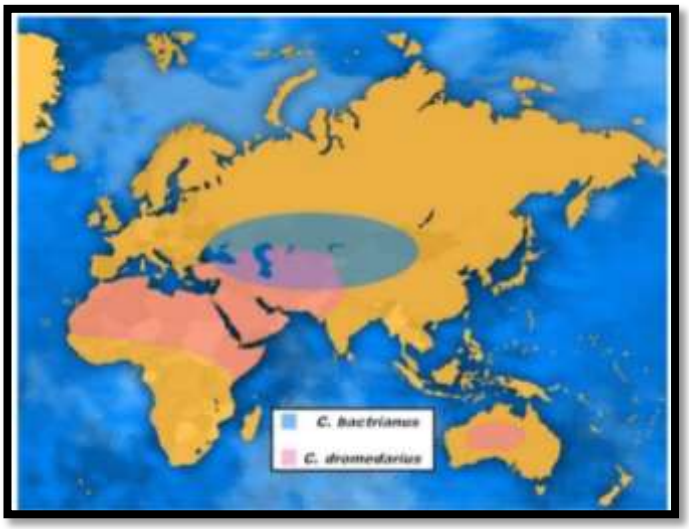


Figure.5 : La répartition du C. bactrianus et C. dromedarus (Maurizio D, 2020).

1.1.2 Camelus Bactrianus :

La distribution du Camélide de Bactriane est beaucoup plus petite que la zone occupée par le dromadaire, qui est essentiellement limitée aux zones avec une température annuelle moyenne ne dépassant pas 21 °C (Dioli,2020). des régions désertiques et semi-désertiques et est une espèce de bétail importante dans de nombreuses régions(L. Ming, 2016). Le nombre de Camélidés de Bactriane est réduit par rapport aux Camélidés dromadaires (1 million contre 34 millions d'animaux, respectivement ; FAOstat 2019),Le Camélide de Bactriane domestique est principalement distribué dans les pays d'Asie orientale centrale:notamment la MongolieLes Camélidés de Bactriane sont élevés principalement en Mongolie (435 000 têtes), la Chine, le Kazakhstanle nombre de Bactrianes les Camélidés représentent 85 % de la population totale de Camélidex (Mousa et al ,2019), le Turkménistan, le nord-est de l'Afghanistan, la Russie et l'Ouzbékistan (Mirzaei 2012 ; Vyas et al. 2015). En outre, on le trouve également au nord du Pakistan (Isani & Baloch 2000), en Iran, en Turquie et en Inde (Figure 6) (Vyas et al. 2015). (Dioli,2020)

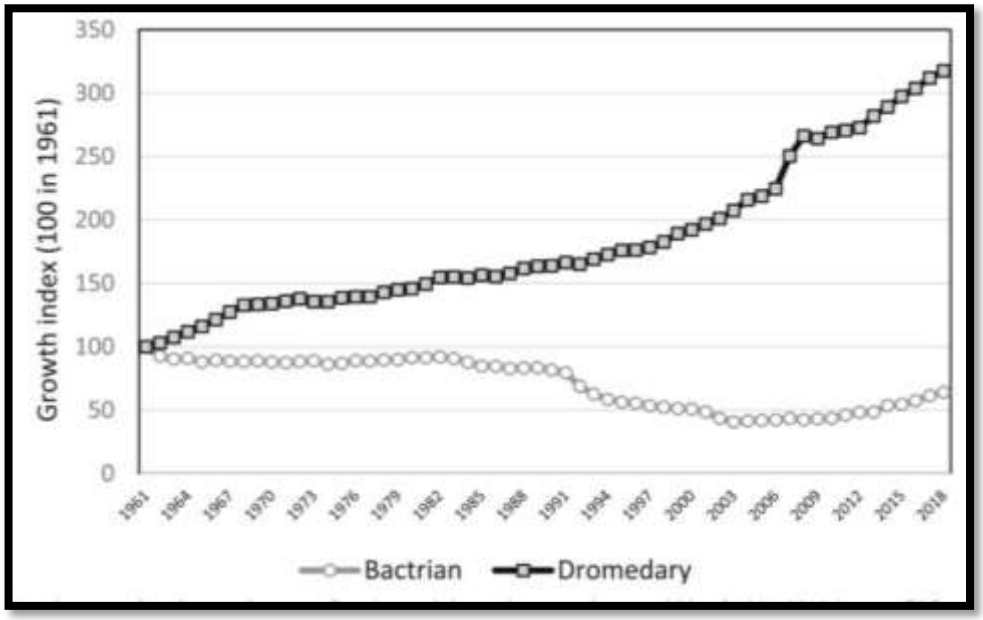


Figure.6 : Changements démographiques comparés entre les chameaux de Bactriane et les dromadaires au niveau mondial 1961-2018 (FAOstat, 2020).

2. _ Distribution en Afrique :

Il est difficile de connaître avec exactitude la population caméline mondiale, cela est lié à plusieurs facteurs comme l'absence de vaccination obligatoire pour cette espèce et la nature même des écosystèmes dans lesquels elle évolue, ce qui rend difficile le recensement de ces effectifs. Les chiffres proposés par la FAO s'appuient sur des estimations qu'un recensement exhaustif. La répartition mondiale de l'espèce caméline est fortement inégale, et elle est confinée dans la ceinture désertique et semi-aride d'Afrique et d'Asie.

Cependant, près de 80% de la population de dromadaire se situe en Afrique. Les pays de la Corne de l'Afrique (Somalie, Soudan, Ethiopie, Kenya, Djibouti) abritent seuls 60% du cheptel camelin mondial. La Somalie contient environ 6,5 millions de dromadaires, ce qui est proche de 50% du cheptel africain (Figure.7)

(Faye, 1997).



Figure.7 : carte distribution géographique des camélidés dans l'Afrique (camelids cirad.fr, 2021).

3. _ Distribution dans la Péninsule Arabe :

Péninsule Arabe L'aire de répartition géographique du dromadaire, se situe, au niveau des zones tropicales et subtropicales et s'étend, des régions arides et semi-arides (SIBOUKEUR, 2008), au Soudan, la Somalie et l'Ethiopie ainsi que le Yémen, Omanie, Koweït, Bahreïn, Qatar, Emirats Unis et l'Arabie Saoudite, de nombreuses découvertes archéologiques et grottes ont été aperçues (MERZOUK, 2015).La première utilisation du dromadaire relève de l'activité de transport et demeure sans doute associée au commerce des épices, fort florissant à cette époque entre le Sud de la Péninsule arabique et le pourtour méditerranéen (BABELHADJ, 2012). C'est une évolution quelque peu différente qui est observée dans les riches pays du Golfe où, à côté des éleveurs laitiers ou engraisseurs intensifiés, s'installe une multitude d'éleveurs urbanisés, demeurant dans leur confortables villas climatisées, mais disposant d'un troupeau de dromadaires à la périphérie de la ville, aux marges du désert, placé sous la garde d'une main-d'œuvre immigrée et auprès duquel ils viennent passer leurs week-ends sous la tente bédouine traditionnelle. Ces systèmes d'élevage sont plus ou moins intégrés au système marchand (lait, viande), mais

représentent près d'un tiers des élevages camelins dans un pays comme l'Arabie saoudite (ABDALLAH et FAYE, 2013). En 2007, la Somalie, le Soudan, la Mauritanie, l'Arabie Saoudite et l'Irak comptaient à eux seuls 95% de l'effectif camelin arabe (ZITOUT, 2007). En 2011, les effectifs camelins étaient, selon la FAO, 237 000 en Tunisie, 163 000 au Maroc (dont 108 000 dans les seules provinces sahariennes), 107 000 en Egypte et seulement 57 000 en Libye (FAYE et al., 2014).La population mondiale de dromadaire est estimée en 2016 à 28455693 têtes, y compris 1644280 têtes dans la péninsule Arabe (Figure.8) (FAO stat, 2016)



Figure.8 : carte distribution géographique du camélidés dans Péninsule Arabe (Camelids cirad.Fr, 2021).

4. Répartition en Algérie :

L'Algérie, compte actuellement un nombre considérable de dromadaire, la sécheresse des années soixante-dix, était l'une des causes principales qui a engendré à la dégradation du parcours, raison pour laquelle cet élevage est négligé en plus des difficultés de commercialisation, sont liées à la lenteur de la reproduction du troupeau.

La répartition du cheptel camelin est très hétérogène mais depuis une vingtaine d'années, on assiste à un mouvement général de repli vers le sud : le dromadaire partage donc de plus en plus souvent, et beaucoup plus qu'auparavant, les mêmes pâturages que les troupeaux des ovins et caprins (Naoui, 2013).

4.1. historique de la population cameline en Algérie:

Les Berbères possédaient des dromadaires bien avant l'arrivée des Arabes et l'Islam, ces gens nomades vivaient avec leurs dromadaires. L'arrivé des Arabes, a introduit ou réintroduit les Dromadaires Asiatiques dans le nord d'Afrique.

L'effectif camelin en Algérie est estimé à 354 475 milles races en 2014 (Babelhadj, 2017).

4.2. Evolution numérique du cheptel camelin en Algérie :

En Algérie où le Sahara occupe plus de 75 % de la surface totale, les camelins sont élevés selon un mode extensif (CHEHMA, 2002). En cette activité, l'Algérie est classé au 18éme rang mondial, et 8éme rang au monde Arabe. Le cheptel camelin est repartit sur trois Principales zones d'élevage ; le Sud – Est, le Sud – Ouest et l'extrême Sud (FELIACHI, 2003). On a remarqué une croissance quasi-continue du cheptel camelin national entre 1990 et 2010, mais selon des taux variables et instables, d'une période à une autre. Le cheptel camelin national est passé de 123000 t (1990) à 235000 t (2000), avec un taux de croissance de (+ 91,06 %), puis à 269000 t (2005) en enregistrant nouveau un taux de croissance de (+14 ,47 %), ensuite à 315000 t (2010) avec un taux de croissance de (17,10 %) par rapport à l'an 2005.(ALIOUA, 2004)

Le cheptel camelin est répartit sur trois principales zones d'élevage : le Sud-est, le Sud-ouest et l'extrême Sud avec respectivement 52%, 18% et 30% de l'effectif total, couvrant 17 wilayas (08 sahariennes qui détiennent à elles seules 83% de l'effectif et 09 wilayas steppiques) (TEDJANI, 2010 ; ADAMOU, 2011) (Figure.9).

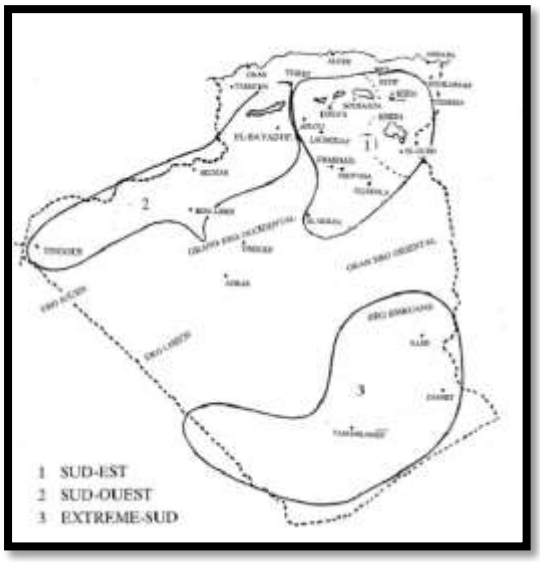


Figure.9 : Aires de distribution du dromadaire en Algérie (MERZOUK, 2015).

Les effectifs de camelins enregistrés en Algérie, sont représentés sur le Tableau :

Tableau 2 : Effectifs camelins en Algérie (têtes) en 2014 (LAKHDARI, 2016).

Aires de distribution du dromadaire		Wilaya	Effectif (race)
Sud-est	Wilayas sahariennes	EL-oued	27000
		Biskra	2626
	Wilayas steppiques	Tébessa	1090
		Khenchela	391
		Batna	20
Centre	Wilayas sahariennes	Ouargla	28359
		Ghardaïa	5500
	Wilayas steppiques	Laghouat	2002
		M'Sila	1410
		Djalfa	3700
Sud-ouest	Wilayas sahariennes	Bechar	24889
		Tindouf	43551
		Adrar	22029
	Wilayas steppiques	Naama	728
		El-Bayadh	11810
Extrême sud	Wilayas sahariennes	Tamenrasset	17423
		Illizi	15207
Total			**207735**

4.3. _ Les principales races dominantes du dromadaire en Algérie :

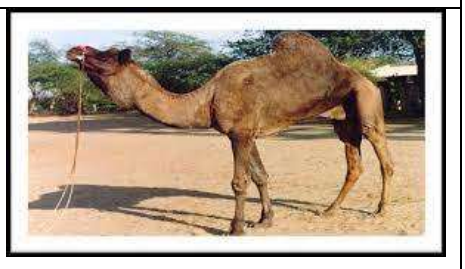
La morphologie du dromadaire est unique (cou long, bosse et sternum protubérant) .Le dromadaire mesure 2,2 à 2,5 m et pèse de 400 à 1 100 kg, selon la race, avec une espérance de vie de 25 ans. La plupart des mammifères vivant dans les régions désertiques vont sous terre, dans des tunnels ou des trous, pour éviter la chaleur et la sécheresse. Le dromadaire possède des caractéristiques physiologiques qui lui permettent de s'adapter à des conditions aussi rudes. Il a une grosse tête, un cou long et fin, de petites oreilles, de grands yeux saillants et un sinus para nasal ample et profond. C'est la seule espèce animale qui a un sinus aveugle latéral ; ce type d'anatomie permet de récupérer une partie de la vapeur d'eau perdue lors de l'expiration. La lèvre supérieure est divisée et très sensible et l'inférieure est large et pendante ; ses membres sont forts et la peau est épaisse. L'un des traits anatomiques qui distinguent le dromadaire des autres ruminants est sa grande et pied élastique bien adapté pour envoyer. La bosse est un tissu lipidique blanc de consistance molle susceptible de variations de volume selon l'état d'alimentation de l'animal. Le système digestif, à la fois la structure et la fonction, du dromadaire est différente des autres animaux ; il est capable d'utiliser efficacement la ressource alimentaire du désert.

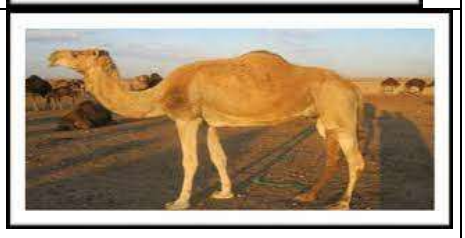
L'espèce algérienne est reconnaissable grâce à la taille du corps et à la couleur du pelage. Du Nord au Sud, il existe une variabilité dans la couleur et la nature des cheveux. Les races dérivent décroisement avec le dromadaire arabe. Au-delà de la composante génétique, le point commun est la diminution du nombre d'individus et un déclin critique de certains écotypes comme le chameau de la steppe et la race Ouled Sidi Cheikh que l'on trouvait autrefois dans la plaine d'Oran, il a été remplacé par le type sahraoui. Chaâmbi et Tergui sont les plus robustes et pourtant les plus recherchés ; la première race est un excellent méhari (coureur), la seconde est recherchée pour les reproducteurs mâles, augmentant la consanguinité parmi les populations existantes. Le nombre d'individus de dromadaires en Algérie se trouve dans 4 zones principales où une variabilité (en termes de taille corporelle et de but de reproduction et de races) est observée au sein de chaque région.

La ressource dromadaire en Algérie peut être regroupée en 2 groupes génétiques : les groupes Châambi et Tergui (Mahri). Huit sous-types sont recensés : Reguibi, Sahraoui, le Chameau d'Aftouh, Ajjer, Aït Kebbach, Ouled

Sidi Cheikh et le Chameau de la steppe. Ceci est confirmé par les études menées en Algérie par d'autres auteurs (Harek et all, 2017).
Les différentes races rencontrées en Algérie se retrouvent dans les trois pays d'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie) (Tableau 2). Il s'agit des races suivantes :

Tableau 3 : Les races dominantes de Camelus dromedarius en Algérie (Harek er al, 2017).

La race	Caractéristiques	Régions	La photo
Le Chaâmbi	Ligne médiane animale, musclée, "Race" fortement croisée avec le grade du dromadaire arabe, de petite taille, A des couleurs différentes. Très bon pour le transport et un bon producteur de lait	Du grand ERG Ouest au grand ERG Est	
L'Ouled Sidi Cheikh	Ligne Animal media, uni, Manteau foncé mi-long et animal de selle	Hautes terres au nord du Grand Erg occidental	
Le Sahraoui	Traversée Chaâmbi et Ouled Sidi Cheikh et Robuste au pelage foncé de couleur rouge mi-long	Grand ERG occidental au centre du Sahara	
Le Berberi	Forme fine, dos bien musclé et bon producteur de lait	Limite sud de la steppe	

L'Ait Khebbach	Animal bréviline de taille normale , Robe très foncée à poil court et animal chauve-souris	Sud-ouest algérien	
Le Chameau de la Steppe	Utilisé pour nomadisme rapproché	Les limites sud de la steppe	
Le Targui	Race" de Touareg du Nord, Animal fin et bien musclé, Petit bosse jetée en arrière, Petite queue, Un excellent noble Mahri, Arabe et Robe ou tarte blanche claire.	Hoggar et Sahara central	
L'Ajjer	animal bréviligne, Petite taille, S'adapte bien aux parcours dans montagne et bête et animal de selle.	Tassili N'Ajjer	
Le Reguibi	Animal maigre et énergique, Un très bon Mahri et une excellente selle animal et robe claire et cheveux courts.	Sud-Ouest (Béchar et Tindouf)	

5. Mécanismes physiologiques d'adaptation du dromadaire :

Le dromadaire a une physiologie entièrement tournée vers l'anticipation des périodes de pénuries alimentaires et hydriques. Les mécanismes d'adaptation à la déshydratation sont complexes et mettent en jeu un ensemble très large de

paramètres qui donnent, une fois réuni, ce comportement unique parmi les espèces domestiques.

La résistance du dromadaire à la déshydratation et à la chaleur est proverbiale. De fait, cette caractéristique qui a depuis longtemps intrigué les chercheurs représente l'un des aspects les plus étudiés chez le dromadaire (Faye, 1997). La plupart des espèces adaptées au milieu désertique ont développé un comportement de fuite vis-à-vis de la chaleur et de la sécheresse en s'enfonçant dans le sol pendant les périodes chaudes, limitant ainsi les déperditions d'eau et accèdent à une relative fraicheur. Un tel comportement est bien entendu inconcevable pour un animal de la taille du dromadaire. Aussi lui a-t-il fallu, au cours de son évolution, mettre en œuvre d'autres mécanismes physiologiques qui font de cette espèce, un remarquable modèle biologique de résistance à l'aridité. On peut ramener ces mécanismes d'adaptation à la déshydratation à deux mécanismes majeurs :

-la réduction des pertes hydriques par des processus d'économie ;

-le maintien de l'homéostasie par la régulation de la concentration des paramètres vitaux et une excrétion maximale.

A partir d'une synthèse des travaux portant sur la capacité du dromadaire à résister aux conditions d'un milieu caractérisé par son aridité et la faiblesse des ressources minérales alimentaires disponibles, les auteurs montrent que c'est grâce à la somme des différents petits perfectionnements des mécanismes métaboliques et physiologiques que le dromadaire peut survivre dans les conditions des milieux désertiques.

Le dromadaire est connu pour sa résistance à la soif, à la chaleur, à la sous nutrition protéique. Il a développé face aux contraintes du milieu désertique un ensemble de facultés physiologiques remarquables (Fayer, 1997) qui lui ont conféré une légendaire réputation. On sait également la capacité peu commune de cette espèce à ingérer des fourrages et de l'eau salés sans affecter ses

fonctions métaboliques (Bengoumi, 1992). Le dromadaire étant habitué à survivre dans l'univers minéral des zones arides et semi arides, on peut s'étonner de l'intérêt de travaux portant précisément sur la nutrition minérale chez les camélidés. Portant, les carences minérales sont assez largement répandues chez les espèces domestiques, notamment en Afrique (Van Schillorn Van Veen et loeffler, 1990), et le dromadaire n'échappe pas aux risques d'une alimentation déficitaire en éléments minéraux majeurs ou mineurs (Faye et Bengoumi, 1994).

Depuis une dizaine d'années, de nombreux travaux fondamentaux et appliqués ont été menés sur le métabolisme minéral chez le dromadaire par diverses équipes notamment au Maroc, à Djibouti ; en Jordanie, dans les émiraties arabes et en France. Les résultats semblent indiquer un ensemble de particularités accentuant encore la capacité de cette espèce à résister aux conditions d'un milieu caractérisé non seulement par son aridité, mais aussi par la faiblesse épisodique des ressources minérales alimentaires disponibles (Aichouni A, 2011).

1. Le système immunitaire des camélidés :

6.1. Le système lymphoïde :

6.1.1. La rate :

La rate est le plus grand des organes du système lymphoïde (Alshamarry, 2010) qui joue un rôle important dans la défense immunitaire. Chez le dromadaire, la rate a une forme semi-lunaire, avec une extrémité dorsale arrondie, séparée du corps principale par une zone étroite (Aichouni, 2008). Les corps de la rate se réduit progressivement jusqu'à l'extrémité ventrale. La rate du dromadaire a également une fine ligne crâniale et une épaisse ligne ventrale. Elle est placée au dessus du sac dorsal du premier compartiment (rumen) jusqu'à la partie postérieure du rein. Soin poids et de 5,5 à 6,6 kg (Aichouni, 2008). Elle possède une capsule épaisse de 292 106 mm (Figure.10) (Zidan et al, 2020).

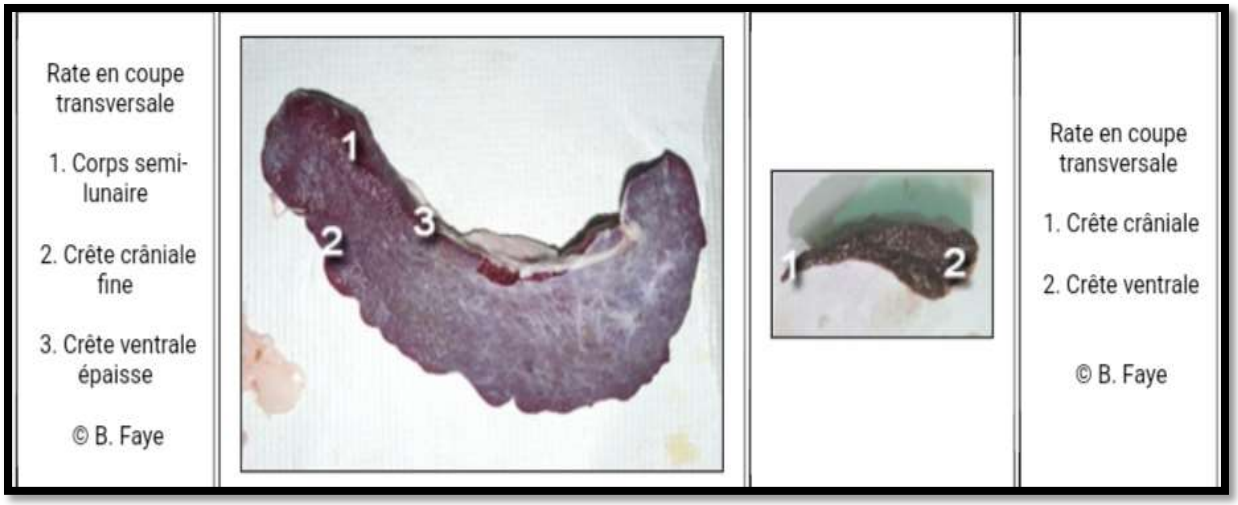


Figure10 : La rate du dromadaire (Zidan et al, 2020).

6.1.1.Les ganglions lymphatiques :

Les ganglions lymphatiques sont des petites boules de forme ovale du système immunitaire, largement distribués dans tout le corps, y compris l'aisselle et l'estomac/intestin et reliés par des vaisseaux lymphatiques.

Les ganglions lymphatiques contiennent des lymphocytes B, T et autres cellules immunitaires.

Les ganglions agissent comme des filtres ou des pièges à particules étrangères. Ainsi, les ganglions lymphatiques ont une signification clinique, surtout chez le dromadaire. Certains ganglions lymphatiques sont extérieurement palpables (Tafera, 2004).

Le principe caractéristique des ganglions du dromadaire est leur forme lobulée comme les glandes salivaires (Delory, 1986). Par palpation, le ganglion apparait dur au toucher, en relief, une consistance due à sa haute teneur en tissu fibreux. Le ganglion lymphatique du dromadaire se présente comme un agglomérat de petits grains, ce que confirme l'examen histologique (Osman, 1988).

Contrairement à d'autres ruminants, les ganglions lymphatiques du dromadaire ne se présentent pas en groupes, mais comme des organes isolés les uns des autres (Figure.11) (Abdel-Magied et al, 2011).

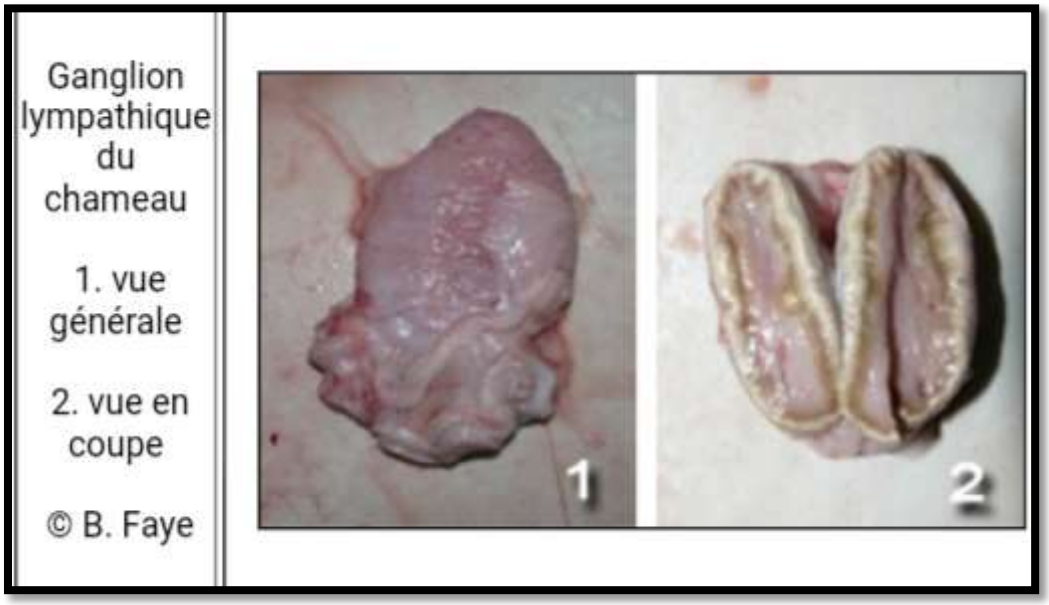


Figure 11 : Les ganglions lymphatiques du dromadaire (Abdel-Magied et al, 2011).

6.1.1.Le thymus :

Le thymus est un organe spécialisé du système immunitaire. Sa fonction principale est la production de lymphocytes T (cellules T), qui sont des cellules du système immunitaire adaptatif chez les chamelons. Le thymus est anatomiquement situé dans le médiastin supérieur antérieur, devant le cœur et derrière le sternum (Figure.12) (Aly et Khabir, 1986).

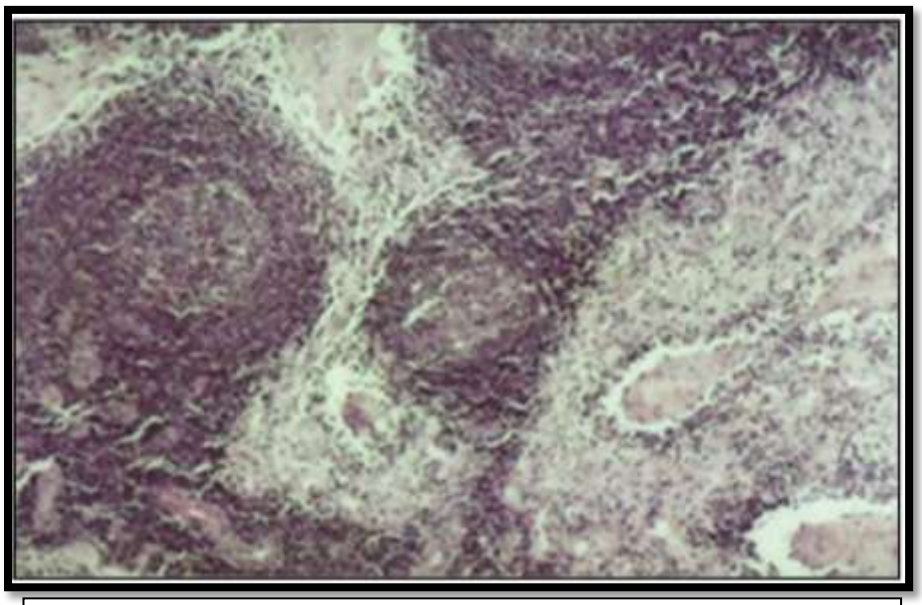


Figure 12 : coupe histologique du thymus du chamelon (Aly et Khabir, 1986).

6.1. Les anticorps :

Le système immunitaire des camélidés comprend des anticorps à chaine lourde unique. Les camélidés sont les seuls mammifères capables de produire des anticorps à chaine lourde (HCABS) dépourvus de chaine légère

(Tailib et al, 2014).

Cependant, on sait peu des choses sur la région du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) du génome du dromadaire (Antczak, 2013). La région génomique du CMH contient des gènes de réponse immunitaire (IR) qui jouent un rôle crucial dans les interactions hôte-pathogène (Jeneway et al, 2001).

Trois types d'immunoglobulines (IgA, IgG et IgM) ont été découverts et séparés chez les camélidés (Grover et al, 1983). Les immunoglobulines-y conventionnelles se composent de deux chaines lourdes, chacune contenant trois domaines invariants (constants) (CH1-CH3), une seule région variable (VH) et deux chaines légères composées d'une région constante (CL) et d'une région variable (VL).

Les régions VH et Vl forment ensemble le para tope et c'est la partie de l'anticorps reconnaissant l'antigène. Fait intéressant, les anticorps de dromadaire sont différents des autres animaux.

En plus de sa structure hétéro tétramère classique (deux chaines lourdes et deux chaines légères), le dromadaire possède également des anticorps non conventionnels plus petits. Ces immunoglobulines sont maintenant connues sous le nom d'anticorps à chaine lourde (HCAb). Les structures IgG non conventionnelles à 2 chaines sont dépourvues de la région constante de chaine lourde CH1 (Hamers and De Haard, 2007).

Les représentations structurelles des différents anticorps sont illustrées à la figure 13.

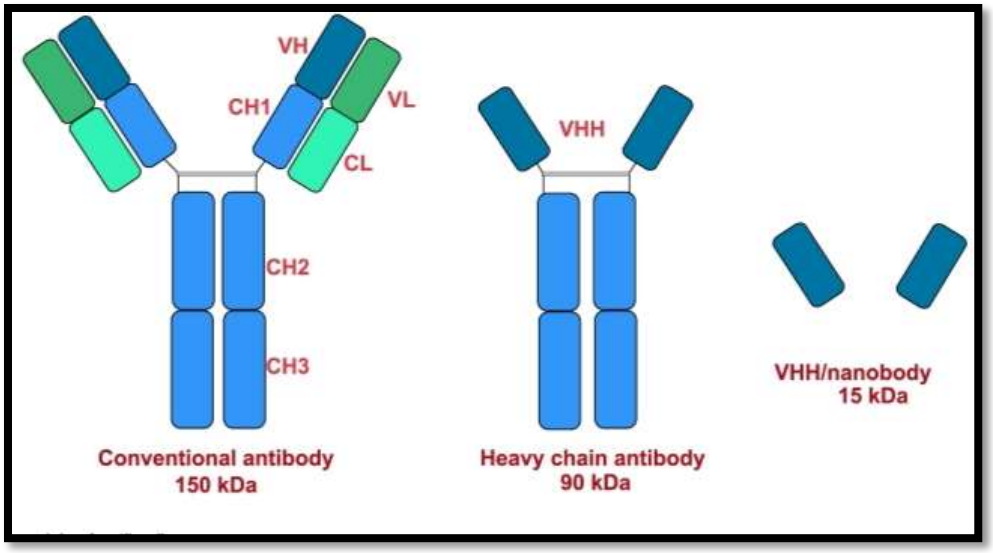


Figure.13 : modèles structuraux d'anticorps (Amanat A, 2019).

CHAPITRE 02: Les Pathologies infectieuses dominantes du dromadaire en Algérie.

1. Les maladies infectieuses chez les camélidés :

Les problèmes de pathologie constituent une contrainte importante du développement de l'élevage, c'est pourquoi, le comité international de l'OIE, sur la proposition des pays d'Afrique a décidé de consacrer une partie des travaux de sa 55 ème session générale en mai 1987, à l'étude des (maladies des camélidés).

Les publications sur la pathologie se répartissent comme suit :

- ✓ 52% pour les maladies parasitaires.
- ✓ 42% pour les maladies infectieuses.
- ✓ 2% pour les carences, les maladies nutritionnelles et les intoxications végétales.
- ✓ 4% pour les affections diverses, y compris celles faisant suite à des interventions chirurgicales.

Les maladies infectieuses chez les camélidés sont devisées en :

1.1. Maladies bactériennes :

La fièvre charbonneuse c'est la plus grave des maladies bactériennes des camélidés.

La brucellose clinique, avec avortements et lésions articulaires, et rarement observé.

La septicémie hémorragique a été signalée dans un certain nombre de pays

La peste du chameau due à Yersinia pestis, agent responsable de la peste bubonique de l'homme mérite d'être mentionnée parce qu'il s'agit d'une zoonose.

La salmonellose a été signalée chez les camélidés dans plusieurs pays, notamment l'Egypte, la Somalie, le Soudan.

La tuberculose, rare chez les nomades, et plus fréquente avec les concentrations d'animaux, en particulier dans les élevages de dromadaires attenant aux élevages de bovins.

La paratuberculose des camélidés a été mise en évidence par la sérologie en Tunisie, la littérature concernant cette maladie est particulièrement pauvre.

La leptospirose n'a été l'objet que de rares enquêtes sérologiques qui ont révélé l'existence d'anticorps en Somalie, en Tunisie, et en Egypte.

Les maladies clostridiales du dromadaire sont également mal inventoriées.

Le charbon symptomatique a été signalé en Algérie, Arabie Saoudite, au Tchad…

Le tétanos a été observé en Egypte et en Ethiopie, le botulisme en Mauritanie et au Tchad.

Les infections à staphylocoques sont communes : (la nécrose cutanée contagieuse), caractérisée par des lésions de nécrose et des abcès sur diverses parties du corps de l'animal.

Les infections pyogènes sont communes. Se traduisant par des lymphangites, accompagnées de lympadénite cervicale et sciatique et parfois d'abcès viscéraux.

La fièvre Q due à Coxiella burnetii, dont le dromadaire peut être un réservoir, source de l'infection humaine a été mise en évidence chez le dromadaire par des enquêtes sérologiques effectuées.

1.2. Maladies virales :

La variole est, de toutes les viroses du dromadaire, la plus répandue. Elle peut se présenter sous deux formes : **la forme localisée**, avec des lésions de la peau et de la muqueuse nasale et labiale chez les animaux de 2 à 4 ans ; **la forme généralisée** beaucoup plus grave chez les chamelons et les femelles gestantes.

L'ecthyma contagieux se manifeste par des papules, puis des pustules au niveau des lèvres, qui peuvent s'étendre à la muqueuse buccale et nasale.

La rage a été signalée chez les dromadaires dans plusieurs pays, notamment en Arabie Saoudite, en Iran et en Mauritanie.

Les infections à virus para-influenza type 3, responsables de pneumopathie ne sont pas rares, si l'on en juge par les enquêtes sérologiques effectuées au Niger, en Somalie et au Tchad.

Le dromadaire est en outre sensible à un certain nombre de maladies virales des ruminants, notamment **la fièvre aphteuse**, **la peste bovine**, **la fièvre catarrhale du mouton** et **la fièvre de la vallée du Rift**, mais ces infections sont inapparentes chez les camélidés (Blajan et Lasnami K, 1989).

2. Camelpox (La variole des camélidés):

Camelpox est une maladie virale contagieuse des camélidés à l'exception du dromadaire en Australie et des tylopodes (lama et espèces apparentés) (Shyam S et al, 2016), et se caractérise par des infections cutanées ou systématiques graves. Cette maladie peut avoir un impact économique majeur en raison de pertes importantes en termes de morbidité et de mortalité, de perte de poids et de faible rendement laitier (Maurilia M et al, 2020).

Cette maladie peut également être pathogène pour l'homme. La variole du dromadaire est principalement signalée en Asie (Iran, Irak, Arabie saoudite, Emiraties arabes unis, Yémen, Syrie, Inde, Afghanistan et Pakistan), en Afrique (Algérie, Egypte, Kenya, Mauritanie, Niger, Somalie, Maroc, Ethiopie, Oman et soudan) et les parties méridionales de l'ex-URSS (Roya M et al, 2020). (fig.14)

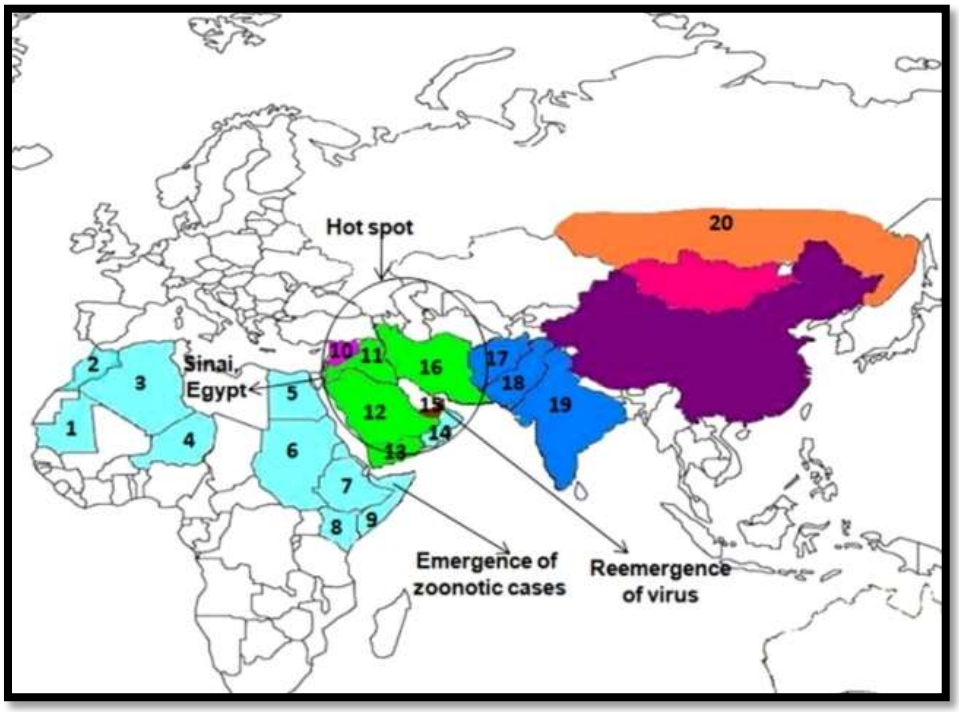


Fig.14 : Répartition géographique de camelpox dans le monde : 1 Mauritanie 2 Maroc 3 Algérie 4 Niger 5 Egypte 6 Soudan 7 Éthiopie 8 Kenya 9 Somalie 10 Syrie 11 Irak 12 Arabie saoudite 13 Yémen 14 Oman 15 émiraties arabes unis 16 Iran 17 Afghanistan 18 Pakistan 19 Inde 20 régions du sud de l'ex-Union soviétique.
(Balamurugan V et al, 2013)

La maladie affecte principalement les jeunes camélidés âgés de deux à trois ans et épidémies dans les troupeaux souvent associées au stress du sevrage ou à un mauvais état nutritionnel. La plupart des cas sont bénins et les animaux

guéris semblent posséder une immunité à vie contre la réinfection. Parfois, une forme plus grave de la maladie est rencontrée, qui peut être mortelle

(Mcgrane J et al, 1985).

2.1. Le virus de Camelpox (CMLV) :

Le virus de Camelpox (CMLV) est un espèce de virus à ADN double brin qui appartient au genre orthopoxvirus (OXPV) de la sous famille des Poxvirinae de la famille des Poxviridae (Abdelmalik L et al, 2017) (tableau 4).

Tableau 4 : la classification de camelpox virus (Wikipedia, 2021)

Camelpox virus :	
Classification des virus :	
Realm :	Varidnaviria
Kingdom :	Bamfordvirae
Phylum : Nucleocytoviricota	
Class :	Pokkesviricetes
Order :	Chitovirales
Familly :	Poxviridae
Genus :	Orthopoxvirus
Species :	**Camelpox virus**

2.1.1. La morphologie du virus (CMLV) :

Il s'agit d'un grand virus enveloppée dont la taille varie de 265 à 295 nm. Le CMLV est l'agent étiologique de la variole du camélidés, une maladie qui provoque des lésions cutanées et une infection généralisée chez les camélidés. L'analyse phylogénétique montre que parmi les orthopoxvirus (OPVS), le CMLV est la souche la plus proche du virus variolique (VARV), l'agent causal de la variole, bien que chaque virus présente une gamme d'hôtes strictement étroite. Le VARV présente une spécificité humaine exclusive, tandis que le CMLV infecte les camélidés avec de très rares cas d'infection humaine

(Ofir I et al, 2020).

Le génome des Orthopoxvirus est composé de plusieurs structures. Deux répétitions terminales inversées (ITRS), de séquence identique, sont présentes aux extrémités du génome de l'ADN double brin et forment des structures en épingle à cheveu fermées de manière covalente, l'ITRS se compose d'autres éléments de séquence, notamment des régions de répétition et de codage. De

plus, des régions terminales gauche et droite flanquent une région centrale conservée. Les régions terminales gauche et droite contiennent des cadres ouverts (ORFS) codant pour les protéines impliquées dans les interaction avec l'hôte, tandis que la région centrale renferme l'ORFS codant pour les protéines impliquées dans la processus de réplication virale essentiels (Maurilia M, 2020).

2.1.2. Les propriétés physicochimiques et la résistance de Camelpox virus :

Le virus de Camelpox des camélidés, montre des réponses variables aux agents physiques et chimiques. En général, le Camelpox virus est résistant à l'éther et sensible au chloroforme. Le virus est sensible à pH 3-5 et pH 8,5-10. Cependant la souche Etha 78 d'Irak est résistante à la fois à l'éther et au chloroforme alors que l'isolat Cp/Nw/92/2 du Soudan est sensible aux deux agents. Les virus de la variole sont sensibles à divers désinfectants, dont 1% d'hypochlorite de sodium, 1% d'hydroxyde de sodium, 1% acide acétique, formaldéhyde, 0,5% de composés d'ammonium quaternaire. Le virus peut être détruit par autoclavage, bouillant pendant 10 minutes et est tué par les rayons ultraviolets (longueur d'onde de 245 nm) en quelques minutes (Diriba A, 2019).

2.1.3. La réplication virale:

Une fois que le virus se fixe à une cellule hôte, il injecte son noyau viral (la coquille contenant son ADN) dans le cytoplasme de la cellule. Le virus porte l'ADN polymérase qui est utilisée pour transcrire ses gènes. Finalement, le noyau viral se dissout et le matériau génétique est porteur dans le cytoplasme. Lorsque toutes les protéines structurelles ont été produites, l'assemblage viral a lieu. Les particules de virus nouvellement formées peuvent être libérées pendant la lyse cellulaire, ou ils peuvent dériver une membrane de cellule hôte et être libérées par bourgeonnement (figure.15) (Gubser et al, 2001).

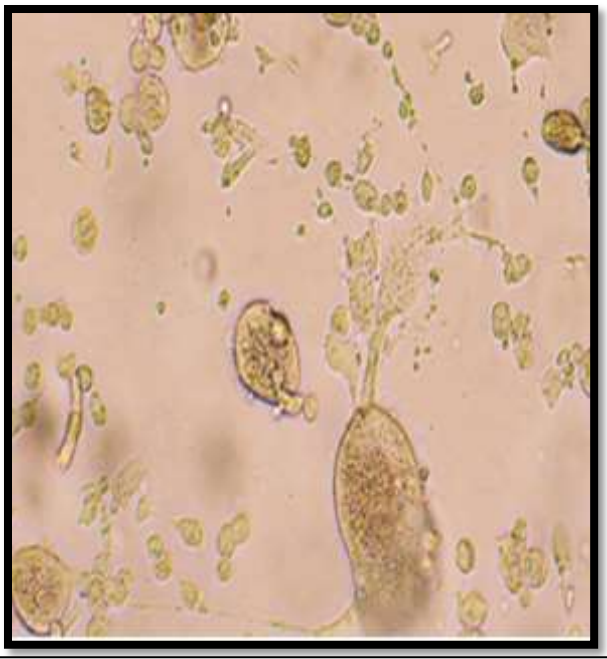


Figure.15 : Cellules Véro infectées par le CMLV présentant des changements caractéristiques tels qu'arrondis, ballonnements et syncytia avec des changements dégénératifs au jour 3 après l'infection. Grossissements 400X (Bhanuprakash v et al, 2010).

2.2. Pathogenèse :

Le CMLV pénètre généralement par la peau. Cependant, l'infection bucco-nasale est également rapportée. Après réplication locale et développement d'une lésion cutanée primaire. Le virus se propage aux ganglions lymphatiques locaux et entraine une virémie associé aux leucocytes, qui peut être associé à une fièvre. Pendant cette période, le virus peut être isolé de divers tissus, notamment la peau, les cornets, les poumons et également les organes lymphoïdes. Des lésions cutanées secondaires généralisées apparaissent quelques jours après le début de la virémie, et des nouvelles lésions continuent à apparaitre pendant 2-3 jours, après quoi la virémie disparait.

Le CMLV et le VARV provoquent la maladie chez une seule espèce hôte et les deux virus sont distinguables. Le CMLV est rarement causé la maladie chez l'homme. De même, le VARV est incapable de provoquer une maladie chez les camélidés, bien que les camélidés immunisés avec le VARV soient résistants à une infection ultérieure par le CMLV (Baxby D et al, 1975).

Le CMLV code pour plusieurs gènes qui s'opposent ou affectent la réponse immunitaire antiviral de l'hôte en interférant avec la réponse de l'interféron

(IFN), des cytokines pro-inflammatoires clés (**Interleukine-IL-1b**, **IL_** et facteurs de nécrose tumorale : **TNFS**), les chimiokines et les compléments

(Duraffor S et al, 2011).

Le CMLV contient des gènes codant pour une protéine spécifique, qui peut moduler ou échapper aux réponses immunitaires de l'hôte, l'apoptose cellulaire ou tissulaire. Il s'agit de la protéine de liaison aux chimiokines, du récepteur **TNF IL crmB**, de la protéine kinase, du transducteur de signal et de l'activateur de transcription (**STAT**) **1-inhibiteur (**Najaro P et al, 2001), des inhibiteurs de la serine protéinase, protéine de type **CD47**, inhibiteur de récepteur **IL-1/Toll-like** (Bowie A et al, 2000), inhibiteur **d'IFN**, récepteur **IFN-y** et protéine de liaison **IFN-/B (**Perdiguero B et al, 2009).

Les protéines codées par les cadres de lecture ouverts **(ORF) 31L**, **188R** ont des similitudes avec des serpines qui ont une activité anti-fusion ou anti-apoptotique et impliqués dans l'inflammation (Wenery U et al, 2002).

Les protéines codées par **ORFS 32L** et **55L** sont similaires aux protéines VAVC **K3L** et **E3L** qui interviennent dans la résistance à '**IFN (**Smith GL et al, 1992).

La protéine 6L est étroitement liée à une protéine humaine non caractérisée de la famille UPF0005 (Walter L et al, 1995) et elle régule peut être l'apoptose dans les cellules infectées par le CMLV (Boulter EA et al, 1971).

La protéine **201R** contient un peptide signal, un motif **RGD**, qui médie la liaison des protéines aux intégrines de surface cellulaire (Alcami A et al, 1998).

VARV, CPXV et CMLV codent pour des récepteurs solubles de l'interféron gamma (**IFN-gR**) qui contrecarrent l'activité de la cytokine et possèdent une large spécificité d'espèces. Cette nouvelle propriété de **l'IFN-gR** a probablement aidé tous ces OPVS à se répliquer dans plusieurs espèces (Alcami A et al, 1995).

Récemment, il a été démontré que le CMLV exprimait une nouvelle protéine inhibant l'apoptose (**v-GAAP**) et un nouveau facteur de virulence, la protéine **schlafen-like 176R (**Gusber C et al, 2007), qui est exprimaient à la fois la phase précoce et tardive de l'infection et jouent un rôle dans la modulation des réponses immunitaires innées et adaptatives contre les agents pathogènes

(Geserick P et al, 2004).

Le CMLV peut utiliser plusieurs moyens pour modifier ou arrêter la réponse immunitaire de l'hôte. Ces mécanismes ont été décrits in vitro simulant un environnement in vivo (Duraffor S et al, 2011).

2.3. Modes de transmission:

Les facteurs de risque associés à une incidence plus élevée de la variole des camélidés (Camelpox) ont été définis et comprennent l'âge moyen des animaux (moins de quatre ans), la saison des pluies de l'année, l'introduction de nouveaux camélidés dans un troupeau et l'abreuvement commun. La transmission de Camelpox se produit par contacts directs avec des animaux malades par abrasions cutanées ou par aérosols (Wenery U et al, 2002).

Les matériaux de croute, la salive et les sécrétions des camélidés affectés peuvent répandre le virus dans l'environnement (Ramyar H et al, 1972), comme dans l'eau qui devient alors la source d'infection (Roslyakov A et al, 1972). Diverses études ont démontré que l'incidence des épidémies de camelpox augmentait pendant les saisons des pluies avec l'apparition de formes plus graves de la maladie, tandis que pendant les saisons sèches, des formes plus douces sont observées. Il est émis l'hypothèse que des souches de CMLV de virulence différente peuvent expliquer le et les différences de pathogénicité observées entre les saisons sèches et humides, mais cela n'a jamais été évalué. Una autre possibilité pourrait être l'implication de populations d'arthropodes qui, abondantes pendant les saisons des pluies, pourraient exercer une pression virale plus importante sur les populations de camélidés (Al-Ziabi O et al, 2007).

2.4. Morbidité et taux de mortalité :

Le taux de morbidité de Camelpox est variable et dépend de la circulation ou non du virus dans le troupeau. Des enquêtes sérologiques réalisées dans plusieurs pays révèlent une prévalence élevée d'anticorps contre Camelpox

(Wenery U et al, 2002).

L'incidence de la maladie est plus élevée chez les males que chez les femelles.

Et le taux de mortalité est plus élevé chez les jeunes animaux adultes et compris entre 5% et 28% et chez les jeunes animaux entre 25% et 100%

(Mayer A et al, 1990). De plus, la mortalité est influencée par la présence de maladies intercurrentes, le stress, l'âge, l'état nutritionnel et l'animal et la virulence du virus (Al Hendi A et al, 1994).

Les épidémies de Camelpox chez les camélidés sont souvent temporaires en raison du déplacement des camélidés pour la pâturage et l'abreuvement, ce qui entraine le mélange des troupeaux et l'introduction de nouveau chameau dans un troupeau (Azwai M et al, 1996). Dans la plupart des troupeaux, l'infection est fréquemment observée chez les jeunes camélidés car l'immunité maternelle acquise diminue 5 à 8 mois après la naissance (Nothelfer H et al, 1995).

2.5. Le diagnostic clinique de Camelpox :

La période **d'incubation** varie entre quatre et 15 jours, après quoi la maladie commence par une fièvre légère, des lésions cutanées. Les papules apparaissent généralement pour la première fois sur la muqueuse labiale ; ceux-ci évoluent vers des vésicules, des pustules et éventuellement la formation des crottes. Un œdème diffus peut être présent autour les lèvres. Au stade vésiculaire, la chameau se frotte les lèvres pour soulager le prurit. Des difficultés à manger peuvent être ressenties et le chameau peut perdre son poids. Les ganglions lymphatiques locaux peuvent devenir hypertrophiés. Une croute brune se développe sur les lésions, qui guérissent généralement en trois semaines - (Fig.16). Les glandes mammaires, les organes génitaux, la région inguinale et périnatale, les cuisses et parfois les pieds peuvent également être touchés (Fig.17). Dans les infections généralisées, l'irritation est prononcée, la diarrhée et la déshydratation peuvent survenir, des infections bactériennes secondaires s'ensuivent et certains chameaux peuvent mourir (Mcgrane J et al, 1985).

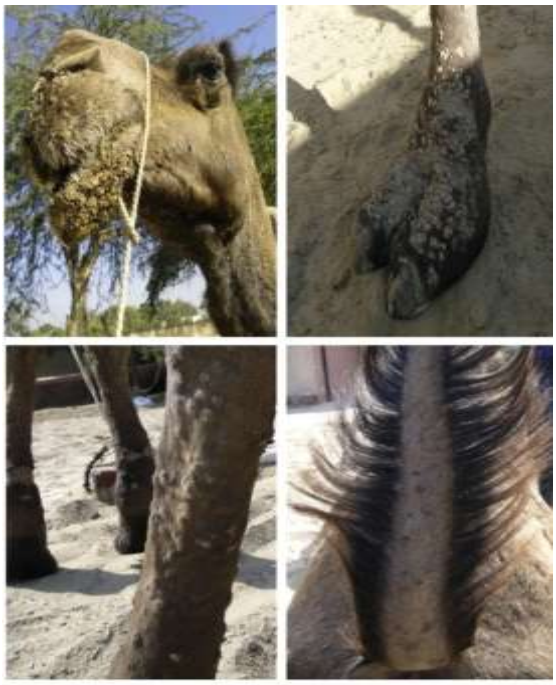


Fig.16 : lésions de camelpox des camélidés sur différentes parties du corps d'un dromadaire (Shyam S, 2016)



Fig.17 : stade avancé de camelpox des camélidés montrant des lésions à l'intérieur des cuisses d'un chameau infecté les glandes mammaires et les organes génitaux sont également fréquemment infectés (Mcgrane J et al, 1985).

2.6. Potentiel zoonotique :

Cela fait plus de 106 ans que Camelpox a été décrite pour la première fois au Pendjab, en Inde, en 1909, mais la nature zoonotique du CMLV est restée un débat (Wernery and Kaaden, 2002).

D'après Baxby (1972). Le CMLV est déférent du VARV, l'agent causal de la variole, et est incapable d'infecter l'homme. Kritz en Somalie (1982) a décrit le premier rapport d'un cas de Camelpox humaine. Le cas était un éleveur des camélidés de 40 ans qui a développé des lésions ressemblent à celles de Camelpox en juin 1978.

Depuis les années 1970 jusqu'à récemment, il est bien admis que le CMLV infecte rarement les humaines, il a été rapporté que les personnes buvant du lait provenant d'animaux atteints de Camelpox développent des ulcères sur les lèvres et dans la bouche (Duraffor et al, 2011).

La première preuve concluante d'une infection zoonotique à CMLV chez l'homme, associé à des épidémies chez des dromadaires, a été récemment signalés (Bera et al, 2011). Il ont été détectées chez les préposés aux animaux lors d'une épidémie de Camelpox, et les lésions étaient confinées aux mains et aux doigts des préposés aux camélidés et ont traversé toutes les étapes des lésions de Camelpox jusqu'à la formation de croutes. Il s'agit des premiers cas confirmés de variole zoonotique des camélidés, l'infection ayant été diagnostiquée par PCR conventionnelle et séroconversion.

Quatre autres cas de Camelpox chez l'homme (éleveurs de chameaux) ont été détectés récemment en 2015 dans la région de Showak, dans l'est du Soudan (figure.18) (Khalafalla et al, 2015).



Figure.18 : Lésion de camelpox sur le main d'un éleveur de camélidés, Soudan (Abdelmalik L et al, 2017).

2.7. Prévention et vaccination :

On dit que les éleveurs de camélidés bédouins protègent leur bétail en frottant une suspension de croutes de variole dans du lait sur la surface vestibulaire scarifiée des veaux (Mcgrane J et al, 1985).

Des programmes de contrôle efficaces tels que des mesures sanitaires, la quarantaine des zones infectées, la restriction des mouvements de camélidés, la gestion de l'eau potable et l'élimination des abrasions cutanées sont

malheureusement difficiles à appliquer en raison du schéma migratoire de production de camélidés en plus de la difficulté d'atteindre les camélidés surtout pendant la saison de pluies (Khalafalla et al, 1998).

Plusieurs vaccins CMLV sont produits dans le monde, sous forme d'adjuvant vivant atténué ou inactivé, Les vaccins vivants atténués CMLV contiennent des particules virales vivantes hautement transmissibles.

Le vaccin vivant atténué offre une protection contre la maladie pendant de nombreuses années, cependant, un rappel est recommandé pour les jeunes animaux vaccinés avant l'âge de 6-9 mois. Le vaccin inactivé offre une protection pendant 1 an seulement.

Récemment, il a été découvert qu'un vaccin CMLV atténué, préparé et commercialisé dans l'Arabie saoudite en utilisant la souche Jouf-78, contenait VACV plutôt que CMLV, autre vaccin CMLV disponible : le vaccin ducapox (Yousif A et al, 2012)

Tous les vaccins vivants conventionnels ont l'inconvénient de devoir être conservés à basse température pour maintenir leur efficacité et provoquer une réponse immunitaire appropriée, cependant, le maintien de la chaine du froid pendant la distribution peut être très difficile dans les pays tropicaux, en particulier en système nomade (Muaz A, 2012).

2.8. Le traitement :

Le traitement des cas graves comprend la minimisation des infections secondaires par application topique ou administration parentérale de large spectre. Les traitements alternatifs comprennent l'utilisation d'agents antiviraux tels que le **cidofovir** le ST-246. Le cidofovir inhibe les antibiotiques et les vitamines l'ADN polymérase du CMLV et des poxvirus (Xiaong et al, 1996).

Le cidofovir a une biodisponibilité orale. Dans certains cas, les virus résistants sont difficiles à traiter avec le cidofovir mais leur virulence peut être atténuée. ST-246 est un nouveau composé de faible poids moléculaire, puissant et biodisponible par voie orale contre plusieurs OPVs, notamment le VACV, CPXV, CMLV, MPXV et le VARV sélectif. ST-246 est facilement absorbé après administration orale avec des temps moyens jusqu'à la concentration maximale de 2 à 3 heures (Jordan et al, 2008).

De plus, ST-246 administré en association avec le vaccin antivariolique n'interfère pas avec l'immunité protectrice induite par le vaccin ; ce qui est indiqué par l'apparition de prises au site d'inoculation du vaccin et la protection de l'animal vacciné contre une provocation virulente (Smee et al, 2002).

CHAPITRE 03: Les techniques de diagnostic du Camelpox : Le diagnostic expérimental

1. La microscopie électronique à transmission (MET) :

La microscopie électronique à transmission (MET) et l'analyse enzymatique de restriction (REA) peuvent être utilisées pour différencier la variole du dromadaire des autres infections causées par l'OPVs et le PPVs(Al-Ziabiet et al,2005). La MET est une méthode fiable et rapide pour démontrer la présence d'OPVs dans des croûtes ou des échantillons de tissus, même si une concentration relativement élevée du virus dans l'échantillon est requise (Duraffouret al, 2011). Cette technique permet de différencier les OPVs, de forme de brique, et les PPVs de forme ovoïde (Vinayagamurthyet al, 2013).

1.1. Imagerie MET:

Selon la procédure qu'a été réalisé par (Oran et al, 2018), Un petit morceau de lésion cutanée a été traité par vortex dans du PBS, puis l'inactivation et la fixation ont été réalisées en utilisant du formaldéhyde tamponné (FA) à 2 % pendant 30 min à 25° C, suivi de 30 min supplémentaires d'incubation à 25 °C. Un volume de 10 µL a été appliqué sur des grilles TEM en cuivre revêtues de carbone 300maillage traitées au bleu alcane à 1%. Les échantillons ont été incubés pendant 10 minutes, puis l'excès de liquide a été épongé à l'aide de papier Whatman. Les grilles ont été lavées trois fois avec de l'eau distillée et colorées avec de l'acide phosphotungstique à 1 %. Après séchage à l'air, les échantillons ont été visualisés à l'aide d'un TEM Tecnai T12 (Thermo Fisher, Oregon, USA) fonctionnant à 120 kV et équipé d'une caméra Gatan ES500W Erlangshen. La mise à l'échelle a été effectuée à l'aide d'un étalon de taille connue mesuré à différents grossissements. La longueur virale de chaque particule a été mesurée en étirant une ligne de bout en bout.

En conséquence, les échantillons de lésions cutanées de dromadaire ont été préparés pour le diagnostic MET. Les échantillons, ont été analysés par MET. Les échantillons colorés négativement ont clairement montré la morphologie caractéristique en forme de brique du VPO (Figure 20A-E), des protéines de surface tubulaires claires disposées de manière irrégulière (Fig. 19)(Omar et al ,2007).

Contrairement à la forme ovale du PPV avec des tubules dans un motif entrecroisé (Figure 20 F). Au moins 20 particules pourraient être identifiées dans une grille. Les dimensions du diamètre viral étaient de 217,6 ± 18,7 × 293,15 ± 18,8 nm. Ces valeurs sont conformes à celles rapportées dans la littérature. Ainsi, le diagnostic MET a indiqué l'existence d'un virus de type

OPV dans la peau des dromadaires, Aucune particule de papillomavirus n'a été observée (Oran Et al, 2018).

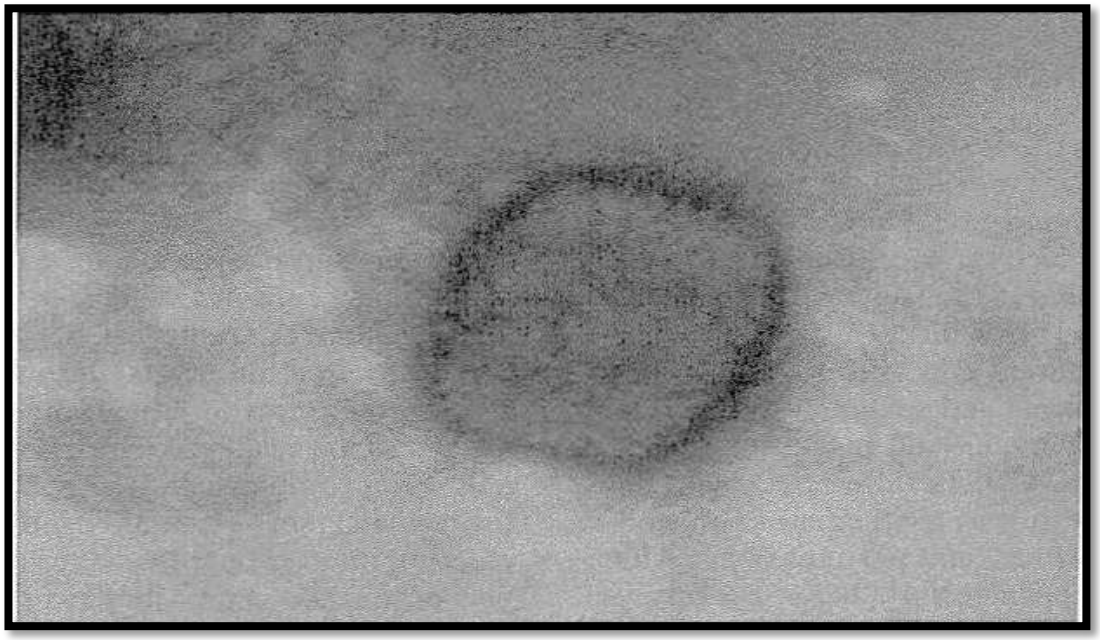


Figure. 19 : Microscope électronique d'un échantillon de peau homogénéisé. Aspect typique en forme de brique d'un Orthopoxvirus avec des protéines de surface tubulaires claires.

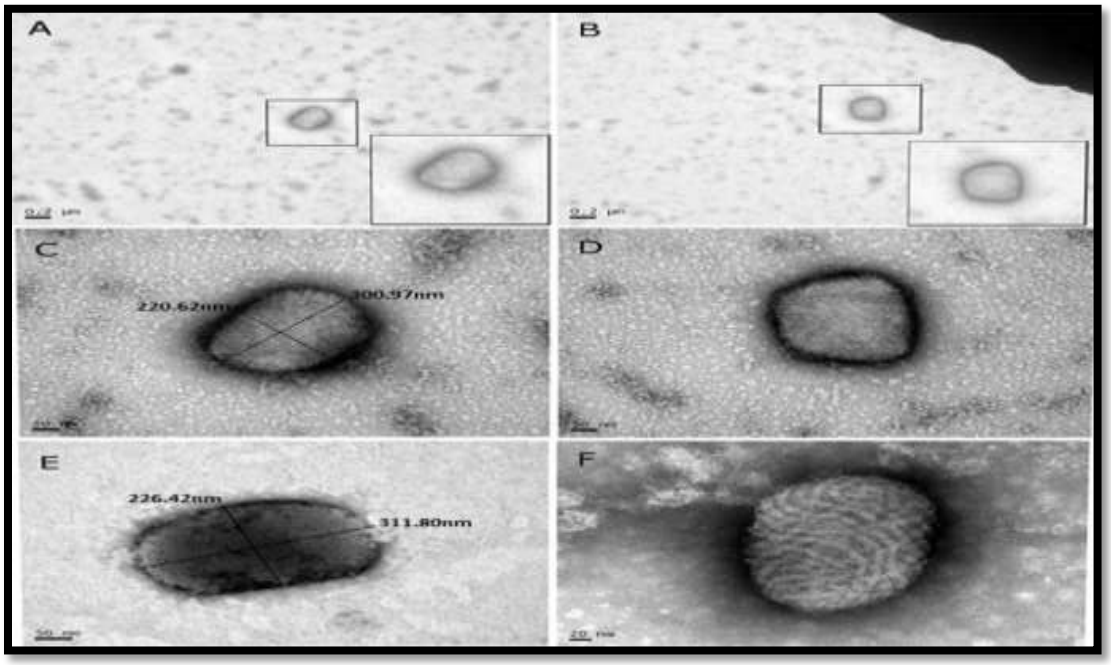


Figure 20 : (A-E) Images de microscopie électronique à transmission (MET) de particules virales extraites de lésions prélevées sur quatre dromadaires individuels et colorées négativement avec 1 % d'acide phosphotungstique (PTA). A noter que la morphologie et les dimensions des particules virales correspondent à la morphologie et aux dimensions de la famille des Orthopoxvirus (OPV). (F) À titre de comparaison, une image MET d'un virus orf après coloration négative. Notez les différences morphologiques profondes entre le virus orf (F) qui appartient à la famille PPV, et la famille OPV (A-E).

2. L'immunohistochimie :

L'immunohistochimie pour la détection de l'agent infectieux de la variole du dromadaire est une méthode relativement rapide et peut être utilisée à la place de la microscopie électronique pour établir un diagnostic provisoire (Nothelfer et al., 1995). Presque tous les anticorps polyclonaux contre le virus de la vaccine sont susceptibles de produire des résultats raisonnables dans ce test en raison de la large homologie entre les virus de la vaccine et de la variole du dromadaire (Nothelfer et al, 1995).

La procédure suivante pour l'immunohistochimie est décrite par Kinne et al. (1998) et Pfeffer et al. (1998b). L'ensemble de la pustule cutanée doit être collecté pour l'examen immunohistochimique. Fixez le tissu dans du formol à 10 %, déshydratez-le avec des alcools gradués et incorporez-le dans de la cire de paraffine conformément aux procédures histopathologiques standard. Couper des sections d'environ 3 µm et placer sur les lames de verre. Traiter les coupes déparaffinées et déshydratées avec 3% H2O2, préparé dans de l'eau distillée, pendant 5 minutes et laver avec du PBS. Incuber les lames pendant 60 minutes à 37°C avec l'anticorps monoclonal anti-virus de la vaccination 5B42 dilué au 1/500. Retirer l'anticorps monoclonal en lavant deux fois avec du PBS froid. Incuber les lames pendant 30 minutes avec des anticorps anti-souris marqués à la biotine. Laver avec du PBS pendant 5 minutes et incuber avec de la streptavidine-peroxydase pendant 30 minutes. Laver à nouveau avec du PBS pendant 5 minutes et ajouter de la di amino benzidine comme chromogène pendant 10 minutes.

3. Isolement- du virus:

Le virus Camelpox a été isolé pour la première fois en 1969, Depuis lors, de nombreux pays ont signalé l'isolement. Les systèmes les plus utiles qui peuvent être considérés pour l'isolement CMLV sont décrits ci-dessous. (Veerakyathappa B et al, 2015)

Les cultures cellulaires et les œufs de poule embryonnés sont les techniques les plus utiles qui peuvent être envisagées pour l'isolement du CMLV (Bhanuprakashetal et al, 2010). Le virus de la variole du dromadaire peut être propagé dans une grande variété de cultures cellulaires, y compris les lignées cellulaires suivantes : Vero (rein de singe vert transformé), MA-104 (rein de singe vert d'Afrique), BHK (rein de bébé hamster) et Dubca (fibroblastes de peau de chameau transformés) ainsi que des cultures cellulaires primaires comprenant des testicules d'agneau, des reins d'agneau, des reins d'embryons de dromadaire, des reins de veaux et des fibroblastes d'embryons de poulet (Megersa,2010) Cependant, les cellules Vero, MA-104 ou Dubca, dans lesquelles le virus se réplique facilement, sont généralement préférées . Des échantillons de sang, de sérum et de tissus homogénéisés peuvent être utilisés pour infecter les cultures cellulaires. Les cultures doivent être surveillées pour détecter les effets cytopathiques de type plaque (CPE) caractéristiques pendant 10 à 12 jours (Weledegbrial, 2016).

3.1. La préparation des échantillons pour l'isolement du virus :

Dans les travaux de Gelagay A en 2013 pour le premier isolement et caractérisation moléculaire du virus Camelpox en Éthiopie, La taille d'un échantillon doit être d'au moins 30 à 50 mg. Émincer les croûtes ou l'échantillon de tissu avec une lame jetable ou des ciseaux et une pince

stériles. Broyer l'échantillon dans un volume cinq fois de solution saline tamponnée au phosphate (PBS) avec des antibiotiques (tels que 105 unités internationales [UI] de pénicilline et 10 mg de streptomycine par ml) à l'aide d'un mortier et d'un pilon avec du sable stérile. Les échantillons ont été conservés à 20 °C jusqu'à utilisation, soit pour l'extraction d'ADN

Transférer l'échantillon dans un tube à centrifuger et congeler et décongeler deux à trois fois pour libérer le virus des cellules. Vortexer les échantillons pendant la décongélation. Placer les tubes sur de la glace et soniquer une fois pendant 30 secondes à 80 Hz. Centrifuger à 1000 g pendant 10 minutes pour éliminer les grosses particules et récupérer le surnageant (Pfeffer et al, 1996 ; 1998b) (oie trrestial Manual 2018).

Pour l'isolement du virus, Les échantillons de biopsie ont été décongelés à température ambiante et lavés trois fois en utilisant du PBS stérile à un pH de 7,2 sous hotte à flux d'air laminaire. Environ 1 g des échantillons a été broyé à l'aide d'un mortier et d'un pilon stériles en ajoutant 10 ml de solution saline de tampon phosphate stérile (PBS) contenant de la gentamycine. La suspension tissulaire a été centrifugée à 1500 tr/min pendant 15 min. Le surnageant a été collecté et environ 1 ml a été inoculé sur des cellules monocouches Vero cultivées sur des flacons de culture tissulaire de 25 cm2 puis flashé avec un milieu de croissance et incubé à 37°C et 5% de CO2 dans un incubateur humidifié. Les cellules ont été surveillées quotidiennement pour l'effet cytopathique (CPE) et congelées lorsque le CPE a été présenté.

(Gelagay A, 2013).

les échantillons de tissus traités, ceux qu'étaient positifs, ont montré des effets cytopathiques caractérisés par de petits syncytia, un ballonnement cellulaire, un arrondissage, une agrégation et un détachement (desquamation) de la feuille cellulaire dans les 7 à 10 jours suivant l'inoculation

Des effets cytopathiques de type plaque peuvent apparaître un jour après l'infection . Le CPE comprend la formation de syncytia multi nucléés, l'arrondi, le ballonnement, le détachement cellulaire, la formation de cellules géantes multi nucléées et les syncytia avec des changements dégénératifs.

3.1.1.Œufs embryonnés:

Le virus de la variole du dromadaire peut être isolé sur la membrane chorioallantoïque (CAM) d'œufs de poule embryonnés âgés de 11 à 13 jours. Des œufs de poule embryonnés ont été inoculés sur une membranechorio-allantoïque (CAM) avec 0,2 ml d'échantillon préparé et incubé à 37°C. Les CAMS recueillis ont été examinés pour les lésions jusqu'aux 4-5èmes passages (Yassein M, 2014).

3.1.2.Inoculation membranaire chorioallantoïque:

Dans le cadre d'une étude sur les caractéristiques de croissance de vaccinia et virus Camelpox dans les œufs et la cellule embryonnés la culture et leur détection par chaine de polymérase réaction réalisé par Hanan M en 2005, une croix a été faite dans une zone au-dessus de la chambre à air et un autre sur côté œuf à l'aide d'un crayon. Les œufs ont ensuite été tamponnés avec de l'alcool à 70% et un pore a été creusé au niveau des croix en forant juste assez de profondeur pour pénétrer la membrane de la coquille pour s'assurer que chaque membrane chorioallantoïque (CAM) tombe pour former un faux sac aérien. Pour faire tomber la membrane, une poire en caoutchouc a été utilisée. La poire a été placée sur le trou dans l'extrémité de la cellule d'air de l'œuf et aspirée lentement de la cellule en relâchant la pression sur la poire dégonflée.

Des trous ont été percés à la profondeur appropriée, pour créer un faux sac d'air qui se formerait dans la zone du deuxième trou. Les œufs ont été

inoculés par voie de membrane chorioallantoïque (CAM) avec des seringues stériles jetables de 1 ml. En utilisant juste la pointe de l'aiguille, 0,1 à 0,2 ml d'inoculum a été injecté à partir de la seringue. Les pores ont été scellés avec de la cire de paraffine fondue. Les œufs ont été incubés à 37°C pendant 5 jours avec mirage quotidien pour vérifier la mort des embryons.

Les embryons morts au cours des 24 heures d'inoculation ont été considérés comme non spécifiques et rejetés et ceux qui ont survécu, par la suite ont été tués par réfrigération à 4°C.(HANAN M,2005).

Et pour récolter la membrane chorioallantoique: Les œufs retirent du réfrigérateur, désinfectés avec de l'alcool à 70 % et la coquille recouvrant le sac aérien retire à l'aide de pinces stériles. On a pris soin de ne pas perturber le CAM, et la zone d'inoculation examine à la recherche de lésions avant le retrait de la coquille ; le CAM a ensuite détaché de la coquille avec des pinces stériles, débarrassé de l'excès de liquide avec une autre pince et placé dans une boîte de Pétri stérile, puis l'examen des lésions de la gueule a effectué. Des échantillons de CAM montrant une lésion la gueule collecte et homogénéisés à l'aide de mortiers et de stérile à l'aide de sable stérile. Les échantillons ont centrifugé à 1000 rpm pendant 10 min.

Les fluides surnageants ont collecté dans des flacons stériles et traité avec des antibiotiques, puis stocké dans des flacons Bijou stériles à +4°C

(HANAN M, 2005).

Après 4 à 5 passages successifs de CAMS inoculés par prélèvements cutanés, le résultat est dense, lésion gueule élargie blanc grisâtre (Fig. 21). Aucune mort de l'embryon n'a enregistré.



Figure 21 : Lésions de gueule on CAM inoculées avec une suspension de croutes cutanées (Yassein M et al, 2014).

3.2. Cultures cellulaires :

Selon Duraffour et al en 2011, diverses lignées cellulaires sont sensibles à CMLV incluant HeLa, GMK-AH1, BSC-1, WISH et Véro. CMLV peut également être propagé dans MA-104 et rein de singe MS et rein de bébé hamster cellules. Cultures cellulaires primaires telles que testicules d'agneau, agneau rein, rein embryonnaire de dromadaire, rein de veau et Le fibroblaste d'embryon de poulet peut également être utilisé (TekalignT et al, 2018) Le CMLV montre des effets cytopathiques typiques sur une grande variété de cultures cellulaires (Duraffour et al, 2011).

CMLV montre des effets cytopathiques typiques sur une large variété de cultures cellulaires. Intra cytoplasmique corps d'inclusion éosinophile, caractéristiques des infections par le poxvirus, peut être démontrée dans cellules infectées à l'aide d'hématoxyline et d'éosine coloration. Les poxvirus sont épit héliotropes et VACV et CPXV ont la capacité d'infecter cultures en radeau de kératinocytes humains. Fait intéressant, CMLV a également la capacité d'infecter les kératinocytes humains même si le CMLV est limité aux camélidés. Contrairement à VACV ou CPXV, qui ont une spécificité

d'hôte plus large, CMLV a également montre pour infecter HEL fibroblastes. Les changements dans les radeaux infectés par le CMLV étaient cytopathogènes et sont identiques à ceux décrit pour l'épithélium isolé d'infections dromadaires (Diriba A, 2019).

L'effet cytopathique caractéristique comprend arrondissage, vacuolisation, géant multi nucléé formation de cellules, syncytia et changements cytolytiques dans les Cellules Vero (Marodom et al, 2006).

3.2.1. Isolement dans des cellules rénales de singe vert d'Afrique (Vero) :

Fatima A et al en 2017ont effectué l'isolement dans des cellules rénales de singe vert d'Afrique (Vero) Cinq tubes de culture contenant des monocouches semi-conflents ont été utilisé pour chaque échantillon. Les tubes ont été ensemencés avec 0,2 ml d'inoculum et incubé à 37oC dans un incubateur humidifié pendant une heure. Par la suite, les inoculums ont été retirés et la culture de tissus frais (GMEM) avec 2 % de sérum de veau et des antibiotiques ont été ajoutés. Les tubes inoculés et témoins ont été incubés à 37o C dans un humidifié incubateur. Les tubes ont été surveillés quotidiennement pour l'effet cytopathique (CPE) à l'aide d'un microscope inversé et congelé lorsque le CPE a atteint 80% ou plus. Certains des échantillons qui n'ont montré aucun CPE après la première inoculation ont été passés à l'aveugle trois fois avant d'être examinées négatif. (Fatima A et al, 2017).

Ils ont obtenu Sur les cellules Véro, ils ont remarqué l'arrondissement des cellules et la production de typiques plaque avec syncytia (cellules géantes multi nucléées) observées dans 3 à 10 jours d'incubation, qui s'est ensuite détachée de la culture ballon. Ce CPE caractéristique du Camelpox virus est conforme à la rapport fait par Ayelet et al, et Khalafalla et al. qui a déclaré que les échantillons de gale prélevés sur les Camélidés poussaient très bien sur

Cellules Véro. Ces auteurs ont également observé que le CPE produisait par CPV sur culture cellulaire consistait en l'arrondissement des cellules, la formation des plaques, élongation cytoplasmique et cellule géante multinucléée, agrégation et enfin détachement de la feuille cellulaire. Ces résultats sont également en accord avec Ngugen et al, et Otterbein et al, qui ont rapporté que les souches de type sauvage de CPV avaient une forte CPE sur différentes lignées cellulaires.

4. Test Sérologique:

4.1. ELISA: Test immuno-enzymatique pour la détection d'anticorps contre le virus Camelpox :

ELISA est développée pour la détection des anticorps IgG et IgM totaux contre le virus de la variole des camélidés dans les sérums de dromadaire et pour l'identification des antigènes séroréactifs du virus. C'est une méthode simple qui peut être appliquée pour une étude rétrospective et aussi pour des enquêtes épidémiologiques. Le test est plus sensible que la neutralisation virale (VNT). La procédure suivante pour le test ELISA d'anticorps pour Orthopoxvirus cameli est décrite par Azwai et al. (1996) et Pfeffer et al. (1998b). La description suivante donne des directives générales pour la procédure de test.

4.1.1. Préparation de l'antigène :

Lowery et al en 1950 ont décrit les étapes de la préparation de l'antigène :

- Récolter la culture cellulaire lorsqu'elle est infectée à 100 % par le virus de la variole du dromadaire. Congeler et décongeler deux à trois fois. Soniquer pendant 30 secondes à 80 Hz sur bain de glace pour libérer le virus des cellules.
- Centrifuger à 1000 g pendant 10 minutes et récupérer le surnageant.
- Centrifuger le surnageant à 45 000 g à -4C pendant 1 heure.
- Re-suspendre le culot dans du PBS.)
- Ajouter du NaCl à une concentration finale de 330 mM et du polyéthylène glycol (PEG 6000) à une concentration finale de 7 %.
- Agiter pendant une nuit à 4°C, centrifuger à 3000 g à 4°C pendant 10 minutes et laver le culot deux fois avec 15 mM de NaCl.
- Congeler et décongeler, et traiter avec un détergent non ionique à 1% (Nonidet P40, Sigma) à 37C pendant 3 heures)

- Congeler et décongeler et centrifuger à 3000 g pendant 10 minutes à 4°C.
- Recueillir le surnageant et dialyse au moins trois fois contre PBS.
- Mesurer la concentration en protéines
- Conserver les aliquotes à -20°C. (Lowry et al. (1951).

4.1.2. Préparation de conjugué IGg raifort-peroxydase anti-camel de lapin :

Selon la procédure utilisée par Azewai et al en 1995 :

Le conjugué IgG anti-camel lapin-peroxydase de Raifort n'est pas disponible dans le commerce. Le procédé de production d'anticorps monoclonaux pour les IgM et IgG de dromadaire. Cependant, l'IgG de lapin anti-camel-peroxydase de Raifort peut être remplacée par une protéine A-peroxydase disponible dans le commerce, le conjugué Staphylococcies aureus/Raifort.

- Précipiter les sérums de dromadaire en ajoutant deux fois du sulfate d'ammonium saturé à une concentration finale de 40 % (v/v) (29,6 % de sulfate d'ammonium [p/v]) à température ambiante. Centrifuger à 12 000 g pendant 15 minutes et dissoudre dans du PBS, pH 7,2. Dialyse contre plusieurs changements de PBS pendant la nuit.

Séparer les immunoglobulines par chromatographie de filtration sur gel : une colonne ACA-34 (LBK) (2,6 × 100 cm) peut être utilisée pour séparer les immunoglobulines précipitées par le sel (IgMet IgG) par taille. L'élution peut être effectuée avec du PBS à 20 ml/heure et des fractions de 6 ml peuvent être recueillies. Déterminer les concentrations de protéines par absorbance à 280 nm.

4.1.3. Production d'Antisérum :

Immuniser les lapins avec une injection sous-cutanée d'IgG de dromadaire émulsifié dans un adjuvant approprié.

Les animaux doivent être immunisés trois fois pour stimuler la production d'anticorps. Recueillir le sérum et conserver à -20 jusqu'à utilisation.

4.1.4.Procédure de test:

- Enduire des plaques de microtitration ELISA à 96 puits avec l'antigène préparé à 1 µg/ml dans un tampon carbonate/bicarbonate, 0,05 M, pH 9,6 (100 µl par puits).

- Incuber les plaques ELISA dans une chambre humide (100% d'humidité) à 37°C pendant 1 heure et puis nuit à 4°C.

- Laver l'antigène non lié avec 3 fois du PBS contenant 0,05 % de Tween 20 (PBS/Tween).
- Ajouter 100 µl de sérum de test et de contrôle à une dilution optimale prédéterminée dans du beurre bloquant (PBS contenant 0,05 % de Tween 20 et 1 % de poudre de laité crémé) dans puisent double. v) Incuber les plaques pendant 30 minutes à 37°C. vi) Laver les plaques trois fois avec du PBS/Tween.
- Diluer le conjugué IgG de lapin anti-chameau-peroxydase de Raifort ou le conjugué protéine A-peroxydase Staphylococcies aureus/conjugué de raifort à une dilution de travail prédéterminée dans du tampon de blocage et ajouter 100 µl dans les puits.
- Incuber les puits à 37°C pendant 30 minutes.
- Laver les plaques trois fois avec du PBS/Tween.
- Rendre la réaction visible à l'aide de 100 µl chromogène 3,3' 5,5 Tétra méthyle benzidine (TMB) par puits et incuber 15 minutes à 37°C sous agitation.
- Stoppe la réaction 10 minutes plus tard par 2 M H;SO, à un volume de 50 µl/puits (Azwai et al, 1995).

5. Test de neutralisation:

Test de neutralisation du sérum : La neutralisation est la plus courante et test la confirmation pour le diagnostic d'OPXV. Généralement, les sérums à tester sont titrés contre un CMLV constant (OIE, 2018)

Briba en 2019 a utilisé la procédure suivante : Les Échantillons de sérum prélevé (n= 3.)Ont été initialement soumis à une contre-immunoélectrophorèse (CIE) et plus tard à la neutralisation sérique test (SNT) pour détecter Anticorps spécifiques du CMLV. En CIE, CMLV-I et hyper Les immuns sérums (HIS) contre le CMLV-I ont été utilisés comme positifs antigènes et anticorps, respectivement. Pour SNT.

Les échantillons (engrangées double) ont été dilués dans du sérum sans EMEM dans une série de dilutions au double de 1:2 à 1:64 dans une plaque de culture tissulaire 96 puits à fond plat. La référence Une suspension de CMLV titrant 100TCID50 dans 50ml a été ajoutée à chaque puits de sérum et le mélange a été incubé pendant 1 h à 37 8C dans un incubateur à CO2 humidifié. 50ml aliquote de suspension cellulaire Véro (~1,5 106/ml) a été ajouté dans chaque puits et les

plaques ont été incubées. Sérum (sérum de contrôle positif et négatif), virus et cellules des témoins ont été inclus dans le test. Les plaques étaient observées quotidiennement pour le CPE dans les cellules infectées pendant 7 jours. La dilution la plus élevée de sérum inhibant le CPE du virus à là Le point final de 50 % a été pris comme titre neutralisant de l'échantillon de sérum (Biriba, 2019).

6. PCR : réaction en chaine par polymérase :

6.1. Définition de PCR :

C'est une technique permet de copier en grand nombre (avec un facteur de multiplication de l'ordre du milliard) une séquence d'ADN ou d'ARN connue à partir d'une faible quantité (de l'ordre de quelques picogrammes) d'acide nucléique, donc c'est une technique de purification ou de clonage

(Ziada B, 2020).

6.2. Principe de la PCR :

La PCR nécessite 4 composants principaux : l'ADN polymérase thermostable, les nucléotides triphosphates (qui servent de blocs de construction pour la création d'ADN), l'échantillon d'ADN à amplifier et les amorces spécifiques du gène. La PCR est composé de cycles répétitifs de 3 étapes consécutives qui nécessitent des conditions de température distinctes, cette réaction est accomplie grâce à l'utilisation d'un thermocycleur (thermocycler) (Faoud T et al, 2008).

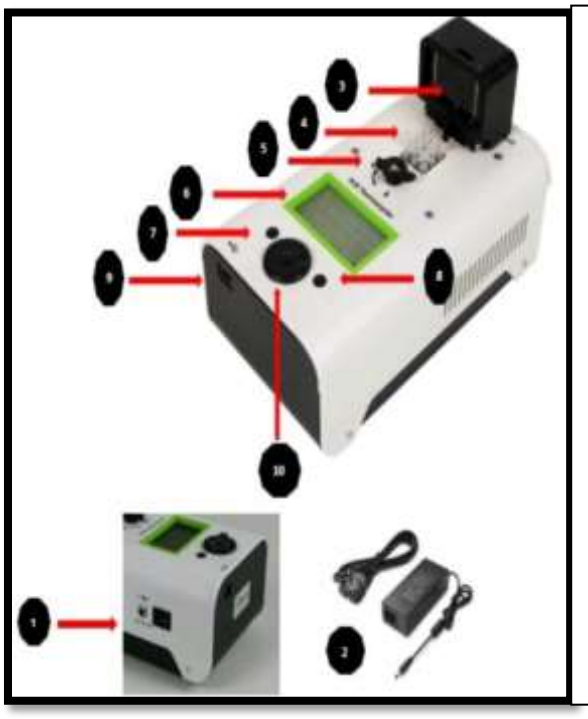
Le principe de la PCR est de réaliser une succession de réactions de réplication d'une matrice de double brin d'ADN qui se répètent en boucle, comportant chacun trois paliers de température, et chacun de ces paliers est caractérisé par une réaction chimique distincte. L'astuce consiste a utiliser les produits de chaque étape de synthèse comme matrice pour les étapes suivantes (Ziada B, 2020).

6.3. L'appareil de thermocycleur :

Le thermocycleur est un dispositif didactique qui permet de réaliser des amplifications par la PCR de chaines nucléotidiques (Figure.18) (Jeulin K, 2020).

Cet appareil permet d'exposer les tubes à des températures choisies et pour des durées déterminées par l'expérimentateur. La réaction PCR est

extrêmement rapide et ne dure que quelques heures (2 à 3 heures pour une PCR de 30 cycles) (Figure.22) (Ziada B, 2020).



1 : Interrupteur Marche (I)/ Arret (O)- alimentation

2 : Alimentation 12V 600W

3 : Plaque anti-condensation et couvercle

4 : Bloc chauffant (9 micro tubes de 200 µl)

5 : Verrou bloc chauffant

6 : Ecran de visualisation et programmation

7 : Bouton retour ou menu précédent

8 : Bouton menu principal

9 : Sortie micro-USB

10 : Molette de sélection+ Bouton OK

Fig.22 : Le thermocycleur.

6.4. L'utilisation de la technique PCR dans le diagnostic de camelpox:

6.4.1. Animaux vivants:

6.4.1.1. L'extraction de l'ADN :

Afin d'extraire l'ADN, les étapes suivantes doivent être suivies selon Mosadeghhesari A et al en 2014) :

Les échantillons ont été préparés pour l'isolement du virus comme suit : la taille d'un échantillon était d'au moins 30 à 50 mg, les croutes ou les échantillons de tissus ont été hachés avec une lame jetable ou des ciseaux et des pinces stériles.

Les échantillons ont été conservés à -20˚C avant le test, si une période plus longue est nécessaire ; les échantillons étaient placés à -70˚C : pour garder l'ADN de virus vivant.

1/ une petite partie aliquote de la croute a été suspendue dans 90µL de solution de lyse (50 mM Tris/ HCl, PH 8, 100 mM Na_2 EDTA, 100 mM Na Cl, 1% de

dodécylsulfate de sodium) et 10µL de protéinase K (20 mg/ml, invitrogène) a été ajouté.

2/ L'échantillon a été digéré pendant 10 minutes à 37˚C avant la rupture de la croute ou de tissus avec un pilon de tube à micro centrifugeuse.

3/ Encore 350µL de solution de lyse et 50µL de protéinase K ont été ajoutés, et l'échantillon a été doucement mélangé et incubé pendant 3 heures à 37˚C : pour l'analyse de la membrane cellulaire.

4/ La suspension lysée a été extraite avec un volume égal de phénol/chloroforme/ alcool iso amylique (25/24/1) et centrifugé à 8000 g à 4˚C pendant 1 minute : pour un dépôt du noyau.

5/ La phase supérieure aqueuse a été recueillie et mélangée à nouveau avec un volume égal de phénol/chloroforme/ alcool iso amylique (25/24/1) il a été centrifugé à 8000 g à 4˚C pendant 1 minute pour isoler l'ADN, et la phase supérieure a été transférée dans une nouvelle graisse.

6/ L'ADN a été précipité en ajoutant 1/10 de volume d'acétate de sodium 3 M et deux volumes d'éthanol absolu glacé pour dissoudre les protéines liées à l'ADN.

7/ Le mélange a été placé à -70˚C pendant 30 minutes ou à -20˚C pendant une nuit, il a ensuite été centrifugé à 15000g pendant 5 minutes à 4˚C.

8/ Le surnageant a été jeté et le culot a été lavé avec 0,5 ml d'éthanol à 70% : pour la sédimentation de l'ADN, il a ensuite été centrifugé à 15000g pendant 5 minutes, et le surnageant a été jeté et les pastilles ont été séchées à l'air.

9/ Les culots ont été remis en suspension dans 10 µL d'eau exempte de nucléase (Mosadeghhesari A et al, 2014).

6.4.1.2. Réaction en chaine par polymérase pour le diagnostic de Camelpox :

Selon Meyer H et al en 1994, la réaction en chaine par polymérase pour le diagnostic de Camelpox était comme suite :

1/ L'amplification de l'ADN a été réalisée à l'aide d'un Kit Bionner PCR contenant un micro tube de pré mélange PCR.

2/ La réaction de PCR a été réalisée dans un volume final de 25µL contenant 1µL de chaque amorce, 1µL de matrice d'ADN et un volume approprié d'eau exempte de nucléase.

3/ Les échantillons ont incubés dans un thermocycleur en utilisant les conditions suivantes :

- ✓ 5 minutes à 94˚C est une étape de dénaturation initiale, Suivie de 29 cycles de 1 minute à 94˚C : afin de décomposer les brins d'ADN et de casser les liaisons entre les deux brins et pour stimuler l'action d'enzyme de polymérisions.
- ✓ 1 minute à 45 ˚C : cette phase est appelée phase d'adhésion : l'enzyme ajoute des nucléotides dans les nouvelles chaines.
- ✓ Et 2,5 minutes à 72˚C : pour l'élongation des deux brins.
- ✓ Et une étape finale d'élongation de 10 minutes à 72˚C : produit deux nouveaux brins d'ADN.
- ✓ La température a ensuite été maintenue à 4˚C jusqu'à l'analyse.

4/ Dix microlites de l'échantillon ont été mélangés avec une solution de colorant de chargement et chargés sur un gel d'agarose à 1% dans un tampon TBE Tris Borate/ EDTA contenant du bromure d'éthidium .voie parallèle chargée avec une échelle de marqueur d'ADN de 100 pb.

5/ Les produits ont été séparés à 100 V pendant 30 à 40 minutes et visualisés en utilisant un transilluminateur UV (Meyer H et al, 1994). (Figure. 23) (OIE T, 2008).

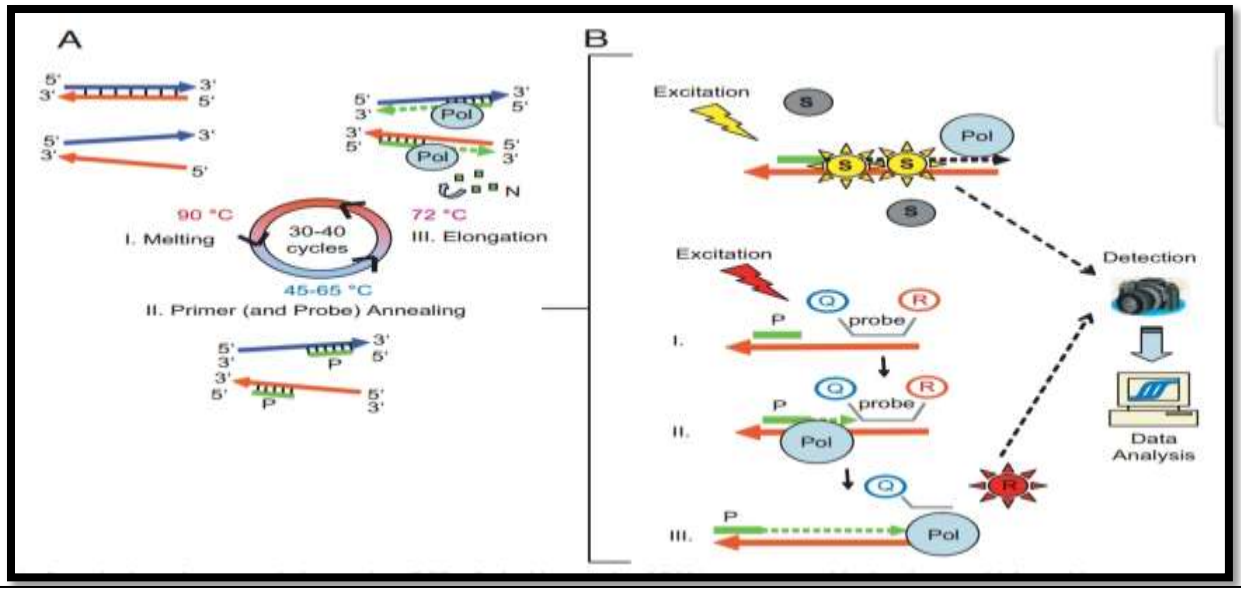


Figure.23 : étapes de la réaction en chaine par polymérase (PCR) : 1 :les doubles brins d'ADN sont séparés par chauffage à une température (de fusion) élevée ; 2 : des amorces spécifiques (P) sont recuites en amenant le mélange dans une plage de température optimale ; 3 : l'élévation de la température à l'activité optimale de la polymérase Taq thermostable (Pol) entraine la phase d'élongation, dans laquelle la génération de nouveaux brins d'ADN se produit par l'ajout de nucléotides (N) à partir des amorces. Ces 3 étapes sont répétées 30 à 40 fois pour amplifier le gène d'intérêt. B, Détection de produits PCR en PCR temps réel. En haut, les colorants de liaison à l'ADN tels que le SYBR Green (S) ne sont fluorescents que lorsqu'ils sont liés à l'ADN double brin. En bas, les sondes d'hydrolyse sont des oligonucléotides spécifiques à une séquence qui contiennent un fluorophore rapporteur (R) qui est désactivé par une molécule attachée (Q). Lors de la réplication, la Pol 2 clive l'oligonucléotide, permettant l'émission de la fluorescence du rapporteur lorsqu'il est séparé du extincteur. Dans les deux types de détection, la fluorescence est enregistré à l'aide de l'instrument PCR en temps réel et traitée à l'aide d'un logiciel d'analyse des données (Faoud T et al, 2008)

6.4.1.3. Bioinformatique :

L'extraction sur gel a été réalisée à l'aide d'un Kit Bionner. L'ADN extrait a été Envoyé à laboratoire. Les séquences ont été soumises à une recherche BLAST en utilisant les ressources internet du NCBI. Séquences alignées par logiciel CLC. DES études de phylogénie ont été réalisées à l'aide du programme UPGMA CLC (Mosadeghhesari A et al, 2014).

6.4.2. Animaux morts :

La présence du virus du Camelpox (CMLV) a été confirmée dans l'ADN viral isole à partir de la paraffine fixée au formol incorporé (FFPE, tissus de la langue, du poumon, des caillettes, du foie, du cœur et l'intestin des dromadaires

infectés par PCR du gène C18L, les échantillons de peau sont particulièrement diagnostic et enquêtes épidémiologiques moléculaires du virus Camelpox (Shirish D et al, 2021).

D'après Mosadeghhesari A et al en 2014, afin d »utiliser la PCR pour diagnostiquer la maladie du Camelpox chez les camélidés morts, les étapes suivantes doivent être suivies :

L'extraction de l'ADN a été réalisée principalement par la méthode au phénol chloroforme, et la PCR a été réalisée à laide d'un Kit Bionner, en utilisant la paire d'amorces 5'AAT-ACA-AGG-AGG-ATC-T-3' and 5' CTT-AAC-TTT-TTC-TTT-CTC-3', la séquence génique codant pour la protéine d'inclusion de type A (ATIP) a été amplifiée. La taille du produit PCR, spécifique du virus Camelpox, est de 881 pb. Le produit PCR a été purifié et pour confirmer sa séquence, il a été envoyé au laboratoire de référence. La séquence a été soumise à une recherche BLAST puis analysée à l'aide du logiciel CLC (Mosadeghhesari A et al, 2014).

6.5. Les types de PCR pour diagnostiquer le camelpox :

Des stratégies de PCR ciblant le gène HA (Ropp Sl et al, 1995) et le gène B2L (Khalafalla Al et al, 2003) ont également été développés pour la détection du CMLV et sa différenciation des infections par OPV et PPV chez les chameaux. Dans le même sens, un test PCR basé sur le gène C18L a été récemment développé, qui donne un amplicon spécifique de 243 pb dans le cas suspects de CMLV (Balamurugan V et al, 2009). Ce test a été utilisé avec succès pour la détection directe et la différenciation de CMLV provenant d'autres OPXVs PPVs et CAPVs dans les échantillons de culture cellulaire et les échantillons cliniques. Et aussi une PCR duplex basée sur les gènes C18L et ADN polymérase pour une détection spécifique et rapide du CMLV du BPXV également été développée (Singh RK et al, 2008).

(Balamurugan V et al, 2009).

L'intérêt d'utilisation :

1/ La microscopie électronique à transmission (MET) :

Cette technique permet la confirmation en laboratoire de la variole du dromadaire par la mise en évidence des orthopoxvirions caractéristiques en forme de brique, distincts des parapoxvirus de forme ovoïde, l'agent étiologique de l'ecthyma contagieux du dromadaire (OrF)

(G. Weledegbrial and Philimon T, 2016),(Balamurugan V et al,2013).

2/ Immunohistochimie:

C'est une méthode rapide et peut être utilisée à la place de la MET pour établir un diagnostic provisoire (Tekalign Tet et al,2018), le prototype du OPV, peuvent reconnaître d'autres membres de la famille du OPV(WeledegbrialT and Philimon T,2016).

3/ Test sérologique :

Les tests sérologiques sont un outil précieux pour le dépistage de la population indemne d'infection, la détermination de la prévalence de l'infection et les études épidémiologiques rétrospectives dans les zones où la vaccination contre la variole du chameau n'est pas pratiquée. Les anticorps anti-poxvirus peuvent être détectés dans les sérums animaux beaucoup plus fréquemment que l'isolement du virus à partir d'échantillons cliniques. De plus, les tests sérologiques sont importants pour la surveillance, l'évaluation de nouveaux vaccins et pour déterminer le statut immunitaire post-vaccination chez des animaux individuels ou des populations (Marennikova, 1975).

4/ La PCR :

Un contrôle efficace de toute maladie justifie une prophylaxie ainsi qu'un test rapide, spécifique et sensible pour le diagnostic et les études épidémiologiques moléculaires (Bera BC et al, 2011).

Le diagnostic différentiel de l'infection de la variole du dromadaire par rapport à d'autres infections/ maladies de la variole du dromadaire nécessite une confirmation en laboratoire après l'apparition des symptômes et le diagnostic clinique par la réaction en chaine par polymérase (PCR)
(Balamurugan V et al, 2009).

Les avantages et les inconvénients des technique:

Tableau 5 : Les avantages et les inconvénients de : MET, Immunohistochimie, l'isolement de virus : (Weledgabrial G, 2016) (Veerakyathappa B et al, 2015).

Les téchniques :	Les avantages :	Les inconvénients :
La MET:	1/Une méthode fiable et rapide.	1/Une concentration élevée de virus dans l'échantillon.
Immunohistochimie:	1/Une méthode rapide. 2/les échantillons inclus en paraffine peuvent être conservés pendant une longue période. 3/Des anticorps mono clonaux et poly clonaux peuvent être utilisés.	1/immunohistochimie n'a pas pu différencier les membres de l'OPVs, que des anticorps mono clonaux spécifiques soient utilisés. 2/presque tous les anticorps poly clonaux contre VACV sont susceptibles de produire des résultats dans ce test.
Isolement du virus:	1/Le virus Camelpox propage dans une grande variété de cultures cellulaires.	Le virus (VARV) et le CMLV ne peuvent pas être distingués de cette manière et l'agent causal est identifié comme CMLV.

Tableau 6: l'utilisation et les caractéristiques des tests sérologiques :

Test :	utilisation et caractéristiques :
Le VNT	est basé sur une réaction entre le virus et un anticorps spécifique dans le sérum à tester. Le virus et les produits contenant un anticorps neutralisant doivent être mélangés dans des conditions appropriées puis les inoculer dans une culture cellulaire. La présence de virus non neutralisé peut détecter par la formation de plaques (effet cytopathique). Une perte d'infection située peut causer par l'interférence de l'anticorps lié avec l'une quelconque des étapes menant à la libération du génome viral des cellules hôtes, y compris la fixation, l'infection ou la libération virale (Azwai et all, 1996)
ELISA	Il est développé pour la détection des anticorps IgG et IgM totaux contre le virus de la variole du chameau dans les sérums de chameau et pour l'identification des antigènes séroréactifs du virus. C'est une méthode simple qui peut être appliquée avec succès pour des enquêtes rétrospectives et aussi pour des enquêtes épidémiologiques (OIE, 2014)

Tableau 7 : les avantages et les inconvénients de la technique de PCR : (Ziada B, 2020).

Les avantages :	Les inconvénients :
1/ Pouvoir travailler sur une toute petite quantité de matériel biologique (sensibilité). 2/ Pouvoir travailler sur de l'ADN dégradé. 3/ Pouvoir différencier entre les différentes OPXVs (spécificité). 4/ La rapidité (3-4 heures).	1/ Problèmes de contamination. 2/ Problème de la présence d'inhibiteurs. 3/ L'équipement peut ne pas toujours être disponible dans tous les laboratoires.

Pour un diagnostic approprié de la variole du dromadaire, les vétérinaires de terrain ont besoin d'une méthode de diagnostic précise, sensible, spécifique, rapide et relativement simple. Au cours de cette période, des techniques de diagnostic complémentaires telles que la microscopie électronique (MET), l'isolement en culture cellulaire, l'immun histochimie, la démonstration d'anticorps neutralisants (sérologie). Egalement, des tests PCR ont été développé s pour le diagnostic de la variole du dromadaire.

La MET est une technique rapide mais moins sensible alors que l'isolement et l'identification du virus est une méthode sensible, mais moins rapide. L'isolement du virus en culture cellulaire ne détecte que les particules virales vivantes et par conséquence, les particules qui ont été inactivées pendant le traitement des croutes ou le transport vers le laboratoire peuvent ne pas être détectées.

La PCR est méthode rapide sensible et spécifique, mais l'équipement peut ne pas toujours être disponible dans tous les laboratoires.

Les testes sérologiques sont des outils précieux pour les études épidémiologiques à grande échelle, mais ne conviennent pas pour le diagnostic de confirmation primaire (Weldegebrial G et al, 2016).

1. Abdelmagied E, Taha A, Al Qarawi A, Elfaki M, **The parotid, mandibular and lateral retropharyngeal lymph nodes of the camel,** Embryol, 2001, page: 30.
2. Abdelmalik L; Khalafalla, **Emerging infections diseases in camelids,** Saudi Arabia, 2017, page: 426-428.
3. Adamou, A, **Développement de la filière viande caméline pour la sécurité alimentaire des populations du Sahara algérien**, Université KASDI MERBAH - Ouargla- Algérie, 2013, 9 p.
4. Al Hendi A; B Abuelzein; M Gameel and Hassanein M, **A slow-spreading mild form of camelpox infection,** Journal of veterinary medicine, 1994, page: 71-73.
5. Aly A, Khabir A, **Some anatomical studies on the camel's thymus,** Zagazig Vet, 1986, page: 34-46.
6. Aichouni A, **The spleen in the one humped camel, Anatomical and histological study,** Appl Sci, Egypt, 2008, page: 36-47.
7. Aichouni A, **Etude potentiel reproductif et exploration de certains paramètres hématologiques histologiques chez le dromadaire du sud ouest de l'Algérie,** 2011, page : 22.
8. Alcami A; Smith GL, **Vaccinia cowpox and camelpox viruses encode soluble gamma interferon receptors with novel broad species specificity,** J virol, 1995, 69.
9. Alcami A; Symons JA; Khanna A; Smith GL, **Poxviruses : capturing cytokines and chemokines,** Semin virol, 1998, page : 319.
10. Alioua, H, **Elevage camelin : le cheptel national menacé,**El-Watan, 2004.
11. Alshamarry A, **Histological and histometric study on the spleen of Iraqi camel,** Emir J Food, 2010, page:65-70.
12. Al-Ziabi O; Nishikawa H; Meyer H, **The first outbreak of camelpox in Syria,** Vet Med Sci, 2007, page: 312.
13. Antczak D, **Major histocompatibility complex genes of dromedary camel,** in proceeding of the Qatar foundation Annual Research conference, 2013.
14. Azwai M; Carter S; Woldehiwet Z and Wenery U, **Serology of orthopox virus cameli infection in dromedary camel's analysis by Elisa and western blotting,** 1996, page: 65-78.
15. Azwai S.M., Carter S.D.,Woldehwet Z,**Monoclonal antibodiesagainstcamel (camelusdromadarus) IgG, IgM and light chains,vetImmunol,Immunopathod**,1995, p 45.

16. Babelhadj, B, **Ostéo-biométrie et structure osseuse des métapodes de dromadaire (Camelusdromedarius, L, 1758) : étude comparée de deux populations, Sahraoui et Targui**, Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat En sciences Agronomiques, 2017, 202 p.
17. Balamurugan V; Bhanuprakash V; Gnanavel V; Raj K, **Camelpox, an emerging orthopox viral disease,** Indian journal of virology, India, 2013, page : 4.
18. Balamurugan V; Bhanuprakash V; Hosamani M; Kallesh D; Bina Chauhan; Venkatesan G; Singh Rk, **A polymerase chain reaction strategy for the diagnosis of camelpox,** Vet Diag Invest, 2009, page: 231-237.
19. Baxby D, Ramyar H; Hessami M; Garboosi B, **A comparaison of the reponse of camels to intradermal inoculation with camelpox and smallpox viruses,** 1975, page: 21-30.
20. Bengoumi M, **Biochimie Clinique du dromadaire et mécanismes de son adaptation à ma déshydratation,** Thèse de Doctorat sciences, Maroc, 1992.
21. Bera BC; Shanmugasundaram K; Barua S; Venkatesan G, **Zoonotic cases of camelpox infection in India,** Vet Microbiol, 2011, page: 29-38.
22. Bhanuprakash V, Prabhu M, Venkatesan G, Balamurugan V, Hosamani M, **Camelpox: epidemiology, diagnosis and control measures.** Expert Review Anti Infect, 2010, page: 1 et 201-1187.
23. Bhanuprakash V; Balamurugan M; Hosamani M; Venkatesan G; Bina Chauban V; Srinivasan V; Chauban R; Pathak L, **Isolation and characterization on Indian isolates of camelpox virus,** Trop Anim Health Prod, 2010, page: 1272.
24. Blajan, Lasnami K, **Nutritionetpathologiedudromadaire**, Ciheam, séminaire sur la digestion, la nutrition et l'alimentation du dromadaire, n2, 1989, page : 135.
25. Boulter EA; Zwartouw HT; Titmuss DH; Maber HB, **The nature of the immune state produced by inactivated vaccinia virus in rabbits,** 1971, page: 518.
26. Bowie A; Kiss E; Symons JA; Smith GL; Dower SK; Neill LA, **A46R and A52R from vaccinia virus are antagonists of host IL-1 and toll-like receptor signaling,** Proc Natl Acad Sci USA, 2000, page: 50.

27. Chehma, A,**. Etude floristique des parcours du dromadaire, Thèse de Doctorat d'Etat en Biologie**, Université B.BADJI MOKHTAR, Annaba, 2012, page 302.
28. Diriba Achalu Bayisa, **Review on camelpox: Epidemiology, Public health and diagnosis,** ARC journal of animal and veterinary sciences, 2019, page: 23 et 24.
29. Duraffor S ; Meyer H ; Andrei G ; Snoeck R, **Camelpox virus,** Antivir Res, 2011, page : 27-37 ; 86-100 et 167-186.
30. Erez N; Paran N; Maik-Rachline G; Politi B; Israely T; Schnider P ; Fuchs P; Melamed S ; Lustig S, Faoud T; Ishmael MD and Cristiana Stellato, **Principles and application of polymerase chain reaction: basic science for the practicing physician,** 2008, page: 437.
31. Erez N, Paran N, Maik Racheline, Politi B, Israely T; Schnider P ; Fuchs P; Melamed S ; Lustig S, **Induction of cell fusion by ectromelia virus is not inhibited by its fusion inhibitory Camelpox,** Virol J, 2009, page: 151.
32. Faye B, **Le guide de l'élevage du dromadaire,** France, 1997, page : 118.
33. Faye B et Bengoumi, **Element status in camel: a review,** 1994, page 41.
34. Feliachi, k, **Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales : Algérie**, Commission NATIONALE AnGR, 2003, 46 p.
35. Geserick P; Kaiser F; Klemm U; Kaufmann SH; Zerrahn J, **Modulation of T cell development and activation by novel members of the Schlafen (slfn) gene family harbouring an RNA helicase-like motif,** Intel immunol, 2004, page: 1009.
36. Grover Y; Kaura Y; Prasad S and Srivastava R, **Preliminary studies on camel serum immunoglobulines,** Indian, 1983, page: 238-240.
37. Gubser; Caroline; Smith and Geoffrey, **The sequence of camelpox virus shows it is most closely related to Variola virus, the cause of small pox,** Journal of general virology, 2001, page: 855-872.
38. Gusber C; Bergamaschi D; Hollinshead M; Lu X; Smith Gl, **A new inhibitor of apoptosis from vaccinia virus and eukaryotes,** Plos Pathog, 2007, page: 3-17.
39. Harek D.,Ikhlef H.,Bouhadad R.,Sahel H.,Cherifi Y.A.,Djallot N.,KhelifaChelihi S.,ELMokhefi M.,Boukhtala K.,Gaouar S.B.S.,Arbouche F., 2017,**Genetique diversity status of camel'sresourse(camelus dromadarius. Linnaeus, 1758) in Algeria**, P51, 52.

40. Harmsen M; and D haard, **Properties, production, and applications of camelid single domain antibody fragments,** Microbiol, 2007.
41. **Induction of cell-cell fusion by ectromelia virus is not inhibited by its fusion inhibitory complex**. Virol. J, 2019, page: 6 et 151.
42. J.J.Mcgrane and A.J.Higgins, **The camel in health and disease,** Yemen, 1985, page: 2.
43. Jeneway C; Travers P; Walport M and Shlomchik M, **The immune system in health and disease immunobiology,** New York, 2001.
44. Jeulin K, **Thermocycleur PCR didactique T9,** France, 2020, page 1.
45. Khalafalla A; Mohamed M and Ali B; **Epizootiology of camelpox, camel contagious ecthyma and camel papillomatosis in the Sudan,** 1998, page: 115-131.
46. Khalafalla A;, Buttner M; Rziha HJ; **Polymerase chain reaction PCR for rapid diagnosis and differentiation of Para and orthopox virus infections in camel,** FAO/ IAEA international Animal Production and Health in developing countries, Vienna, 2003.
47. Khalafalla Al; Lu X; Al Mubarak Al; Dalab AH; Al Busadah KA, **MERS-CoV in upper respiratory tract and lungs of dromedary camels,** Saudi Arabia, 2015, page: 1153-1158.
48. Lakhdari, K, **Etude écologique sur le dromadaire : pâturage, choix instinctif des aliments et qualité de fourrage sélectionné (cas de la région d'el Hadjira, wilaya de Ouargla),**pour l'obtention du diplôme de doctorat troisième cycle (LMD) , Université Batna 2, 2015, 153 p.
49. Lowry O.H.,Rosebrough N.J.,Farr A. L., Randall R.J,**Protien measure ment with folinphenolre agent**, J.Biol,Chem, p 193.
50. Marodam V; Nagendrakumar S and Tanwar V, **Isolation and identification of Camel pox virus**, Indian, Journal of Animal Science, 2010, Page: 76.
51. Maurilia M; Abdelmalik I; Zulaikha M; Al Hammadi, **Genome sequencing of a camelpox vaccine reveals close similarity to modified Vaccina virus Ankara (MVA),** MDPI, Ankara, 2020, page: 1.
52. Mayer A and Czern C, **Camelpox virus,** Elsevier science Publisher, Oxford, New York, 1990, page: 19-22.
53. Megersa B ,**An epidemiological study of major camel diseases in the Boranalowland, Southern Ethiopia**, DCG, 2010, page: 1-62.
54. Merzouk, Y, **Optimisation des conditions de fermentation et de préservation du lait cru de chamelle par les bactéries lactiques**

adaptées aux conditions de stress. Thèse de doctorat troisième cycle (LMD). Université d'Oran, 2015, 107 p.

55. Mosadeghhesari A ; Oryan S ; zibae S ; Varshovi H, **Molecular investigation and cultivation of camelpox virus in Israel,** Arch Virol, 2014, page: 3006.
56. Muaz Abdellatif, **Thermostability improvement of a recently developed live attenuated Sudanese camelpox vaccine,** Northern Borders university, 2012, page: 51.
57. Najaro P; Traktman P; Lewis A, **Vaccina virus blocks gamma interferon signal transduction : viral VH1 phosphatase reserves stat 1 activation,** Virol, 2001, page : 96.
58. NAOUI Nabila,**Caractérisation microbiologique et moléculaire des bactéries lactiques isolées du lait cru de camelle**, Mémoire de Master, Université d'Oran, page 09.
59. Nothelfer H; Wenery U and Czerny C, **Camelpox: antigen detection within skin lesions- immunohistochemistry as a simple method of etiological diagnosis,** Journal of camel practical research, 1995, page: 119-121.
60. Ofir I; Inbar C; Anat Z; Ohad S; Sharon M; Nir P; Orly L; Adi B, **complete genome sequence of the first camelpox virus case diagnosed in Israel,** American society for microbiology, Israel, 2020, page: 1.
61. OIE Terrestrial Manual, **Camelpox,** 2008, page: 1177-1184.
62. Perdiguero B; Esteban M, **The interferon system and vaccinia virus evasion mechanisms,** 2009, page : 61.
63. Osman D, **Morphological observations on the supramammary lymph node of the dromedary camel,** Vet Sci, 1998, page: 38-53.
64. Pfeffer M., Meyer H.,Wenrnery U.,Kaaden O.R, **Diagnostic procedures for poxvirus infections in camelids**, J. Camel Pract,Res, P 189-195.
65. Ramyar H; Hessami M, **Isolation, cultivation and characterization of camelpox virus,** Zentralbl Veterinarmed B, 1972, page: 9-182.
66. Ropp SL; Jin Q; Knight JC; Massung RF, **Polymerase chain reaction strategy for indentification and differentiation of smallpox and other orthopoxviruses,** J Clin Microbiol, 1995, page: 2069-2076.
67. Roslyakov AA, **Comparative ultrastructure of viruses of camelpox, a pox-like disease of camels and contagious ecthyma of sheep,** Vopr Virusol, 1972, Page: 26-30.

68. Roya Mohammadpour; Mohsen Champour; Fateh Tuteja; Ehsan Mostafavi, **ZoonoticimplicationsofcameldiseasesinIran,** Wiley, Iran, 2020, page : 10.
69. Saley M, **Topographie ganglionnaire et inspection des carcasses de dromadaire au Niger,** 1986, page : 111.
70. Shirish D; Rajesh K, **Pathological and molecular investigations of systemic form of camelpox in naturally infected adult male dromedary camels in India,** Heliyon, 2021, page: 29.
71. Shyam S; Sachin K; Sharat C; Shirish D; Raghvendar S; Fateh C, **Camel pox :A briefreviewonitsepidemiology,currentstatusandchallenges**, Acta Tropica, India, 2016, page: 1.
72. Singh RK; Balamurugan V; Hosamani M; Kallesh DJ; Bhanuprakash V, **Sequence analysis of C18L gene of Buffalopox virus: PCR strategy for specific detection and its differentiation from orthopoxviruses,** J Virol Methods, 2008.
73. Smee D; Sidwell R; Kefauver D and Huggins, **Characterization of wild-type and cidofovir resistant strains of camel pox, cow pox, monkey pox, and vaccinia viruses,** 2002, page: 1329-1335.
74. Smith GL; Symons JA; Alcami A, **Poxviruses ; interfering with interferon,** Sem virol, 1992, page : 202.
75. Source : http://www.gredaal.com:ressources-naturelles/ressources-biologique/91-bref-apercu-de-la-diversite-genetique-des-populations-camelines-dalgerie.
76. Source : https://www.djazairess.com/fr/elwatan/3124.
77. Tailib S; Vyatchanin A and Mulydermans S, **Molecular analysis of heavy chain only antibodies of Camelus bactrianus,** biochemistry, 2014, Page: 1382-1390.
78. Tedjani, K, **Bref aperçu de la diversité génétique des populations camelines d'Algérie,**Ecologie. Environnement. Nature. économie verte et développement durable en Algérie, Portail Overblog, 2010.
79. Tefera M, **Observations on the clinical examination of the camel**, 2004, page: 435-449.
80. TekalignTadesse; Endalu Mulatu and Amanuel Bekuma, **Review on Camel Pox: An Economically Over whelming Disease of pastorals,** International Journal of Advanced Research in Biological Sciences,page: 65-72.

81. Van S, Loeffler K, **Mineral deficiency in ruminants in subsaharian Africa,** 1990, page: 22.
82. Venkatesan G; Bhanuprakash V; Balamurugan V; Prabhu M; Pandey A, **TaqMan hydrolosis probe based real time PCR for detection and quantitation of camelpox virus in skin scabs,** Journal of virological methods, 2012, page: 1.
83. Walter L; Marynen P; Szpirer J; Levan G; Gunther E, **Indentification of a novel conserved human gene,** TEGT, 1995, page : 250.
84. Weldegebrial G Aregawi ; Philimon Teshome Feyissa, **Diagnostic Approaches towards Camelpox Disease,** Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry, 2016, page:5.
85. Wenery U; Kaaden OR, **Infectious diseases in camelids,** 2002, page : 92; 141-143.
86. Wikipedia, **Camelpoxvirus**, consulté le 18/06/2021 à 12:02h.
87. Xiaong X; Smith J; Kim C; Huang E and Chen M, **Kinetic analysis of the interaction of cidofovirdiphosphate with human cytomegalovirus DNA polymerase, Biochemistry and Pharmacology,** 1996, page: 67.
88. Yousif A; Al Ali M, **Case of mistaken indentity Vaccinia virus in a live camelpox vaccine,** Biologicals, 2012, page: 495-498.
89. Ziada B, **Techniques d'analyses de biologie moléculaire,** Université Frers Mentouri, Constantine, 2020, page : 5 et 33.
90. Zidan M, Kassem A, Dougbag A, El Gazzawi E, Abd el Azziz M, Pabst R, **The sepleen of the one humped camel has a unique histological structure,** J Anat, 2000, page: 196.