Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales

Avis de Soutenance

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Madame HALIMA RHAZI

Discipline : Biotechnologie et développement régional
Spécialité : Microbiologie et Biotechnologie

Sujet de la thèse

Recherche et développement de cellules compétente pour la production et le diagnostic des Capripoxvirus: LSDV, SPPV et GTPV

Formation Doctorale " Sciences et Génie de la Matière, de la Terre et de la Vie"

Thèse présentée et soutenue **le lundi 20 novembre 2023 à 10h** au centre de Conférence de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Titre	Etablissement	
Lahsen EL GHADRAOUI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Président
Khadija BEKHTI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Rapporteur
Faouzi ERRACHIDI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Rapporteur
Mohamed DILAI	PH	IAV Hassan II Rabat	Rapporteur
Ouafae FASSI FIHRI	PES	IAV Hassan II Rabat	Examinateur
Abderrahim LAZRAQ	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Examinateur
Karima MIKOU	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Directeur de Thèse
Mehdi EL HARRAK	Docteur	MCI Santé animale Mohammedia	Invité

Laboratoire de recherche : Ecologie Fonctionnelle et Génie de l'Environnement
Etablissement : Faculté des Sciences et Techniques de Fès

Résumé de la thèse

Le présent travail est une contribution à l'amélioration du processus de fabrication des vaccins contre les Capripoxvirus (CaPVs) de la famille des Poxviridae. Ces virus sont à l'origine de la clavelée ovine, la variole caprine et de la dermatose nodulaire bovine qui sont des maladies contagieuses infectant les ovins, caprins et bovins et causant des pertes économiques considérables. Néanmoins, la vaccination reste un moyen efficace pour la prévention et l'éradication des maladies causées par ces virus. De ce fait, l'amélioration du processus de production devaccin est essentielle et implique des recherches sur les cellules permissives, le milieu de culture et le système de production.

Quatre types de cellules primaires (cellule de cœur, de peau, de testicule et de rein d'agneau) et 3 lignées cellulaires (Vero, OA3.Ts et ESH-L) sont testés pour la sensibilité,l'isolement, le diagnostic et le titrage des CaPVs. Nos résultats montrent que les cellules ESH-L et les cellules embryonnaires primaires du cœur d'agneau sont les plus permissives pour la croissance et la détection des CaPVs. Cependant, les cellules embryonnaires du cœur présentent un rendement cellulaire plus important par rapport aux cellules ESH-L mais ces dernières peuvent être maintenues 20 passages plus que les cellules du cœur. Des cellules diploïdes sont également préparéesà partir du tissu embryonnaire du cœur. Ces cellules peuvent atteindre le passage 45 ; elles sont également plus sensibles aux Poxvirus avec des titres élevés (7/ml) en comparaison avec les autres lignées cellulaires. De plus, ces cellules peuvent être conservées dans de l'azote liquide jusqu'à 730 jours avec une viabilité cellulaire de 81%.

La densité et la viabilité cellulaire ont pu être améliorées par l'ajout des phytohormones (auxine, kinétine et gibbérelline) dans le milieu de culture. Nos résultats ont montré que la Gibbérelline est le stimulateur le plus puissant des cellules du cœur (200 000 cell/cm^2) et les cellules Vero sont les plus sensibles à la kinétine (180 000 cell/cm^2).

Un nouvel système CelCradle™-500A, pour la réplication d'un des CaPVs (LSDV), est testé en vue de remplacer les systèmes conventionnels de production. Ce système a donné une densité cellulaire importante (3.04×10^9 cell/cm^2 pour les cellules Vero, et 6.7×10^8 cell/cm^2 pour les cellules primaires LT).Enfin, l'efficacité de toutes les méthodes de diagnostic des vaccins contre les CaPVs est étudiée, nos résultats ont montré que la meilleure méthode de détection et de quantification desanticorps est la méthode de neutralisation du virus (VNT) qui donne une sensibilité plus importante par rapport à l'ELISA (70% de sérums testés positifs ont été détecté par VNT contre 48% par ELISA). De plus, l'utilisation des cellules primaires pour VNT est une opération lourde et chronophage ; elle pourrait être avantageusement remplacée par des cellules ESH-L et la technique de révélation immunoenzymatique, basée sur le sérum anti-SPPV, a ajouté une spécificité au VNT.

En conclusion, les cellules ESH-L et les cellules primaires embryonnaires du cœur d'agneau sont les cellules les plus sensibles pour la propagation des CaPVs. Les cellules embryonnaires du cœur purifiées sont des cellules meilleures pour la production des antigènes des Poxvirus. Le système de production CelCradle™-500A est plusefficace que les systèmes conventionnels pour la fabrication des vaccins à base des antigènes des CaPVs, cette dernière peut être améliorée par l'ajout des phytohormones au milieu de culture cellulaire. La méthode de VNT additionnée de l'anticorps spécifique est la meilleure technique pour la détection et la quantification des anticorps post vaccination.

Mots clés : Capripoxvirus**,** processus de production, cellules embryonnaires du cœur d'agneau, phytohormones, méthodes de diagnostic de l'efficacité de vaccin.