

COMMUNICATION

Rhinotrachéite infectieuse bovine : isolement du virus à l'occasion d'une enzootie observée dans le département de l'Aube

par A. CHARTON, A. BERKALOFF, P. FAYE, J. LECOANET,
Cl. LE LAYEC et C. BERNARD

Isolé une première fois en France d'un cas d'infection néonatale, le virus de la « Rhinotrachéite infectieuse bovine » est isolé, à nouveau, cette fois d'une enzootie de rhinotrachéites, forme la plus classique de la maladie, atteignant un lot de 100 veaux de boucherie dans le département de l'Aube.

De nombreux cas de rhinotrachéites enzootiques ont été observés, au cours des dernières années, chez les Bovins, notamment à l'occasion des travaux de clinique ambulante de l'Ecole d'Alfort. Les caractères épizootologiques, les symptômes, l'évolution étaient étroitement apparentés à ceux de la « Rhinotrachéite infectieuse bovine » (I. B. R.) telle qu'elle est décrite dans la plupart des pays étrangers. Divers essais d'isolement du virus à partir des sécrétions nasales, isolement qui eut permis, mieux qu'un résultat sérologique positif, de confirmer expérimentalement le diagnostic étiologique de ces rhinotrachéites, étaient cependant restés, jusqu'à ce jour, négatifs. Fait paradoxal, la première souche de virus I. B. R. (Herpesvirus bovis, souche HB 1) isolée en France (FAYE, BERKALOFF, CHARTON, LE LAYEC, 1967) a pour origine un cas d'infection néonatale, habituellement considérée comme l'une des formes rares de

FAYE (P.), BERKALOFF (A.), CHARTON (A.) et LE LAYEC (Cl.), 1967. — Etude préliminaire d'une souche d'Herpesvirus bovis, isolée d'une lésion de pneumonie du veau. *Bull. Acad. Vet.*, **40**, 227-233.

SAURAT (P.) et GILBERT (Y.), 1966. — Le Complexe « Rhinotrachéite infectieuse des Bovins ». *Cahiers de Med. vet.*, **35**, 03-49.

Bull. Acad. Vét. — Tome XLIII (Mars 1970). — Vigot Frères, Editeurs.

l'infection à virus I. B. R. (SAURAT et GILBERT, 1966) : la souche HB 1 a, en effet, été isolée d'une lésion de pneumonie prélevée sur le cadavre d'un veau mort à 5 jours et traité pour « septicémie ». Les conditions qui font l'objet de cette note sont, par contre, celles d'une infection enzootique des premières voies respiratoires, chez des veaux de 2 à 3 mois, forme des plus classiques de l'infection.

Il s'agit, en effet, d'une exploitation (M... à L..., Aube) dans laquelle étaient réunis, au début de 1968, 100 veaux de 2 à 3 mois destinés à la boucherie (*). L'enzootie éclate brutalement, au début de la deuxième semaine d'avril. En trois jours, l'effectif est atteint dans sa presque totalité. La maladie se manifeste par des symptômes généraux d'emblée graves : fièvre, abattement. Ne s'observent cependant, chez presque aucun sujet, ni anorexie, ni troubles digestifs : les veaux continuent à boire leur lait et n'ont pas de diarrhée.

Localement, les symptômes sont d'abord ceux d'une rhinite : jetage séreux, puis séromuqueux, et d'une conjonctivite intense avec tuméfaction des paupières et larmoiement séreux ; puis, ceux d'une trachéite : respiration accélérée, toux petite, sèche, plaintive, fréquente.

Chez deux sujets, des symptômes bronchiques et pulmonaires s'observent. Les deux animaux sont, d'ailleurs, retirés de l'exploitation et abattus, pour examen nécropsique et recherches microbiologiques.

Dans l'ensemble, l'évolution reste cependant bénigne. La plupart des sujets guérissent, sans complication, après une évolution de quelques jours ; le traitement des malades a comporté, outre l'application générale d'une vaccination antipasteurellique, l'emploi simultané d'antibiotiques et de corticoïdes ; fin avril, l'enzootie est, pratiquement, terminée.

L'analyse virologique a porté exclusivement sur les sécrétions nasales, prélevées par écouvillonnage sur 7 sujets dont cinq en début d'évolution et deux chez lesquels s'observaient les symptômes de complications pulmonaires précédemment signalés. Ces prélèvements, dilués en solution saline tamponnée de HANKS additionnée de pénicilline (200 U. O.), de streptomycine (50 γ), de

(*) Nous remercions nos Confrères, MM. les Docteurs Vétérinaires DOISEAU et l'HUMEAU, de PINEY, à la compétence attentive de qui nous devons cette observation clinique.

Nous remercions également notre confrère, M. le Docteur Vétérinaire BOCCARA qui a, dans les meilleures conditions possibles, assuré la récolte et le transport des prélèvements utilisés.

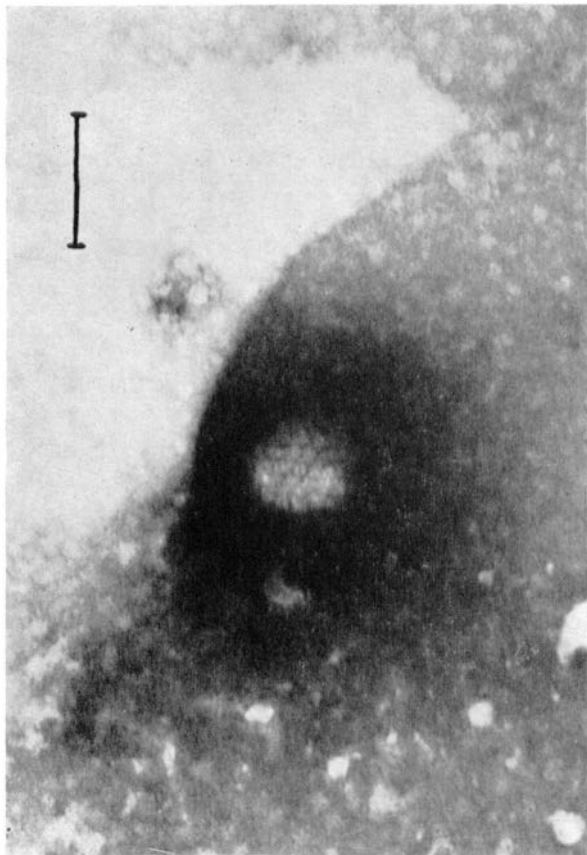


FIG. 1. — Echelle : segment noir = 1.000 Å. Capside, de diamètre approximatif 800 Å. Capsomères creux nettement visibles.



FIG. 2. — Echelle : segment noir = 1.000 Å. Virion complet : épaisseur de l'enveloppe 500 à 1.000 Å. Frange externe claire : 50 Å environ.

mycostatine (100 U.) par millilitre ont été transportés, dans un mélange glace-sel, à une température de -15° , environ. Traités par simple centrifugation, 30 minutes à 6.000 g à $+4^{\circ}$, pour élimination des gros débris et bactéries, ces prélèvements ont été inoculés à des cellules de rein de veau embryonnaire (1 ml par flacon de pharmacie de 60 ml). L'inoculum a été laissé 2 heures au contact des cellules puis rejeté et remplacé par un milieu de maintien sans sérum.

Pour un unique échantillon, provenant d'un sujet chez lequel l'évolution était à son début, a été observé un effet cytopathogène net dès le premier passage ; les premières transformations cellulaires apparaissent entre 24 et 48 heures. Cet effet cytopathogène se caractérise, non seulement, par la transformation morphologique des cellules qui s'arrondissent, deviennent plus fortement réfringentes et se détachent de la paroi de verre, mais aussi par l'apparition de formations syncytiales, d'ailleurs rares et peu volumineuses (moins de 10 cellules) ; des plages, nummulaires, apparaissent en divers points, s'élargissent tout en restant circulaires, l'effet cytopathogène se propageant régulièrement dans chaque plage à partir du centre. Rapidement coalescentes, les plages s'étendent en 24 à 48 heures à la totalité des voiles, dont aucune cellule ne reste collée à la fin du 4^e jour.

Le surnageant d'une culture, au 4^e passage en boîte de Roux de 1.000 ml (soit environ 100 ml) contenant environ 10^6 particules infectantes par millilitre, a été partiellement purifié par centrifugation différentielle (élimination des gros débris à 1.500 g) et concentré par ultra-centrifugation du surnageant (60 minutes en rotor spinco 42, soit 60.000 g en haut de tube, 186.600 g en fond de tube). Le culot d'ultracentrifugation est examiné, en coloration négative au phosphotungstate de potassium, au microscope électronique Philips EM 200 (fig. 1 à 4).

Les virions sont peu nombreux, assez cependant pour que l'un, au moins, puisse être observé dans chaque fenêtre de la grille porte-objet. Complet, le virion se présente sous la forme d'une capsid hexagonale de 90 à 100 nm de diamètre, entourée d'une enveloppe de 50 nm d'épaisseur, dont la frange externe, d'une cinquantaine d'angströms, apparaît nettement contrastée. Certains virions sont dépourvus d'enveloppe. L'image de quelques capsides, nues ou enveloppées, permet de définir assez exactement la disposition et le nombre des capsomères : cinq par arête, sommets des triangles équilatéraux visibles compris. Malgré l'absence de données relatives à la nature de l'acide nucléique, la probabilité pour

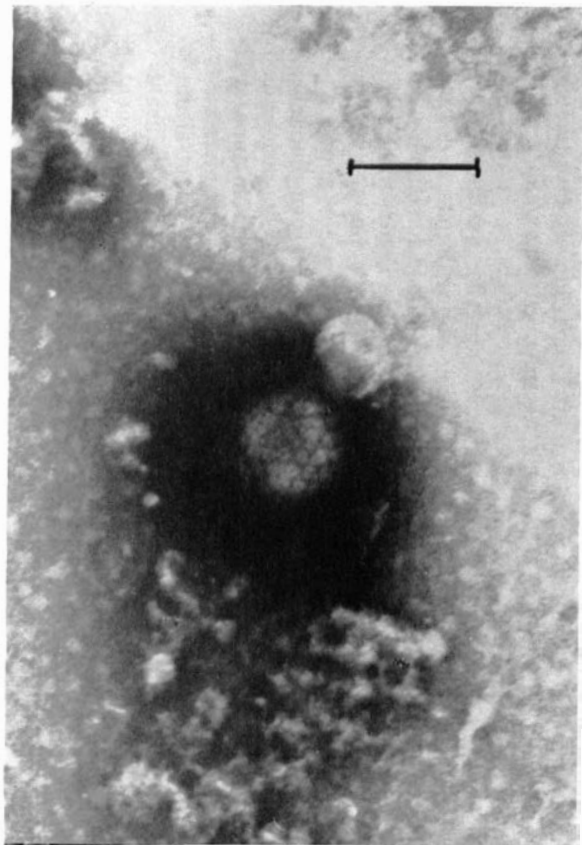


FIG. 3. — Echelle : segment noir = 1.000 Å.
Disposition des capsomères : 5 par arête, 3 par face.

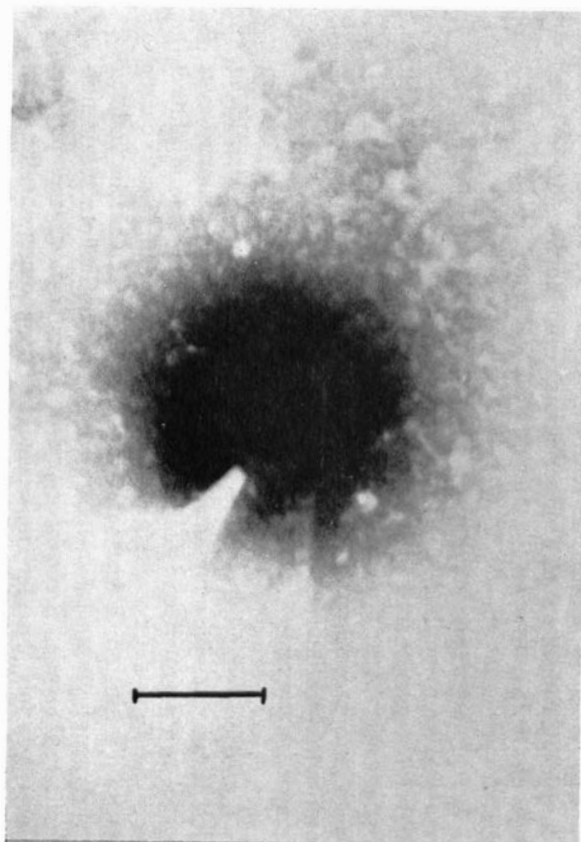


FIG. 4. — Même échelle (segment noir = 1.000 Å).
Capside « vide ».

que ce virus, de forme icosaédrique, possédant une enveloppe, dont les capsomères sont disposés comme celles du virus herpétique, soit un Herpesvirus est voisine de 1. La souche a été étiquetée HB 2.

Les premiers tests sérologiques (déviations du complément, séro-neutralisation) appliqués à ce virus en comparaison avec la souche HB 1 précédemment isolée au laboratoire, elle-même définie par l'effet neutralisant d'un antiserum spécifique IBR, montrent d'ailleurs leur parenté antigénique. Une étude plus approfondie des propriétés biochimiques et sérologiques de cette souche est, actuellement, en cours.

L'analyse bactériologique a porté sur les sécrétions nasales et des fragments de poumons (lésions d'hépatisation rouge, avec larges zones congestives sans atteinte macroscopique de la plèvre) provenant des deux veaux atteints de broncho-pneumonie, abattus en fin d'évolution. L'ensemencement a été effectué sur les milieux usuels employés au laboratoire pour l'étude de la flore totale pulmonaire du veau. *Escherichia coli* et *Faecalis alcaligenes* ont été isolés, à la fois, des sécrétions nasales et du poumon chez les deux sujets. Chez l'un des deux, en outre, s'observe la présence, dans le poumon, d'une *corynebactérie*. Cet isolement d'un Herpesvirus des sécrétions nasales d'un veau de dix semaines prélevées à l'occasion d'une enzootie de rhinotrachéites dont l'évolution est étroitement analogue à celle de la « rhinotrachéite infectieuse bovine » appelle quelques commentaires.

Son identification au virus « I. B. R. », d'après les quelques caractères culturels, morphologiques et sérologiques décrits ci-dessus, peut paraître un peu hâtive : la nature de l'acide nucléique viral n'a pas été déterminée, l'action neutralisante de l'antiserum HB 2 vis-à-vis d'une souche type de virus I. B. R. n'a pas été testée. L'hypothèse selon laquelle, cependant, cet Herpesvirus appartiendrait à une autre espèce (celle-ci serait nouvelle) est peu plausible.

Le rôle étiologique du virus, dans l'enzootie à l'occasion de laquelle il a été isolé, est en partie hypothétique : ce rôle apparaît certain si le même virus avait été isolé, dès les premiers passages, non d'un prélèvement sur sept, mais de plusieurs et si une étude sérologique complémentaire portant sur un nombre suffisant de veaux, avait montré pour l'ensemble du lot un accroissement significatif du taux des anticorps spécifiques de ce virus. Seuls, ont pu être prélevés quelques sérums précoces dont le titre, en séro-neutralisation, n'a que l'intérêt, relatif, d'être très faible. En contrepartie la présence, dans les cavités nasales d'un veau cliniquement

atteint de rhinotrachéite, d'un virus I. B. R., à un titre suffisant pour que l'effet cytopathogène décrit ci-dessus se manifeste sans équivoque, dès le premier passage en culture « in vitro » sur cellules de rein de veau embryonnaire, peut difficilement être considérée comme sans rapport avec la maladie.

Dans cette observation, le pourcentage de sujets atteints de complication pulmonaire était, moins d'une semaine après le début de l'enzootie, de 2 p. 100 : ce chiffre concorde avec celui de 5 p. 100 au maximum, habituellement considéré comme « normal » dans la Rhinotrachéite infectieuse bovine. La flore bactérienne manifestement responsable de la broncho-pneumonie, c'est-à-dire de l'aspect grave de la maladie chez deux sujets, est une flore banale, peu pathogène par vocation propre, mais contre laquelle le traitement par antibiotiques paraît avoir eu, au moins chez ces sujets, peu d'effet. Le virus n'a été isolé chez aucun d'entre eux : la phase « virale » de la maladie, dans ces pneumopathies, a donc été, très probablement, brève mais déterminante. Cette constatation, comme celle de la rareté du virus dans les sécrétions nasales de plusieurs sujets pourtant en début d'évolution clinique, explique en partie l'échec de diverses tentatives antérieures d'isolement : c'est à la phase d'incubation qui précède l'apparition de la rhinite que, très vraisemblablement, l'isolement doit être tenté pour que la probabilité d'un résultat positif soit la plus forte.

*Laboratoire de Recherches
de la Chaire de Pathologie du Bétail
Ecole Vétérinaire d'Alfort. — I. N. R. A.*

*Laboratoire de Biologie Animale
de la Faculté des Sciences d'Orsay.*

A l'issue de la séance l'Académie se réunit en Comité Secret pour entendre les rapports des Commissions des Membres nationaux et étrangers sur les candidatures déclarées vacantes.
