

## COMMUNICATIONS

---

### **Contribution à l'étude de la maladie d'Aujeszky en France : isolement du virus chez deux chats**

T. METIANU, A. LUCAS, A. VALLÉE, R. LAURENT

---

Suspectée par ROSSI et DIZIER en 1932 (1), la maladie d'Aujeszky du chat est observée par COLLET, en 1940 (2) dans le département du Rhône (observation inédite) puis, en 1969, par JOUBERT et BILLON (3) effectuant une enquête dans la région de Valronay (département de l'Ain) où, en 1968, GUILLON, CHIROLLE, VALLÉE, CORDAILLAT et BAYLOT (4) avaient étudié la maladie chez des chiens.

Nous avons nous-mêmes isolé le virus, pour la première fois en France, en 1967 (5), chez deux chats provenant d'un élevage de chiens et chats de la commune de St-Sornin (Charente-Maritime). Outre ces deux chats, trois chiens de l'élevage moururent en quelques jours, atteints des mêmes symptômes qui évoquaient la maladie d'Aujeszky. Les animaux avaient ingéré la viande d'un porc mort dans les mêmes conditions.

La présente note relate le résultat de recherches poursuivies au cours des trois dernières années, qui nous ont permis d'étudier et de reproduire expérimentalement la maladie, d'isoler et d'étudier la souche responsable.

#### INOCULATIONS AU LAPIN

Deux lapins reçoivent par la voie sous-cutanée le liquide surnageant, après centrifugation, d'une suspension de broyat du cerveau

de l'un des chats. Ils sont atteints de prurit, localisé au point d'inoculation, et qui entraîne de l'autophagie. La mort survient le 4<sup>e</sup> jour après l'épreuve.

Le même résultat est obtenu chez deux autres lapins infectés dans les mêmes conditions avec le matériel cérébral du 2<sup>e</sup> chat.

Les lésions histologiques du cerveau et de la moelle épinière des lapins évoquent la maladie d'Aujeszky.

Deux lapins sont inoculés avec le liquide surnageant d'un broyat de peau et de muscle (sous-cutané) du porc suspecté d'être à l'origine du foyer. Ils ont un comportement normal.

#### REPRODUCTION EXPÉRIMENTALE DE LA MALADIE NATURELLE CHEZ LE CHAT

On fait ingérer à des chats de la viande infectée ; viande de lapin inoculé avec le matériel cérébral de l'un des chats ayant succombé à la maladie naturelle. Ces animaux meurent du 5<sup>e</sup> au 7<sup>e</sup> jour après l'épreuve.

Le tableau clinique de cette infection expérimentale est identique à celui de l'infection naturelle : à partir de la 96<sup>e</sup> heure après l'ingestion on note de l'excitation, de l'irritation et du prurit, d'abord dans la région de la tête, puis sur tout le corps. Les animaux lèchent fréquemment leurs pattes antérieures et, à l'aide de celles-ci, se frottent ou se grattent le museau, la bouche, les yeux. Il en résulte des ecchymoses et des plaies accompagnées d'œdème. De temps en temps certains chats font des efforts d'expulsion, comme s'ils voulaient se débarrasser d'un corps étranger situé dans la bouche ou dans le pharynx. Plus tard (vers la 120<sup>e</sup> heure) on constate une prostration accompagnée de ptyalisme (Fig. 1). La salive, d'abord claire et filante, devient plus épaisse, brunâtre. Les animaux se retirent dans un coin, prostrés, tête baissée et dos voûté. Ils succombent après une période comateuse de durée variable.

#### ISOLEMENT DU VIRUS EN CULTURES DE TISSUS

Le virus (souche F 3) est cultivé sur différents systèmes cellulaires : cultures primaires de cellules rénales de porcelet, de veau, de chiot. Il se multiplie dès le 1<sup>er</sup> passage. L'effet cytopathique apparaît à partir de la 48<sup>e</sup> heure : on observe une réfringence très nette des cellules atteintes et, 72 heures après l'infection, le tapis cellulaire entier est formé de cellules rondes, « perlées » (Fig. 2). A noter que nous n'avons pas vu de masses syncytiales ou de cellules



FIG. 1. — Chat infecté par la consommation de viande de lapin mort de la maladie d'Aujeszky. Prostration et hyper salivation.

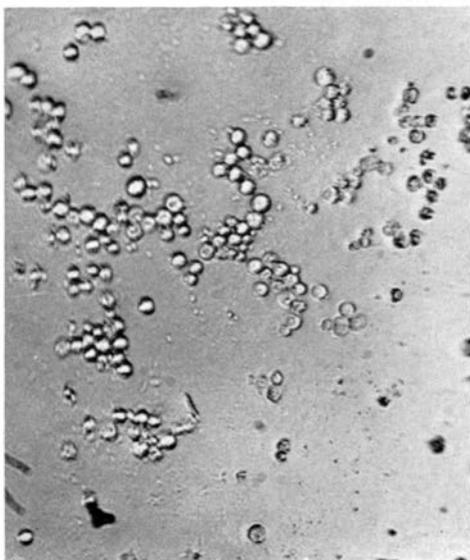


FIG. 2. — Virus d'Aujeszky (souche F. 3) isolé sur chats morts. Cultures cellulaires de rein de chien. Effet cyto-pathogène : cellules rondes, perlées, brillantes.

géantes pourvues de plusieurs noyaux tassés les uns contre les autres, comme on en rencontre d'habitude dans la maladie d'Aujeszky et l'Herpès.

Le virus se multiplie également, dès le 1<sup>er</sup> passage, sur lignée cellulaire PK 15, provoquant des modifications cellulaires comparables à celles que nous venons de décrire.

#### IDENTIFICATION DU VIRUS

##### 1) *Examen des cultures colorées au Giemsa :*

Dans les cultures cellulaires colorées au Giemsa après fixation par l'alcool méthylique, on constate à partir de la 30<sup>e</sup> heure, la disparition du nucléole ; la basicchromatine est refoulée vers la membrane nucléaire et se colle près d'elle. Plus tard, vers la 48<sup>e</sup> heure, apparaissent des inclusions, petites et nombreuses qui, en se multipliant, ne forment plus qu'une volumineuse inclusion éosinophile occupant la majeure partie du noyau, séparée du contour par un halo clair (Fig. 3).

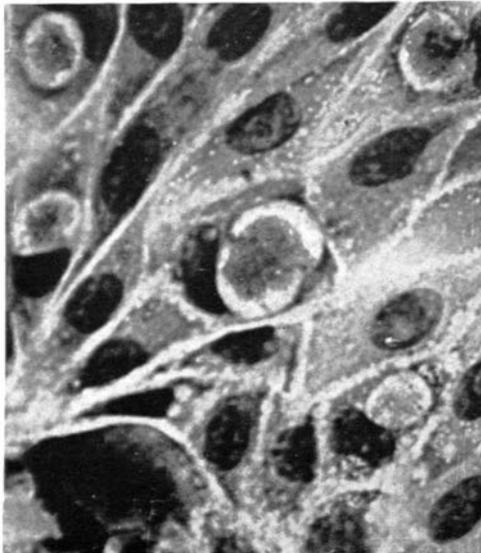


FIG. 3. — Virus d'Aujeszky (souche F. 3) inclusions nucléaires éosinophiles (Coloration Giemsa). Cultures cellulaires de rein de chien.

2) *Examen par la méthode des anticorps fluorescents :*

Le virus est cultivé sur cellules de rein de chiot, dans des tubes à lamelles, type Leighton. Après fixation par l'acétone à  $-20^{\circ}$  la culture est colorée soit par la méthode directe (gammaglobuline de porc anti-Aujeszky conjuguée à l'isothiocyanate de fluorescéine) soit par la méthode indirecte (sérum hyperimmun et gammaglobuline de lapin anti-porc conjuguée à l'isothiocyanate de fluorescéine).

L'antigène viral est décelé dans le noyau sous la forme d'une grande masse fluorescente ou de petits corpuscules arrondis, isolés ou agglomérés (Fig. 4).

3) *Séro-neutralisation :*

Elle est exécutée par inoculation aux espèces sensibles (lapin, souris) et sur cultures cellulaires, avec le virus isolé du chat, en présence de sérums hyperimmuns de porc préparés à l'aide de la souche F 1 (6), d'origine canine ou de la souche F 2 (7), isolée de porc, ou encore des 2 souches F 3, d'origine féline.

Le virus est neutralisé par les quatre sérums à un titre supérieur à 100 DICT 50.

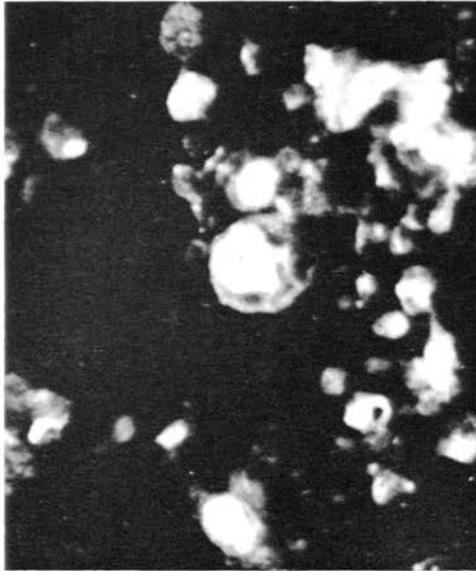


FIG. 4. — Virus d'Aujeszky (souche F. 3) Coloration par la technique directe d'immunofluorescence. Inclusions intra-nucléaires.

## CARACTÈRES ET PROPRIÉTÉS DU VIRUS

Examiné au microscope électronique le virus a une structure très proche de celle du virus de l'Herpès : on voit une nucléocapside entourée d'une enveloppe. Le diamètre du virus est établi par filtration sur plaques millipores, son passage étant contrôlé par culture sur système cellulaire. Il est compris entre 100 m $\mu$  et 220 m $\mu$ . La taille du virion, examiné au microscope électronique, est de l'ordre de 180 m $\mu$ .

Le virus se conserve bien (3 ans) dans les cultures cellulaires, lyophilisées ou non, maintenues à  $-20^{\circ}$ , ainsi que dans les cerveaux d'animaux infectés (chat, lapin) maintenus à la même température.

## ESSAIS DE TRANSMISSION

*Virémie* : quatre chiens sont infectés par la voie buccale (ingestion de viande mélangée à des esquilles). A partir de la 6<sup>e</sup> heure, et à des intervalles de 6 à 12 heures, on recherche la virémie en ensemençant le sang sur cultures cellulaires : cellules de 1<sup>er</sup> transplant de rein de chiot et lignée PK 15. L'absence de virémie, ou d'infection latente, chez ces animaux est contrôlée par le titrage des anticorps sériques neutralisant le virus d'Aujeszky et par l'épreuve d'infection (injection sous-cutanée d'une souche virulente).

Deux des chiens soumis à l'infection par ingestion sont atteints de virémie. Elle se manifeste à partir de la 6<sup>e</sup> heure ; elle persiste jusqu'à la mort.

Le titre du virus dans le sang du 1<sup>er</sup> chien a oscillé de 100 à 1.000 DICT 50, avec un « clocher » de 100.000 DICT 50 à la 75<sup>e</sup> heure, et un minimum de 10 DICT 50 à la 109<sup>e</sup> heure et à la 192<sup>e</sup> heure. L'animal est mort à la 220<sup>e</sup> heure.

Le titre du virus dans le sang du 2<sup>e</sup> chien s'est élevé à 1.000 DICT 50 de la 50<sup>e</sup> à la 60<sup>e</sup> heure, de la 80<sup>e</sup> à la 108<sup>e</sup> heure. A la 75<sup>e</sup> heure et à la 170<sup>e</sup> heure le titre était inférieur à 10 DICT 50. L'animal est mort à la 175<sup>e</sup> heure.

Les deux autres chiens ne sont pas infectés : leur sérum ne contient pas d'anticorps neutralisants ; ils succombent à l'inoculation d'épreuve.

## PRÉSENCE DU VIRUS DANS LES ORGANES DES CHIENS MORTS

Le virus a été mis en évidence dans le cerveau (titre : 1.000 DICT 50), les poumons (1.000 DICT 50), le foie (10 DICT 50),

la glande salivaire (100 DICT 50), la salive (100 DICT 50), les muscles (10 DICT 50).

#### ESSAIS DE TRANSMISSION PAR DIFFÉRENTES VOIES

La maladie d'Aujesky peut être transmise par les voies cérébrale, sous-cutanée, oculaire (200 DICT 50 de virus en culture de tissus). Les chiens, les chats, les furets, les lapins, les souris inoculés par ces voies ont succombé à l'infection.

La période d'incubation varie de 3 à 6 jours.

Inoculés dans les mêmes conditions, des porcs ont été atteints d'une forme chronique.

La réussite de la transmission par la voie buccale est conditionnée par l'état de la muqueuse buccale ou des muqueuses digestives: *l'existence d'une lésion est nécessaire*. En effet, l'infection expérimentale n'a été obtenue, chez les différentes espèces, qu'après l'ingestion de viande *et d'os*. Elle a échoué en l'absence d'os, ou après l'ingestion de culture du virus sur système cellulaire.

Nous n'avons pu retransmettre la maladie par la voie vaginale.

#### CONCLUSIONS

1° Pour la 1<sup>re</sup> fois en France le virus de la maladie d'Aujesky a été isolé du chat, sur cultures de tissus.

2° Le virus isolé présentait certains caractères particuliers : aspect des cellules soumises à son action cytopathique, absence de syncytium, adaptation aux systèmes cellulaires dès le 1<sup>er</sup> passage... qui sont inhabituels.

3° Au cours de l'infection expérimentale du chien, nous avons démontré l'existence d'une virémie chez deux des animaux.

4° La transmission expérimentale aux espèces sensibles peut s'effectuer par différentes voies en particulier par la voie buccale mais, dans ce cas, elle semble subordonnée à une lésion des muqueuses.

*Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires et  
Institut Pasteur (service de Microbiologie Animale)*

#### BIBLIOGRAPHIE

1. ROSSI et DIDIER. Cités par REMLINGER (P.), ROSSI (P.), BAILLY (J.). — *Bull. Acad. Vét.*, 1933, **6**, 267-71.
2. COLLET. Cité par SAURAT (P.), LAUTIE (R.), GERAL (M. F.). — *Rev. Méd. Vét.*, 1963, **114**, 401-411.

3. JOUBERT (L.), BILLON (J. F.). — *Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. Comparée*, Lyon, 1969, **71**, 267-275.
  4. GUILLON (J. C.), CHIROLLE (C.), VALLÉE (A.), CORDAILLAT (J. C.), BAYLOT (J. C.). — *Bull. Acad. Vét.*, 1968, **41**, 177-179.
  5. METIANU (T.), SUDI (L.). — *Rev. d'immunologie*, 1969, **33**, 323-334.
  6. LUCAS (A.), METIANU (T.), ATANASIU (P.). — *Inst. Pasteur*, Paris, 1966, **110**, 130-135.
  7. METIANU (T.), LUCAS (A.), ATANASIU (P.). — *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, 1966, **110**, 136-139.
-