

Etude expérimentale de la maladie de Talfan en France Isolement et identification du Virus *

par Y. RICHARD, B. TOMA, P. GORET

Une maladie virale des jeunes porcs, caractérisée sur le plan épidémiologique par de petites enzooties, sur le plan clinique par une parésie ou une paralysie, le plus souvent bénigne, des membres postérieurs, et sur le plan histopathologique par des lésions d'encéphalomyélite et plus spécialement de poliomyélite, a été décrite pour la première fois par BENDIXEN et SJOLTE (1) au Danemark en 1955. Elle a été retrouvée en 1957 en Grande-Bretagne par HARDING et coll. (9) qui lui ont donné le nom de maladie de TALFAN. Elle semble assez commune en Europe puisqu'elle a été identifiée également en Suède (13), en Norvège (6), en Allemagne (8) et en Irlande (11).

En France, la preuve de son existence n'a jamais été apportée. Différents auteurs ont eu l'occasion d'étudier des foyers de paralysie du porc mais ont surtout évoqué comme étiologie le virus de la maladie de TESCHEN, maladie connue depuis beaucoup plus longtemps que la maladie de TALFAN et qui s'en rapproche par de nombreux aspects. Il en a été ainsi de COLLET en 1939 (4) de BOURRIER en 1948 (2) et de CHAUVET en 1951 (3). Plus récemment GORET et coll. (7) ont étudié une petite enzootie de poliomyélite porcine mais sans isoler la souche en cause. Enfin, METIANU et coll. (12) ont rapporté en 1970 l'isolement de deux souches de virus qu'ils identifient au virus de TESCHEN.

En fait, la maladie de TESCHEN ne sévit à l'heure actuelle que dans deux pays : son berceau ancestral, la Tchécoslovaquie, et par ailleurs, Madagascar. Elle évolue en général sous forme d'épi-zooties très meurtrières et, par suite, son apparition en France

* Travail subventionné (convention de recherches) par les laboratoires I. F. F. A. — I. M. et par l'Institut Technique du Porc.

n'aurait pas manqué d'attirer l'attention. En revanche, l'hypothèse de l'existence en France de la maladie de TALFAN, qui se distingue de la précédente par une évolution bénigne sous forme de petites enzooties, est beaucoup plus vraisemblable. Nous avons voulu la vérifier en étudiant des foyers de paralysie du porc et en essayant systématiquement d'isoler l'agent responsable. Ce sont les résultats de ces isolements que nous rapportons ci-dessous. Une étude plus complète sera présentée par ailleurs (14).

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. — *Origine des prélèvements.*

Les souches de virus ont été isolées à partir du système nerveux de porcs atteints de troubles paralytiques et provenant de divers départements : Morbihan, Yvelines, Nord.

B. — *Transmission expérimentale de la maladie.*

— *Les animaux* utilisés sont des porcs de un à deux mois en provenance d'exploitations supposées indemnes d'infection inapparente par un virus TALFAN.

— *L'inoculum* est représenté par un broyat ** de différents étages du névraxe dans une solution de HANKS additionnée d'antibiotiques, ou par une culture cellulaire. En ce cas l'inoculum est constitué par la culture ayant subi 3 cycles de congélation et décongélation.

— *L'inoculation* des porcs se pratique selon les trois voies :

- intracérébrale, après injection de tranquillisants,
- nasale, sous forme d'aérosol, ***
- buccale.

C. — *Isolement des souches.*

Les cellules utilisées sont des cellules rénales porcines de première explantation entretenues en milieu de EAGLE, hydrolysé

* Nous exprimons nos vifs remerciements à nos confrères les docteurs vétérinaires LE TURDU, ROSE, BERNARD, DUEE, LECLERC et MARION qui nous ont adressé prélèvements et commémoratifs.

** Turax.

*** Carbatom.

de lactalbumine enrichi (milieu de croissance) ou non (milieu d'entretien) de 10 p. cent de sérum de veau. Le liquide de culture est recueilli au cours de passages aveugles ou après destruction du tapis cellulaire puis soumis à 3 cycles de congélation et de décongélation avant inoculation à des cellules neuves.

— *Le titrage* des virus s'effectue par une technique sur microplaques, analogue à celle décrite par MAYR et BIBRACK (10), dans des plaques en polystyrène (système COOKE M 220 ART, Poly-Labo) formées de 96 cupules à fond plat de contenance 0,4 ml. La culture cellulaire est distribuée après trypsination à raison de 0,2 ml par cupule à l'aide d'une micropipette Eppendorf. Les cultures sont incubées à 37° C après avoir recouvert la plaque d'un couvercle en polystyrène stérile adhésif non toxique et transparent. Lorsque le tapis cellulaire est complet, généralement au bout de 24 h, on procède au titrage.

— *La résistance* des virus à l'éther est appréciée par comparaison des résultats de titrage sur une suspension virale traitée ou non par de l'éther (20 p. cent) pendant 18 heures à 4° C.

— *Le typage* des virus est réalisé grâce aux sérums de référence correspondant aux 8 groupes sérologiques définis par DUNNE et WANG (5) au sein des picornavirus porcins. Les sérums sont utilisés à la dilution finale de 1/8. On met en contact, à parties égales, chaque sérum avec le virus dilué, de manière à compter 100 DCP 50 dans 0,02 ml, pendant 1 heure à 37° C. Puis un volume de 0,02 ml de chaque mélange est déposé dans 5 cupules d'une plaque en polystyrène, et laissé en contact à 37° C pendant 1 heure. Le milieu d'entretien est alors ajouté. La lecture a lieu tous les jours pendant 3 jours.

II. — RÉSULTATS

La maladie observée dans les conditions naturelles a été reproduite expérimentalement par inoculation du broyat de substance nerveuse ou de souches isolées en culture cellulaire. Par ailleurs, les principaux caractères des souches de virus ont été étudiés en culture cellulaire.

I. — *Reproduction de la maladie.*

a) *A partir de substance nerveuse.*

Les principaux résultats obtenus dans ces conditions sont rassemblés dans le tableau n° 1.

TABLEAU N° 1

Résultats des inoculations de système nerveux au porc
(IC : voie intracérébrale ; N : voie nasale ; B : voie buccale)

Souches	Age des animaux recevant l'inoculum	Voie d'inoculation	Période d'incubation	Symptômes	Lésions microscopiques
14411					
(Morbihan)					
1 ^{er} passage sur porcelet	4 semaines	IC	15 jours	+	++++
2 ^e passage sur porcelet	6 semaines	IC	12 jours	+	++++
	—	N		—	
	7 semaines	IC	22 jours	+	++++
	—	N		—	
	—	B		—	
3 ^e passage sur porcelet	10 semaines	IC		—	
	—	N		—	
	—	B		—	
	4 semaines	IC	12 jours	+	++++
816					
(Yvelines)					
1 ^{er} passage sur porcelet	4 semaines	IC	32 jours	+	++++
2 ^e passage sur porcelet	4 semaines	IC	12 jours	+	++
	4 semaines	IC		—	
D 1338-D 3040					
(Nord)					
1 ^{er} passage sur porcelet	10 semaines	IC		—	
	—	IC		—	

On y constate que deux des 4 souches isolées (14411 et 816) reproduisent la maladie après inoculation par la seule voie intracérébrale. A l'examen histologique* on décèle des lésions d'en-

* Nous adressons nos remerciements au Professeur DUNNE qui nous a adressé les sérums, au Professeur PARODI et à M^{lle} l'Agrégée WYERS qui ont assuré les examens histologiques.

céphalomyélite diffuse atteignant surtout la substance grise mais aussi la substance blanche et la moelle épinière sous forme de foyers de gliose et de manchons lymphocytaires périvasculaires. La différence de réceptivité des animaux joue un grand rôle comme le démontre le deuxième passage de la souche 816 : deux porcelets de 4 semaines, de même origine, ont été inoculés exactement dans les mêmes conditions ; or seul l'un d'eux a présenté des symptômes accompagnés de lésions à l'examen histologique.

Les 2 autres souches (D 1338 et D 3040) n'ont provoqué aucun trouble.

b) *A partir des cultures cellulaires.*

Les résultats fournis par l'inoculation des souches isolées sur cultures cellulaires sont assez voisins de ceux décrits ci-dessus et sont rapportés dans le tableau n° 2. Les souches 14411 et 816 ont reproduit la maladie (cependant sans lésion pour 14411) tandis que les souches D 1338 et D. 3040 n'ont pas révélé de pouvoir pathogène.

TABLEAU N° 2

Résultats de la reproduction de la maladie par inoculation au porcelet des souches isolées en culture cellulaire

Souches	Age des animaux recevant l'inoculum	Voie d'inoculation	Période d'incubation	Symptômes	Lésions microscopiques
14411					
8 ^e passage	1 mois	IC	41 jours	+	—
13 ^e passage	1 mois	IC		—	
816					
6 ^e passage	1 mois	IC	25 jours	+	++
	1 mois	IC	35 jours	+	+++
D 1338					
6 ^e passage	1 mois	IC		—	
	1 mois	IC		—	
D 3040					
9 ^e passage	1 mois	IC		—	
	1 mois	IC		—	

2. — *Etude des souches isolées.*a) *Effet cytopathogène.*

L'effet cytopathogène des 4 souches isolées n'est apparu qu'après le 3^e ou le 4^e passage aveugle. Lorsque les souches sont bien adaptées aux cellules, l'effet cytopathogène apparaît en 24 h sous forme de larges plaques bordées de cellules mortes. En 48 heures la lyse du tapis est complète. Après coloration à l'hématoxyline-éosine on peut observer des inclusions cytoplasmiques éosinophiles qui refoulent le noyau.

b) *Titrage.*

Les titres ont peu varié au cours des passages sur cultures cellulaires. (cf. tableau n° 3).

TABLEAU N° 3

Titres des différentes souches virales isolées

Virus	Passage	Titre
14411	6 ^e passage	10 ^{4,6} DECP50/ml
	8 ^e passage	10 ^{4,4} DECP50/ml
816	6 ^e passage	10 ^{4,6} DECP50/ml
	15 ^e passage	10 ^{6,2} DECP50/ml
D 1338	5 ^e passage	10 ^{5,2} DECP50/ml
D 3040	5 ^e passage	10 ^{5,4} DECP50/ml

c) *Résistance à l'éther.*

Les résultats figurent dans le tableau n° 4.

Les différentes souches isolées sont résistantes à l'éther.

d) *Séroneutralisation.*

Les résultats de la séroneutralisation des souches virales par les sérums de référence sont résumés dans le tableau n° 5. Les 4 souches isolées sont neutralisées par le sérum du groupe I (TESCHEN-TALFAN).

TABLEAU N° 4

Etude de la résistance à l'éther des différentes souches isolées

Virus	Titre après action de l'éther	Titre sans action de l'éther
<u>816</u>		
6 ^e passage	10 ^{4,8} DECP50/ml	10 ^{4,6} DECP50/ml
<u>14411</u>		
6 ^e passage	10 ^{4,8} DECP50/ml	10 ^{4,6} DECP50/ml
<u>D 1338</u>		
6 ^e passage	10 ^{4,6} DECP50/ml	10 ^{4,8} DECP50/ml
<u>D 3040</u>		
9 ^e passage	10 ⁵ DECP50/ml	10 ^{5,2} DECP50/ml

TABLEAU N° 5

Résultats de la séroneutralisation des 4 souches isolées par les 8 sérums de référence

Souche	Groupe I	Groupe II	Groupe III	Groupe IV	Groupe V	Groupe VI	Groupe VII	Groupe VIII
816	+	—	—	—	—	—	—	—
14411	+	—	—	—	—	—	—	—
D 1338	+	—	—	nf	nf	nf	nf	nf
D 3040	+	—	—	nf	nf	nf	nf	nf

+ : séroneutralisation ; — : virus non neutralisé ; nf : non fait.

e) *Filtration.*

Les suspensions virales passent à travers des pores de 50 nanomètres et conservent leur pouvoir cytopathogène.

III. — DISCUSSION

4 souches de virus, de taille inférieure à 50 nanomètres, résistant à l'éther, neutralisées spécifiquement par un sérum anti-groupe I des picornavirus (TESCHEN-TALFAN) ont été isolées à partir de foyers de paralysie du porc. Deux d'entre elles permettent de reproduire les symptômes et les lésions caractéristiques de poliomyélite.

De ce fait, et étant donné l'allure relativement bénigne de la maladie dans les divers foyers, on peut les considérer comme des souches de virus de la maladie de TALFAN.

Il est difficile, actuellement, d'apprécier la fréquence de cette maladie dont l'existence est soupçonnée depuis plusieurs années en France. En effet, le diagnostic ne peut être établi avec certitude sur le terrain, et l'aspect limité des troubles observés n'entraîne pas régulièrement l'envoi de prélèvements au laboratoire. Par ailleurs, les lésions histologiques peuvent faire défaut (absence de lésion microscopique chez 10 porcs paralysés provenant du foyer à partir duquel la souche 816 a été isolée) et la mise en œuvre de passages aveugles est fastidieuse et irréalisable pour un laboratoire de diagnostic de routine. Enfin, le recours à l'enquête sérologique pour apprécier l'incidence de l'infection est très délicat en raison de la fréquence d'infection des porcs par des picornavirus entérotropes possédant des communautés antigéniques avec le virus de TALFAN. Aussi, seul l'isolement du virus avec reproduction de la maladie est une preuve satisfaisante.

La présence de souches dans des départements éloignés comme le Morbihan, le Nord et les Yvelines, laisse supposer une large distribution de ce virus en France.

CONCLUSION

Une maladie du porc caractérisée sur le plan épidémiologique par de petites enzooties, sur le plan clinique par une parésie ou une paralysie des membres postérieurs et sur le plan histologique par des lésions d'encéphalomyélite et plus particulièrement de poliomyélite, a été observée dans différentes régions de France. La maladie a pu être reproduite expérimentalement par l'inoculation de broyat de substance nerveuse et plusieurs souches de virus pathogènes ont été isolées. L'identification de ces virus a été réalisée par l'étude de leur pouvoir cytopathogène et de leur résistance

aux solvants des lipides, la détermination de leur taille, leur neutralisation par des sérums de référence et l'inoculation au porcelet avec reproduction des symptômes et des lésions de poliomyélite. L'ensemble de ces éléments permet de conclure à l'existence de la maladie de Talfan en France.

*Laboratoire de la chaire des maladies contagieuses,
(Professeur P. Goret) Ecole vétérinaire
F. 94701. Maisons-Alfort.*

BIBLIOGRAPHIE

1. BENDIXEN (H. C) et SJOLTE (J. P.). — Une paralysie postérieure transmissible des porcs au Danemark. *Nord. Vet. Med.*, 1955, **7**, 97.
2. BOURRIER (M.). — Sur une épizootie de paralysie contagieuse du porc observée dans la région de Chambéry. *Thèse Doct. Vét.*, Lyon, 1948.
3. CHAUVET (P.). — Recherches expérimentales sur une paralysie contagieuse du porc observée dans la région du Sud-Est. *Thèse Doct. Vét.*, Lyon, 1951.
4. COLLET (P.). — L'encéphalomyélite infectieuse du porc. Une enzootie en Saône et Loire. *Bull. Soc. Sci. Vét.*, Lyon, 1941, **42**, 3.
5. DUNNE (H. W.) et WANG (J. T.). — Immune response to porcine enteroviruses. Effect of antigenic variations on classification. *J. A. V. M. A.*, 1972, **160**, 613.
6. FLATLA (J. L.). — Discussion sur la maladie de Teschen. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1962, **57**, 1585.
7. GORET (P.), TOMA (B.), PARODI (A.) et WYERS (M.). — La maladie de Teschen existe-t-elle en France? *Bull. Ac. Vét.*, 1969, **42**, 157.
8. HAHNEFELD (H.), HAHNEFELD (E.) et WITIG (W.). — Maladie de Talfan des porcs en Allemagne. I. — Isolement et caractérisation du virus à partir de porcs du district de Dresde. *Arch. Exp. Vet. Med.*, 1965, **19**, 185.
9. HARDING (J. D.), DONE (J. T.) et KERSHAW (G. F.). — Une polioencéphalomyélite transmissible des porcs (maladie de Talfan). *Vet. Rec.*, 1957, **69**, 824.
10. MAYR (A.) et BIBRACK (B.). — Microtest de neutralisation pour la mise en évidence des infections de Teschen-Talfan. *Zbl. Vet. Med.*, 1971, **18**, 657.
11. Mc EARLEAN (B. A.). — Une enzootie de paralysie des porcs avec démyélinisation médullaire. *Irish Vet.*, 1960, **14**, 66.
12. METIANU (T.), ATANASIU (P.) et LUCAS (A.). — Etude expérimentale de la maladie de Teschen; isolement et identification de deux souches de virus en France. *Bull. Ac. Vét.*, 1970, **43**, 151.
13. SIBALIN (M.). — Confirmation de la présence de la maladie de Talfan sur les porcs en Suède. *Arch. Ges. Virusforsch.*, 1962, **12**, 76.
14. TOMA (B.), PARODI (A.), RICHARD (Y.), WYERS (M.) et GORET (P.). — Contribution à l'étude de la maladie de Talfan en France. *Cah. Méd. Vét.*, 1973, sous presse.