

Détermination de l'activité « in vitro » de certains antiseptiques sur le virus de la Rhino-pneumonie du Cheval

par M^{me} M.-P. FONTAINE (*), M. FONTAINE (*),
M^{me} A. MORAILLON (**), R. MORAILLON (**), A. BRION (**)

INTRODUCTION

Le virus de la rhino-pneumonie du cheval appartient au groupe Herpès et possède une enveloppe mucopolyosidique et lipidique qui le rend sensible à l'action de l'éther. Il est détruit dans les solutions de pH inférieur à 5 et supérieur à 8 ; son optimum de conservation se situe entre pH 6 et pH 7. Un certain nombre d'observations laissent penser que le virus, dans les milieux extérieurs, perd son pouvoir infectant en moins de 7 jours sur support métallique ou sur verre, en 7 à 14 jours dans les litières ou sur du papier, et qu'il peut résister jusqu'à 40 jours sur le pelage sec des chevaux (1). Il y a lieu de tenir compte de ces données en vue d'établir la durée de la quarantaine à laquelle doivent être soumis les animaux admis dans un haras indemne de la maladie, ainsi que les juments ayant avorté (2). Celle-ci pourrait être réduite si le matériel susceptible de véhiculer le virus était soumis à l'action d'un désinfectant actif sur ce dernier. Ce désinfectant doit également être dénué de nocivité pour la peau et les muqueuses de façon à pouvoir être appliqué sur le corps des animaux. Dans ces conditions, une quarantaine d'une semaine serait suffisante.

Le présent travail a eu pour but de comparer l'activité antiseptique de plusieurs substances d'un emploi commun dans les opérations de nettoyage et de désinfection, afin de permettre un choix basé sur des données expérimentales.

(*) Ecole Nationale Vétérinaire, 69-Lyon.

(**) Ecole Nationale Vétérinaire, 94-Alfort.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1° Le *virus* utilisé est la souche Kentucky B (Ky-B) adaptée au hamster par passages en série et entretenue sur hamsters de 4 semaines. Le stock de virus est préparé de la manière suivante : les foies de hamsters ayant succombé en moins de 72 h à l'inoculation intrapéritonéale, sont prélevés rapidement sur les cadavres et après élimination de la vésicule biliaire, stockés à -25°C . La présence d'inclusions intranucléaires abondantes est vérifiée sur des coupes histologiques. Le broyat est réalisé en présence d'une faible quantité de bouillon ordinaire pour bactériologie. Après un cycle de congélation et décongélation, on réalise par adjonction de bouillon une suspension au 1/5 à laquelle on ajoute 500 U. de pénicilline, 100 γ de streptomycine et 100 γ de néomycine par ml. La suspension est centrifugée pendant 10 min. à 2.500 t/min et le surnageant est réparti en ampoules et stocké à -25°C .

Des échantillons de la suspension virale sont prélevés en vue du titrage. A cet effet, des hamsters de 4-5 semaines reçoivent 1 ml de suspension virale, en bouillon tryptose-phosphate, à différentes dilutions. On utilise 10 hamsters par dilution pour déterminer la DL_{50} hamster de la suspension.

2° Les *antiseptiques* dont nous avons mesuré l'action sont les suivants :

1) Un détergent composé d'alkyl-aryl-sulfonate de sodium et d'alcool éthoxylé sulfaté (dénomination commerciale : Teepol).

2) Un ammonium quaternaire, le bromure de cétyl-triméthyl-ammonium (dénomination commune : Cétrinimium), en solution à 20 p. 100 dans un solvant alcoolique (dénomination commerciale : Cétavlon).

3) Chloro-mercuri-pseudobutylphénol (dénomination commune : Mercurobutyl) émulsionné dans une solution aqueuse de sulfate double de lauryle et de sodium (dénomination commerciale : Mercryl laurylé).

4) Chlorhydrate d'orthoxyquinoléine en solution à 2 p. 100 dans l'alcool à 70° (dénomination commerciale : Sunalcol).

5) Sel de sodium du p-toluène-N-chlorosulfamide (dénomination commune : Chloramine T).

6) Permanganate de potassium.

7) Crésyl.

Les solutions ont été faites, soit à partir du produit cristallisé (chloramine T, permanganate de potassium), soit à partir du produit commercial et en fonction des recommandations du producteur :

- Teepol : 1/100, 1/1.000, 1/10.000.
- Cétavlon : 1/10, 1/100, 1/1.000.
- Mercryl Laurylé : 1/10, 1/100, 1/1.000.
- Sunalcol : 1/2, 1/20.
- Chloramine T : 2/100, 2/1.000, 2/10.000.
- Permanganate de potassium : 1/10, 1/100, 1/1.000.
- Crésyl : 1/100, 1/1.000, 1/10.000.

Afin d'éliminer l'éventuelle action du pH des solutions sur le virus, il a été au préalable mesuré, de telle sorte qu'il reste situé entre 6 et 7. C'est ainsi que la solution de chloramine T à 2 p. 100, qui a un pH 8, a été ramenée à pH 7 par addition de solution N/10 d'acide chlorhydrique.

3^o Méthode d'évaluation de l'action des antiseptiques.

Un volume de suspension virulente titrant $2 \cdot 10^4$ DL₅₀ hamster par ml est mis en contact avec un volume égal d'antiseptique à différentes concentrations. Les dilutions d'antiseptiques sont faites en eau bidistillée. Le temps de contact est fixé à 1 h exactement à la température du laboratoire. Après action des antiseptiques à différentes dilutions sur la suspension virulente, le mélange est dilué 10 fois pour réduire la toxicité de l'antiseptique pour le hamster (par exemple, le cétavlon à 0,25 p. 100 à la dose de 1 ml par voie intrapéritonéale détermine des perforations intestinales). Compte tenu de cette dernière dilution, chaque sujet reçoit 10^3 DL₅₀ hamster. On inocule 5 hamsters par dilution. On réalise d'autre part deux séries de 5 témoins : l'une est constituée de hamsters inoculés avec 1 ml d'une suspension virale représentant 10^8 DL₅₀ hamster, dépourvue d'antiseptique et demeurée exposée à la température du laboratoire pendant 1 h ; l'autre est constituée de hamsters recevant, dans les mêmes conditions, les uns une dose identique, les autres, une double dose des solutions antiseptiques pour vérification d'innocuité.

La période d'observation des animaux inoculés est de 10 jours.

Les foies de tous les hamsters ayant reçu du virus sont examinés pour la recherche des inclusions caractéristiques de la maladie.

TABLEAU I

Nombre de morts dans chaque lot de 5 hamsters

Antiseptiques	Dilutions des antiseptiques à partir de la solution commerciale ou du produit cristallisé (chloramine T et permanganate de potassium)																													
	1/2			1/10			1/20			2/100			1/100			2/1000			1/1000			2/10000			1/10000					
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c			
Teepol													5	0	0							5	0	0				5	0	5
Crésyl													5	0	0							5	0	0				5	0	5
Chloramine T ..										5	0	0				5	0	0							5	0	5			
Cetavlon.....				5	0	0							5	0	0							5	0	5						
Mercryl laurylé				5	0	0							5	0	0							5	0	5						
Permanganate de Potassium				5	0	0							5	0	0							5	0	5						
Sunalcol	5	0	0				5	0	5																					

a = inoculation par virus seul (10^8 DL₅₀ hamster).

b = injection intrapéritonéale de la solution antiseptique seule.

c = injection du virus mélangé à la dilution indiquée de l'antiseptique.

RÉSULTATS

Les résultats globaux sont exprimés dans le tableau I.

Ils permettent de classer les antiseptiques essayés en trois catégories :

1° Les meilleurs sont le teepol, le crésyl et la chloramine T. Leur activité est totale jusqu'à la concentration de 1 p. 1.000 pour les deux premiers, de 2 p. 1.000 pour le troisième.

2° Le Cétavlon, le mercryl laurylé, le permanganate de potassium ne détruisent le virus, dans les conditions de l'expérience, qu'à la dilution maximale de 1/100. A 1 p. 1.000, ils sont inactifs.

3° Le sunalcol est pratiquement sans action.

Il pourra être tenu compte des concentrations à utiliser, pour les opérations de désinfection des locaux et du matériel d'une part, du tégument, poils, crins et sabots des juments d'autre part.

Dans le premier groupe, le teepol paraît être particulièrement intéressant car il unit ses propriétés détergentes et pénétrantes à son pouvoir virulicide, qui semble être spécial au virus de la rhino-pneumonie puisqu'il ne lui a pas été reconnu jusqu'ici sur d'autres micro-organismes.

RÉSUMÉ

Sept antiseptiques ont été éprouvés quant à leur pouvoir virulicide, à différentes concentrations, sur le virus de la rhino-pneumonie. Ce pouvoir a été apprécié par inoculation au hamster de 4-5 semaines de virus Kentucky Ky-B mis en suspension dans les solutions antiseptiques. Les plus actives sont le teepol, le crésyl et la chloramine T (limite de concentration efficace 1 à 2 p. 1.000).

Il y a lieu de tenir compte de ces indications pour le choix des solutions désinfectantes à appliquer sur les animaux ou sur les objets et parois des locaux infectés ou suspects.

RÉFÉRENCES

1. DOLL (E. R.), Mc COLLUM (W. H.), BRYANS (J. T.), CROWE (E. W.). — Effect of physical and chemical environment on the viability of equine rhinopneumonitis virus propagated in hamsters. *Cornell Vet.*, 1959, **49**, 75.

2. BRION (A.), FONTAINE (M.), MORAILLON (R.). — Proposition de mesures prophylactiques contre l'avortement de la jument par le virus de la Rhinopneumonie. *Bull. Acad. Vétér.*, 1967, **40**, 89-93.

*(Travail effectué grâce à une subvention
de la Société d'Encouragement pour
l'amélioration des races de chevaux
en France.)*
