

COMMUNICATIONS

Etude des pneumopathies expérimentales provoquées, chez le veau et le porcelet, par le « virus » de l'avortement de la brebis inoculé par voie pulmonaire (nébulisation)

par A. CHARTON, P. FAYE, J. LECOANET, A. PARODI, Cl. LE LAYEC

L'étude du pouvoir pathogène expérimental d'une souche de *Miyagawanella ovis* isolée d'un placenta de brebis avortée montre que, par voie pulmonaire (nébulisation), ce « virus » est susceptible de provoquer, chez l'agneau, des pneumopathies transmissibles en série. Pas plus qu'une spécificité de tissu (puisqu'il atteint aussi bien, à l'intérieur de la même espèce ovine, le poumon et le placenta) il ne semble posséder de spécificité d'espèce, puisqu'il se multiplie également chez l'embryon de poulet, la souris, la brebis et l'agneau. Le but du présent essai était de rechercher si, par la même voie d'inoculation, *M. ovis* était susceptible de déterminer, chez le veau et le porc, des lésions analogues à celles de l'agneau et d'étudier celles-ci.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

La souche de *Miyagawanella* utilisée a été précédemment définie (1. 2).

La technique utilisée pour l'inoculation du porcelet est identique à celle qui, ayant servi pour l'inoculation des agneaux, a été antérieurement décrite. Chez le veau, l'inhalation de l'inoculum, nébu-

(1) FAYE P., CHARTON A., LECOANET J., PARODI A. et LE LAYEC Ch. — *Acad. Vét., Bull.* 1964, 37, 263.

(2) CHARTON A., FAYE P., PARODI A., LECOANET J. et LE LAYEC Ch. — *Acad. Vét., Bull.* 1964, 37, 269.

lisé sur colonne de HALPERN, est réalisée à l'aide d'un sac étanche de matière plastique, encapuchonnant la tête seule du sujet, muni d'un collier de serrage au niveau de l'encolure. Le brouillard virulent est conduit à l'intérieur du sac par une courte tubulure souple ; il est canalisé à la sortie du capuchon et dirigé vers un flacon de Kitasato, à l'intérieur duquel un barbotage dans une solution concentrée d'hypochlorite de chaux assure son inactivation. Le sac est maintenu gonflé en permanence durant l'opération, du fait d'une légère surpression de 0,100 kg par rapport à la pression atmosphérique.

Chaque sujet inhale, durant 30 minutes, le brouillard produit par nébulisation de 5 ml du surnageant récolté, après 20 minutes de centrifugation à 3.500 tours-minute, à + 4° C, d'une suspension au 1/10 de membranes d'œufs virulentes, soit environ 10⁶ D. L. 50 œuf, par ml. Au cours des passages en série réalisés pour chaque espèce, cet inoculum est remplacé par le surnageant obtenu après centrifugation du broyat, en solution physiologique tamponnée, des lésions pulmonaires prélevées sur les sujets utilisés pour le précédent passage.

Les veaux utilisés étaient des animaux importés de leur exploitation d'origine, à la fin de leur première semaine. Entretien pendant une semaine, environ, à l'animalerie du laboratoire en cases d'isolement, de manière à permettre un contrôle journalier et un acclimatement suffisant pour écarter le risque d'éclosion d'une maladie spontanée préexistante, ces veaux ont été inoculés, en moyenne, à l'âge de 15 jours.

Les porcelets étaient des sujets d'un mois, environ, provenant d'une même exploitation, saine. Leur inoculation a été effectuée après un séjour d'une semaine à la porcherie du laboratoire, délai suffisant pour leur acclimatement et un contrôle de santé.

II. — RÉSULTATS CHEZ LE VEAU

Au premier passage (inoculation par nébulisation d'une suspension d'œuf infecté), évolue une maladie clinique expérimentale dont les premiers signes apparaissent, chez les deux sujets, dès le lendemain de l'inoculation ; l'état général est atteint, la vivacité et l'appétit diminués, la peau sèche. L'ascension thermique, faible, progressive, atteint un maximum, sans dépasser 40°, le 4^e jour ; la perte de poids est sensible. Un peu de jetage, un léger larmolement et, par ailleurs, chez l'un des sujets, une diarrhée liquide, de couleur jaunâtre, de mauvaise odeur, sont observés. La respiration est,

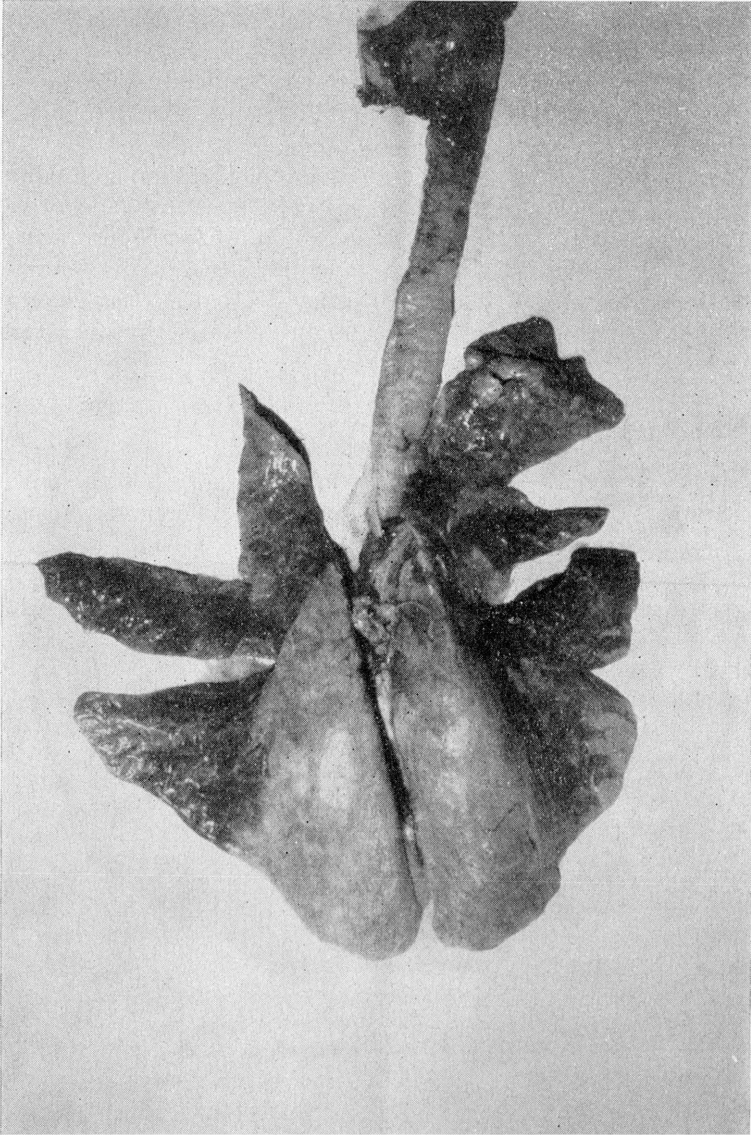


FIG. 1. — Veau n° 1.

chez les deux veaux, accélérée; l'expiration est entre-coupée. Chez l'un (n° 1), ces divers symptômes persistent jusqu'au moment de l'abatage (8^e jour). Chez l'autre (veau n° 2), une amélioration progressive apparaît le 4^e jour, la température redevient normale au 9^e jour; les signes généraux disparaissent, bien que le veau ait à peine repris son poids initial. Jusqu'à l'abatage, au 14^e jour, la respiration reste courte, rapide, abdominale.

Aux passages suivants, exécutés par nébulisation, non plus de suspensions de membranes d'œufs infectés, mais de suspensions de lésions pulmonaires prélevées sur les sujets du précédent passage, l'évolution clinique est analogue, mais plus fruste. Au 3^e passage, cependant, l'élévation thermique se manifeste dès le lendemain de l'inoculation, atteignant 40°, et se maintient à ce niveau jusqu'au 4^e jour.

Anatomie pathologique.

Les lésions macroscopiques observées au cours des trois passages sur veau sont du même ordre, plus particulièrement accusées,



FIG. 2. — Veau n° 2.

cependant, chez l'un des deux veaux du 1^{er} passage (œuf → veau) [fig. 1 (n° 1)] où elles s'étendent à la totalité des lobes apicaux et cardiaques et à la partie antérieure des lobes diaphragmatiques.

Nettement délimitées, rouge sombre, en dépression par rapport

aux régions saines, densifiées, ces lésions sont macroscopiquement identiques aux lésions d'atélectasie que l'on observe fréquemment dans les pneumo-entérites spontanées du veau. Aux 2^e et 3^e passages, les lésions sont beaucoup plus limitées ; elles atteignent, cependant, la moitié environ du lobe apical droit, au 2^e passage et, en outre, plusieurs points disséminés dans le parenchyme pulmonaire, notamment au niveau des sillons interlobaires (fig. 2).

L'examen microscopique des frottis et calques exécutés d'après les lésions fraîches ne montre pas, dans ces zones d'atélectasie, de bactéries, ni d'images rappelant celles que donne notre souche AB sur œuf ou sur souris. Malgré l'absence de ces images, l'abondance des macrophages et des mononucléaires, la rareté des polynucléaires, semblent plus correspondre à une inflammation de type viral, accompagnée d'une réaction de défense contre les corps étrangers présents dans l'inoculum, qu'à une infection bactérienne.

Histologie pathologique.

Les lésions, chez le veau, sont du même type que les lésions observées, au cours d'une expérimentation antérieure, chez l'agneau. Elles se résument en une réaction inflammatoire de type interstitiel, intralobulaire, avec infiltration histio-lymphocytaire et plasmocytaire des adventices péribronchiolaires et périvasculaires, ainsi que des septa interalvéolaires. Ces lésions sont marquées, chez le veau, par les variations liées à la structure nettement lobulée des poumons dans cette espèce. La densification est, ici, plus intense que chez l'agneau : elle atteint en totalité certains lobules, au sein desquels les alvéoles sont réduits à d'étroites fentes, sous l'effet de l'infiltration septale. Dans les lobules moins gravement atteints, la réaction cellulaire, histio-lymphocytaire et plasmocytaire, est mieux visible en raison de la persistance de la structure alvéolaire. En outre, l'alvéolite desquamante est très nette. Il faut signaler, enfin, la présence de quelques flots de bronchiolite et d'alvéolite à polynucléaires.

III. — RÉSULTATS CHEZ LE PORCELET

La nébulisation de la même suspension de membrane vitelline d'œuf infecté, déjà utilisée pour l'inoculation de veaux et d'agneaux, ne provoque, chez deux porcelets d'un mois environ, aucune réaction générale importante : au cours des jours qui suivent l'inoculation, seuls s'observent un certain ralentissement de la

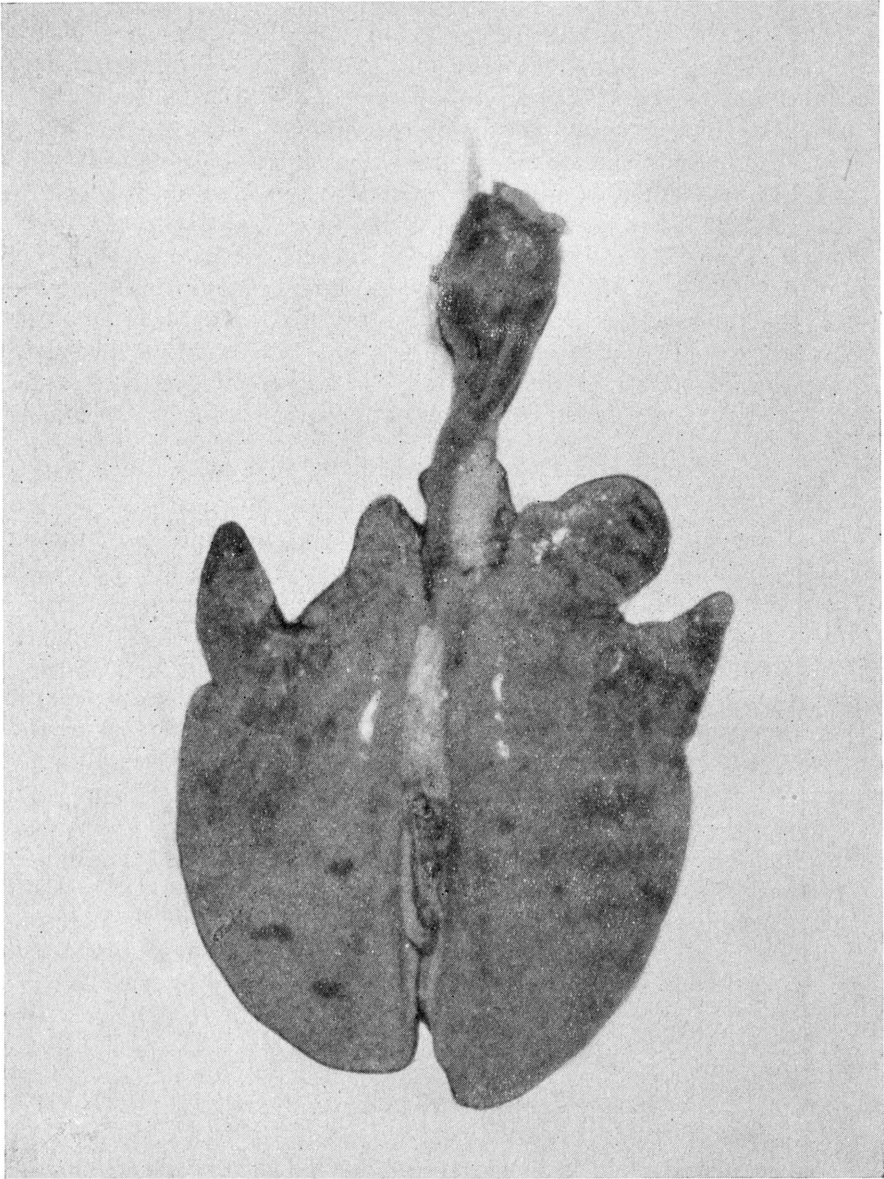


FIG. 3. — Porcelet n° 1 (1^{er} passage, œuf → porc) 8^e jour.

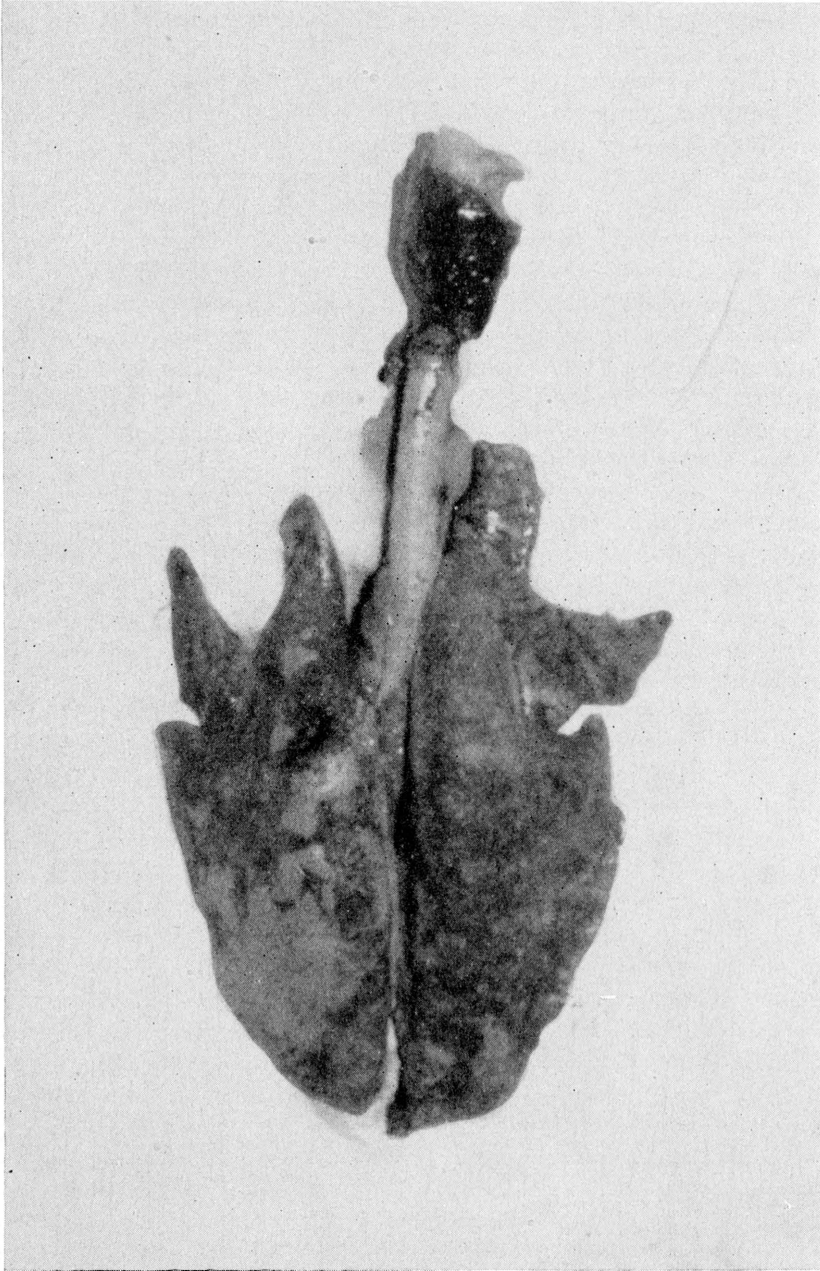


FIG. 4. — Porcelet n° 2 (1^{er} passage œuf → porc) 11^e jour.

croissance, une diminution passagère de la vivacité et de l'appétit et, par rapport au témoin appartenant à la même portée, un aspect sale de la peau de la région dorsale. Chez aucun des deux sujets inoculés, l'ascension thermique n'atteint 40° (39° 4 chez l'un, le 3^e jour, 39° 6 chez le deuxième, le 4^e jour). L'amplitude et le rythme respiratoires restent sensiblement normaux chez les deux animaux ; tout au plus peut-on noter, chez l'un des deux (n° 1), du 3^e au 5^e jours, une légère accélération du rythme, sans dyspnée.

L'autopsie, pratiquée après abattage du porcelet n° 1, le 8^e jour après inoculation, révèle cependant l'existence de nombreuses petites lésions (1 à 4 centimètres carrés), disséminées dans l'ensemble de l'organe, mais avec tendance à la confluence (fig. 3-4) et affectant surtout le lobe apical droit et les lobes cardiaques. Ces lésions, denses, pâles, lisses en surface, sont nettement délimitées, légèrement déprimées, par rapport au tissu voisin qui est, en contraste, emphysémateux. Chez le second sujet, abattu 3 jours plus tard, se retrouvent des lésions analogues, mais plus diffuses et dispersées dans la totalité de l'organe. Au cours des passages suivants, effectués de porcelet à porcelet par inoculation de suspension des lésions pulmonaires obtenues au passage précédent, l'évolution est analogue. Plus discrètes, les lésions de densification sont cependant particulièrement nettes (fig. 5) au niveau des lobes apical et cardiaque droits du porcelet n° 3 (2^e passage). Chez le sujet n° 5 (3^e passage), abattu au 7^e jour suivant l'inoculation, tout le poumon présente un aspect inflammatoire diffus (fig. 6) ; la densification du parenchyme est particulièrement accusée dans les lobes apicaux et cardiaques.

L'examen microscopique des frottis exécutés par écrasement de fragments des lésions, après coloration par la méthode de MACCHIAVELLO et la méthode de MAY-GRÜNWARD-GIEMSA ne permet pas d'affirmer, *même au troisième passage*, la présence de virus. On observe, dans le cytoplasme de certaines cellules de type épithélial, l'image d'éléments corpusculaires, colorés en bleu au Macchiavello, en violet au Giemsa, mais dont l'interprétation est difficile ; en particulier, ne se trouve aucune image des amas plus ou moins réguliers de corps punctiformes, fortement colorés, réfringents, qui caractérisent la morphologie des Miyagawanelles dans les lésions de l'avortement spontané chez la brebis et en ovoculture.

Histologie pathologique.

L'étude histologique permet de retrouver, chez le porcelet, le même type lésionnel que chez l'agneau et le veau. La lésion essen-



FIG. 5. — Porcelet n° 3 (2^e passage porc → porc).

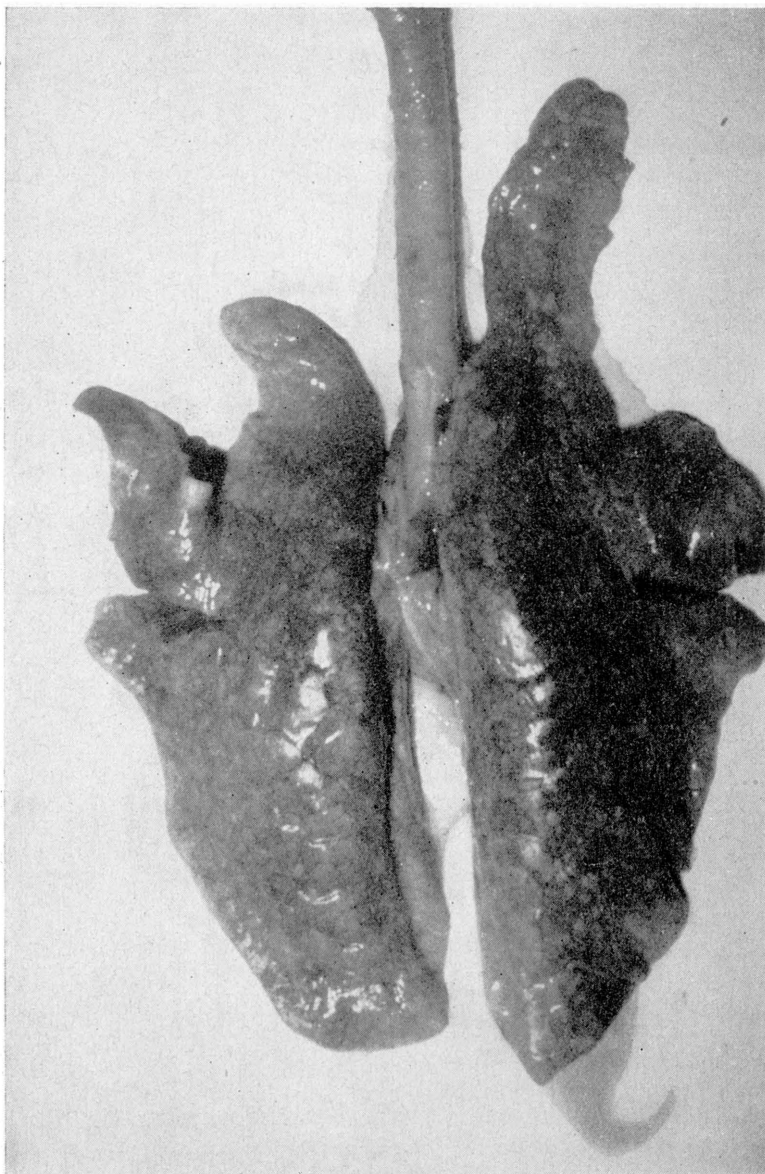


FIG. 6. — Porcelet n° 5 (3^e passage, porc → porc) 7^e jour.

tielle est interstitielle, caractérisée par la présence d'un infiltrat inflammatoire, interalvéolaire, de nature histio-lymphocytaire, particulièrement marqué, ici, au niveau des territoires conjonctifs péribronchiolaires et périvasculaires. Elle revêt en outre un caractère plus diffus que dans les autres espèces, n'atteignant jamais les stades d'atélectasie observés chez l'agneau et chez le veau. Des lésions d'alvéolite catarrhale et leucocytaire sont également visibles.

IV. — INTERPRÉTATION ET DISCUSSION DES RÉSULTATS

A la suite de l'inoculation, par nébulisation, d'une suspension riche en « virus » de l'avortement de la brebis, chez le veau et le porcelet comme chez l'agneau, évolue donc une pneumopathie, par la suite transmissible en série, au sein de la même espèce, de poumon malade à poumon sain.

Pour tous les sujets, la nébulisation comporte, outre l'inoculation du « virus », plusieurs éléments aspécifiques agissant chacun à la manière d'un « stress » : contention ; inhalation en surpression (1,100 kg) d'un brouillard froid, durant trente minutes environ ; pénétration dans l'arbre respiratoire de fins corps étrangers (débris de membranes vitellines d'œuf ou débris cellulaires de parenchyme pulmonaire). L'hypothèse selon laquelle les lésions, observées en série, pourraient être provoquées par l'action de ces derniers éléments plutôt que par le « virus » lui-même est contredite, d'une part, par l'absence de lésions, après traitement identique dans d'autres espèces (poussins d'un jour) ; d'autre part, par la nature même des lésions histologiques, dont le caractère essentiel, que l'on retrouve chez le veau et le porcelet, comme chez l'agneau, est une infiltration péribronchiolaire, périvasculaire et interalvéolaire, de type histio-lymphocytaire qui plaide fortement en faveur de l'atteinte virienne. Enfin, ces lésions étaient absentes chez un animal témoin ayant inhalé une suspension nébulisée de membranes vitellines d'œuf sain.

Il faut noter que, dans la plupart des cas et jusque y compris le 3^e passage, l'examen microscopique des frottis exécutés par écrasement ou décalque des lésions du veau et du porcelet ne permet pas, après coloration de MACCHIAVELLO ou de MAY GRÜNWARD-GIEMSA, de mettre en évidence sans équivoque, dans les tissus lésés, la présence de la miyagawanelle. Les essais de passage en retour sur œuf n'ont pas été exécutés systématiquement à partir de ces lésions. Cependant, l'analogie des lésions observées, d'une part, dans ces

deux espèces et, d'autre part, chez l'agneau, le résultat positif des essais de passage en retour sur membrane vitelline à partir de lésions pulmonaires du premier et du 4^e passages sur l'agneau, permettent, dans une large mesure, d'étendre au veau et au porcelet, les résultats obtenus antérieurement chez l'agneau. On peut penser que le « virus », bien responsable des lésions, n'a pas seulement survécu sur chacun de ces sujets, mais a cultivé.

Le fait que la même souche de miyagawanelle ait pu déterminer, dans des conditions expérimentales bien définies, des lésions pulmonaires chez l'agneau, le veau et le porcelet, complète les résultats antérieurement obtenus par DUNGWORTH et CORDY, par OMORI et Coll. et permet de penser que ce « virus » peut jouer le rôle d'agent primitif dans l'étiologie des pneumopathies spontanées du veau et du porcelet, comme dans celles de l'agneau. Cependant, ce rôle ne pourra être prouvé, en France, que par l'isolement et la culture de souches de ce groupe à partir des lésions de maladie spontanée et par la détermination de ces souches par rapport aux divers membres du groupe Trachome-Psittacose-Lymphogranulomatose vénérienne (T. P. L.).

*Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
Chaire de Pathologie du Bétail.*
