

ARTICLES ORIGINAUX

Identification au Tchad d'un virus du groupe des chlamydozoacées, pathogène pour la chèvre

(Note préliminaire)

par A. PROVOST

I. — INTRODUCTION

La pleuro-pneumonie infectieuse de la chèvre est une entité morbide bien définie en Afrique. Longley (9) a apporté des précisions capitales sur son étiologie et sa pathogénie, en montrant le rôle d'un P.P.L.O. Elle est fréquente au Tchad.

Il nous a été donné d'observer à Fort-Lamy, une enzootie entraînant une mortalité élevée chez les chèvres, après une maladie pulmonaire différente de la pneumonie que nous venons d'évoquer. Ce sont les découvertes et les réflexions qu'elles nous ont suggérées que nous nous proposons de relater ici.

Découverte de la maladie. — La production du virus capripéste, destiné à assurer la prophylaxie de la peste bovine au Tchad, exige l'entretien au laboratoire d'un lot important de chèvres ; il convient en effet, avant de leur inoculer le virus capripéste, de les maintenir en observation pendant un certain temps pour s'assurer de leur bonne santé et établir une courbe de température qui servira à apprécier l'intensité de la réaction thermique, témoin de la multiplication du virus dans l'organisme de la chèvre (1).

Au début de l'année 1956, notre attention fut attirée par plusieurs points :

— l'étrangeté des courbes de température chez les animaux qui apparemment semblaient en bonne santé ;

— une importante mortalité chez les chèvres en stabulation sans qu'on puisse invoquer des causes alimentaires ou parasitaires (hémoparasites et helminthes) ;

— la présence constante à l'autopsie d'une pneumonie ou d'une broncho-pneumonie, sans pleurésie, avec parfois un épanchement péritonéal, tableau nécropsique différent de la pleuro-pneumonie à P.P.L.O. ;

— la présence parmi les chèvres en stabulation, d'un certain nombre d'animaux présentant de la toux et un jetage mucopurulent.

Nous n'avons pas fait immédiatement le rapprochement entre les irrégularités de température et la pneumonie ; nous avons voulu éliminer les hémoparasitoses en pratiquant systématiquement des examens de sang, et la possibilité de brucellose en recherchant les agglutinines brucelliques ; tous ces examens devaient se révéler négatifs.

La recherche des germes qui auraient pu être responsables de la maladie fut décevante ; nous avons isolé des colibacilles, bacillus, staphylocoques, streptocoques, bacilles hémolytiques, et dans un cas, un P.P.L.O.

Par contre, le matériel pulmonaire, traité par les antibiotiques, tuait les souris inoculées par voie intracérébrale.

Cette constatation nous a conduit à évoquer la présence d'un virus.

Présence d'un virus. — C'est dans ce sens que nous avons orienté nos recherches. Nous avons alors remarqué, sur des calques de poumon malade, la présence de petits corpuscules colorés en rouge rubis par la coloration de Macchiavello. Ces corpuscules, à la limite de la visibilité, se trouvaient dans les cellules, autour du noyau ou groupés en amas, en donnant un aspect en framboise. Nous retrouvions encore ces figures dans les frottis exécutés avec un

râclage d'épithélium bronchique, au milieu d'autres microbes, ceux-là extracellulaires.

Ces images nous ont rappelé celles que l'on pouvait voir dans la psittacose, particulièrement les magnifiques photographies de Hornus (2). C'est en tablant sur l'hypothèse que nous pourrions avoir affaire à ce virus ou à un virus voisin que nous avons continué ce travail en nous efforçant de justifier cette conception par les études morphologiques et antigéniques de l'agent causal.

Nous présenterons l'ensemble de nos observations sans tenir compte de leur chronologie.

II. — DESCRIPTION DU VIRUS

A) **Morphologie.** — Dans les tissus infectés naturellement (calques de poumon, frottis de râclage bronchique) ou expérimentalement (cerveau de souris, membrane vitelline de l'œuf), le virus se présente sous la forme de petits corpuscules de 0,3 à 0,5 μ ; les plus gros peuvent atteindre 1 μ . Ils sont sphériques et on ne voit jamais de formes micro-bacillaires comme chez les rickettsies. Ils sont, la plupart du temps, groupés en amas d'une dizaine de corpuscules, mais séparés les uns des autres. Parfois on ne voit qu'un ou deux corpuscules dans une cellule infectée. Nous n'avons jamais vu de chaînettes d'éléments.

Ils sont toujours intracellulaires, mais nous n'en avons jamais observés dans le noyau. Quelquefois, lorsque la cellule qui les contenait a éclaté, on peut les rencontrer dispersés au milieu des débris cellulaires.

Ils sont colorés en rouge par le Macchiavello, en bleu par la coloration de Frottingham, en violet pourpre par le Giemsa. Sur les coupes de poumon, colorées par la méthode de Lépine et Sautter (3), ils sont rouge rubis et se montrent bien localisés dans la cellule, en amas ou en auréole autour du noyau. Ils ne sont pas colorés par l'hématoxyline.

B) **Inclusions.** — Nous avons pu observer des inclusions qui semblent pouvoir être rapportées à la présence du virus, car elles ne sont pas présentes sur des préparations identiques effectuées avec des tissus sains.

— Dans les coupes de poumon : On observe, dans les cellules bronchiques et dans quelques cellules mononucléaires infiltrant les septa alvéolaires, des corps colorés en rouge très vif par la fuschine et l'hématoxyline. Ils semblent être sphériques, de quelques μ de diamètre (1 à 10), entourés d'un halo très clair. Il est très rare d'en trouver dans des cellules du parenchyme pulmonaire.

Certaines de ces inclusions laissent apercevoir une structure hétérogène, comme si elles étaient constituées de sphérules; cette image est très rare.

— Dans les cellules de membrane vitelline : Les cellules de membranes vitellines infectées montrent à profusion des corpuscules rouges au Macchiavello; nombre de cellules présentent, en outre, des inclusions bleues au Macchiavello, bleu azur au Frottingham; elles ont de 0,5 à 2 μ ; la plupart du temps, elles sont entourées d'un semis de petits corpuscules rouges.

Ces images ne sont pas sans rappeler celles que l'on a décrites dans la psittacose (2).

C) **Filtrabilité.** — Le virus est filtrable sur membrane SEITZ E.K. Nous nous servons de cette technique, concurremment à l'addition d'antibiotiques, pour retirer le virus du matériel infectieux.

D) **Culture et inoculations.** — Le virus ne cultive pas sur milieux acellulaires, mais dans les conditions suivantes :

1° **Souris :** Les souris, inoculées par voie intracérébrale avec le matériel pathologique filtré ou traité par l'association pénicilline-streptomycine, meurent en 3 à 15 jours.

Les calques de cerveau présentent des corpuscules rouges au Macchiavello.

Nous n'avons pas pu réussir, au cours de plusieurs essais, la transmission plus loin que le troisième passage.

Par voie intrapéritonéale, on retrouve le virus lors du premier passage, mais il est ensuite perdu. La voie nasale ne nous a donné une pneumonie que dans un seul cas.

2° **Cobaye :** Dans ces premières expériences, cette espèce s'est montrée insensible par voie intrapéritonéale ou intracérébrale.

3° **Œuf embryonné :** L'inoculation de matériel pathologique dans le sac vitellin d'œufs embryonnés de six jours a donné une culture très abondante. Après 7 jours d'incubation entre 37°5 et 38°, les membranes vitellines sont récoltées et lavées. Les calques colorés au Macchiavello montrent les petits corpuscules rouges et les inclusions bleues déjà décrites.

Les passages successifs réussissent très bien. Le matériel vitellin, tout comme le matériel pathologique, peut servir à reproduire la maladie. Nous nous proposons d'étudier la possibilité d'en faire un antigène pour déviation du complément.

E) **Siège du virus dans l'organisme.** — Le virus est constamment présent dans le poumon, d'où nous l'avons isolé à plusieurs reprises.

Nous n'avons pas pu, dans le petit nombre d'essais que nous avons effectués, le déceler dans le sang.

F) **Etude sérologique.** — En nous basant sur la communauté antigénique que présentent les virus du groupe psittacose-ornithose, nous avons entrepris des déviations du complément avec l'antigène

de Frei de l'Institut Pasteur, qui est préparé avec le virus de la lymphogranulomatose. L'antigène commercial fut dilué au 1/10 et mis au bain-marie bouillant pendant 30 minutes pour en augmenter la sensibilité. Les sérums furent prélevés sur des chèvres mises en observation depuis un certain temps, et qui avaient présenté des pics thermiques ; on peut raisonnablement penser que ces animaux avaient été infectés et qu'ils avaient guéri.

La technique employée fut celle de Kolmer, avec titrage préalable du complément (complément lyophilisé de l'Institut Pasteur).

Les titres obtenus varient du 1/2 (sans signification) au 1/128. Ils ne sont pas plus élevés sans doute à cause de l'emploi de l'antigène, préparé pour un diagnostic allergique et non pour une déviation du complément.

Ce résultat apportait une indication précieuse pour la continuation du travail, car il venait recouper les résultats de Giroud et coll. (4) qui ont montré que les sérums des chèvres du Tchad présentaient des anticorps vis-à-vis des « néo-rickettsies ». Il appartenait de faire la preuve que la chlamydozoacée que nous avons observée et cultivée était bien l'antigène responsable de ces anticorps. A cet effet un immun-sérum de lapin fut préparé en injectant 4 fois à 5 jours d'intervalle une membrane vitelline d'œuf infecté par le virus ; ce sérum a donné avec le même antigène et la même technique, une déviation du complément au titre 1/32, alors qu'avant l'expérience, il ne déviait le complément avec l'antigène de Frei qu'au 1/2. On doit donc admettre que c'est l'injection du virus qui a provoqué l'apparition d'anticorps vis-à-vis d'un antigène du groupe psittacose-ornithose.

Ces premières constatations des caractères morphologiques, tinctoriaux, culturels et sérologiques de ce virus semblent le rapprocher du groupe des Chlamydozoacées (14).

III. — LA MALADIE DES CHÈVRES

L'évolution clinique est discrète. Si l'on ne prend pas soin de relever les températures, il peut arriver que l'on ne remarque pas le sujet malade dans le lot d'animaux ; on le trouvera mort subitement. On peut penser que cette forme correspond à une forme suraiguë, car l'autopsie révèle dans ces cas une congestion très violente du poumon.

Dans d'autres cas, on note de l'abattement, le poil se pique, en même temps qu'une toux petite, sèche, non quinteuse se manifeste ; l'animal a du jetage muco-purulent. L'évolution est rapide : 36 à 48 heures. Il se peut d'ailleurs, étant donné la discrétion des

symptômes, que les lésions soient déjà constituées avant que la maladie ne devienne cliniquement décelable.

Les relevés de température sont plus suggestifs ; par exemple, la température grimpe brusquement de 37° à 41°, redescend à 38°5, puis remonte à 40°5.

La conclusion d'ensemble est décevante : ni la clinique, ni les prises de température ne permettent d'authentifier rigoureusement la maladie. Les épisodes sub-fébriles à rechutes dominant la scène. C'est pourquoi nous pensons que dans les conditions naturelles l'infection doit suivre une forme subaiguë ou chronique et que c'est la stabulation, néfaste à l'entretien des chèvres, habituées à vivre en complète liberté, qui précipite le cours de la maladie en amoindrissant la résistance organique.

IV. — ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Autopsie : Le tableau nécropsique est constant, quel qu'aient été les symptômes ; il ne semble d'ailleurs pas qu'il y ait de rapport entre l'intensité de la réaction thermique et la gravité des lésions.

Le poumon dans son ensemble est cedématié et congestionné. Des foyers épars de pneumonie peuvent être répartis sur toute sa surface, mais le plus souvent la pneumonie est cantonnée aux lobes apicaux et moyens du poumon droit ; des lobes sont atteints dans leur totalité.

Les bronches et la trachée sont remplies d'un mucus épais, spumeux. La pleurésie n'existe jamais ; seule une très petite quantité de liquide clair ou hémorragique peut, très exceptionnellement, être rencontrée dans le thorax.

L'intestin est congestionné et le péritoine rempli d'un liquide clair, limpide, rarement hémorragique. Les reins montrent souvent une néphrite glomérulaire.

Ces lésions distinguent absolument cette maladie de la pleuro-pneumonie contagieuse des chèvres, due à un P.P.L.O., où les lésions de pleurésie et les adhérences pleurales frappent à l'ouverture du cadavre.

Lésions microscopiques : Le découpage alvéolaire du poumon normal a disparu ; on ne trouve d'alvéoles quasi normales qu'en bordure de la plèvre, distendues cependant par l'emphysème. Partout ailleurs, les alvéoles sont atelectasiées, réduites et même rendues inexistantes par l'hyperplasie considérable des septa intervalvéolaires. Cette hyperplasie est constituée par une infiltration de cellules mononucléées dont il nous paraît difficile de préciser l'origine, mais où l'on peut quand même reconnaître des plasmocytes. Dans quelques alvéoles, on note la présence de globules rouges. A côté de

ces foyers de pneumonie interstitielle qui évoquent d'emblée la présence d'un virus, existent des foyers de pneumonie fibrineuse et fibrino-caséuse avec présence de polynucléaires. Il nous a semblé que les deux processus coexistaient sans se mélanger comme s'il s'agissait de deux entités complètement différentes évoluant pour leur propre compte; les foyers de pneumonie interstitielle et de pneumonie purulente ne semblent pas toucher les mêmes lobules.

À côté de ces lésions parenchymateuses, on note une bronchite et une bronchiolite avec desquamation intracanaliculaire de l'épithélium. Dans l'adventice bronchiale prédominent encore des cellules mononucléaires.

Comme nous l'avons déjà dit, on peut mettre en évidence dans les coupes, par la coloration de Lépine et Sautter, le virus et les inclusions. Ils sont surtout visibles dans les cellules pavimenteuses de l'épithélium bronchique.

V. — DISCUSSION

Ces premiers résultats nous laissent penser qu'il existe au Tchad une pneumonie caprine à virus. Cette pneumonie diffère de la pleuro-pneumonie à P.P.L.O., à la fois par la clinique et l'anatomie pathologique. La morphologie de son agent causal et ses propriétés antigéniques permettent de le rattacher au groupe des virus psittacose — lymphogranulomateuse (chlamydozoacées).

Nous posons la question de savoir s'il s'agit là de la même pneumonie à virus que Mornet et coll. (12, 13) ont soupçonnée en A.O.F. où ils ont contrôlé la présence d'inclusions dans les cellules de l'épithélium bronchique. En outre, signalons qu'une affection semblable, dont l'anatomo-pathologie est identique à celle que nous venons de décrire, existe au Soudan (15).

Le rôle pathogène des virus du groupe des chlamydozoacées se montre de jour en jour plus grand. En ne citant que quelques affections animales africaines, on pourrait rappeler qu'en 1954, Giroud, Roger, N. Dumas, Vouilloux et Sacquet (4) ont signalé que sur 9 sérums de chèvres du Tchad, 6 étaient positifs à l'égard de l'antigène T 13 du groupe des néorickettsies, et qu'en 1955, Giroud, Le Gac, Roger et Dumas (11) ont rapporté que des chèvres de l'Oubangui réagissaient avec des antigènes du même groupe. L'étendue du rôle pathogène de ces microorganismes a récemment été mise en lumière par Giroud et Jadin au Congo Belge (10), où ils ont pu montrer leur présence lors d'avortements de chèvres. Des études ultérieures devront préciser les relations existant entre ces virus et celui que nous avons isolé.

Il y aurait également grand intérêt à le comparer au virus de la pneumonie des chèvres du Japon, décrite par Saito (5), qui est rattaché au groupe des chlamydozoacées. Cependant, le virus japonais est pathogène pour le cobaye (8), alors que nous n'avons pu réussir à infecter cet animal avec le nôtre. Est-ce un virus différent ou n'est-ce qu'une différence de pouvoir pathogène ?

Il existe au Kenya une pneumonie enzootique du mouton ou « Laikipia lung disease » (6) atteignant également les chèvres, dans laquelle les auteurs britanniques ont pu identifier un virus du même groupe. De même, Mac Kercher (7) a signalé aux U.S.A. une pneumonie du mouton due à un virus du groupe psittacose-lympho-granulomateuse. L'étude comparative de tous ces virus est à entreprendre pour préciser leurs rapports.

Nous nous trouvons en présence d'un vaste groupe de virus, responsables de syndromes pulmonaires.

Il reste à connaître leur parenté ou leur identité.

Travail du Laboratoire Central de l'Élevage de Farcha, Service de Virologie, FORT-LAMY (Tchad).

BIBLIOGRAPHIE

1. SACQUET et TROQUEREAU. — **Essai de vaccination contre la peste bovine au moyen du virus capri-pestique dans le nord-est du Tchad.** *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* (1951-2), 5, 45.
2. VIEUCHANGE. — **Psittacose et ornithose, in Levaditi et Lépine : les ultra-virus des maladies humaines**, 2^e éd., p. 1151, Maloine, Paris, 1948.
3. LÉPINE et SOHIER. — **Techniques de laboratoire appliquées au diagnostic des maladies à virus.** Masson, Paris, 1954.
4. GIROUD, ROGER, DUMAS, VOUILLOUX et SACQUET. — **Comportement des animaux domestiques de la région du Tchad vis-à-vis de l'antigène.** T. 13. *Bull. Soc. Path. Exo.* (1954), 37, 644.
5. SAITO. — **Pneumonie contagieuse de la chèvre.** *Off. Int. Epi.* (1954), 52, 676.
6. KENYA department of Veterinary Services Annual Report, 1953, 25 et 1954, 24.
7. MAC KERCHER. — *Science* (1952), 115, 543.
8. OOMORI, ISHII et MATSUMOTO. — *Off. Int. Epi.* (1956), rapport 424.

9. LONGLEY. — **Caprine pleuro-pneumonia in Nigeria.** Colonial Research Publication n° 7. His Majesty' Stationery Office, London (1951).
10. JADIN et GIROUD. — **Les avortements des caprins de la région de Kisenyi (Ruanda-Urundi, Congo Belge), ne sont pas dus à *Brucella melitensis* mais au groupe néo-rickettsien.** *Bull. Soc. Path. Exo.* (1956), 49, 597.
11. GIROUD, LE GAC, ROGER, DUMAS. — **Les chèvres guinéennes de l'Oubangui, hôtes habituels de la case africaine, réagissent aux antigènes des néo-rickettsies.** *Bull. Soc. Path. Exo.* (1955), 48, 321.
12. MORNET, ORUE, GILBERT, THIERRY et SOW MAMADOU. — **La « peste des petits ruminants » en Afrique Occidentale Française; ses rapports avec la peste bovine.** *Rev. Elev Méd. Vét. Pays Trop.* (1956), 9, 313.
13. ORUE. — Communication personnelle, 1957.
14. GORET et BRION. — **Les infections animales du groupe ornithose-psittacose (*Chlamydozooses*).** *Off. Int. Epi.* (1955), 43, 1020.
15. M. le Doyen de la Faculté Vétérinaire de Khartoum. — Communication personnelle, 1957.

SUMMARY

Identification of a virus pathogenic for goats in Tchad which has been classified in the *Chlamydozoacae* group (Preliminary Note)

In Tchad, French Equatorial Africa, a pneumonia of the goat has been differentiated from contagious pleuropneumonia. A virus which morphologically belongs to the *Chlamydozoacae* group has been isolated from lungs of infected animals. This virus may be cultivated on vitelline membrane and presents the serological characteristics of the above mentioned group as it was shown that the serum of infected goats has complement fixing properties for lymphogranuloma antigen.

It has been suggested that this virus might be grouped with those of ovine and caprine virus pneumonia.

RESUMEN

Identificación en Tchad, de un virus del grupo de los clamidozoos, patógeno para la cabra. (Nota preliminar).

Existe en Tchad una neumonía de la cabra distinta de la pleuro-pneumonia contagiosa de P.P.L.O. Se han podido aislar pulmones infectados por un virus que presenta las afinidades morfológicas y tintoriales del grupo de los clamidozoos, que es cultivable en la membrana vitelina de huevo, y también las serológicas. El suero de las cabras enfermas fija el complemento con un antígeno linfogranulomatoso.

Se recuerda la relación de este virus con otros de las neumonías a virus, ovinas y caprinas.