

Enquête sur l'infection des bovidés par le virus parainfluenza 3 en Afrique centrale

Application au contrôle de la sérologie de la péripneumonie

par A. PROVOST, C. BORREDON, R. QUÉVAL et Y. MAURICE

RÉSUMÉ

Les auteurs trouvent des anticorps inhibant l'hémagglutinine du virus parainfluenza 3 chez 96,7 p. 100 des sérums de bovins d'Afrique centrale, ainsi que dans des sérums de moutons, de chameaux et d'antilopes. La très haute incidence de ces anticorps chez le bétail pourrait permettre de proposer le test d'inhibition de l'hémagglutinine du virus parainfluenza 3 comme « marqueur » de l'hypogammaglobulinémie de certains bovins.

Le virus parainfluenza 3, plus exactement dénommé maintenant *Paramyxovirus parainfluenzae tertius*, est de connaissance relativement récente en médecine vétérinaire. C'est en 1959 en effet que REISINGER et coll. (17) l'ont isolé d'une maladie respiratoire des bovins. Son rôle étiologique a été invoqué dans la « maladie des transports » (shipping fever des auteurs de langue anglaise) qui se traduit dans la forme bénigne par des atteintes des voies respiratoires supérieures de type catarrhal, et dans sa forme grave par des pneumonies et des broncho-pneumonies.

La peste bovine a dans sa symptomatologie une petite composante respiratoire qui, au début de la maladie, pourrait en imposer pour une affection des voies aériennes supérieures et faire errer le diagnostic. C'est pour cette raison que la fièvre de transport a été évoquée dans le diagnostic clinique différentiel de la peste (14) et que nous avons été amenés à nous intéresser à cette virose et à l'infection des bovidés par le virus parainfluenza 3 (*).

Disons tout de suite pour n'y plus revenir que nous n'avons jamais observé en Afrique Centrale de maladie pouvant faire penser à la fièvre de transport ; ce n'est qu'après inoculation expérimentale que nous avons pu isoler le virus PI-3 à partir de prélèvements.

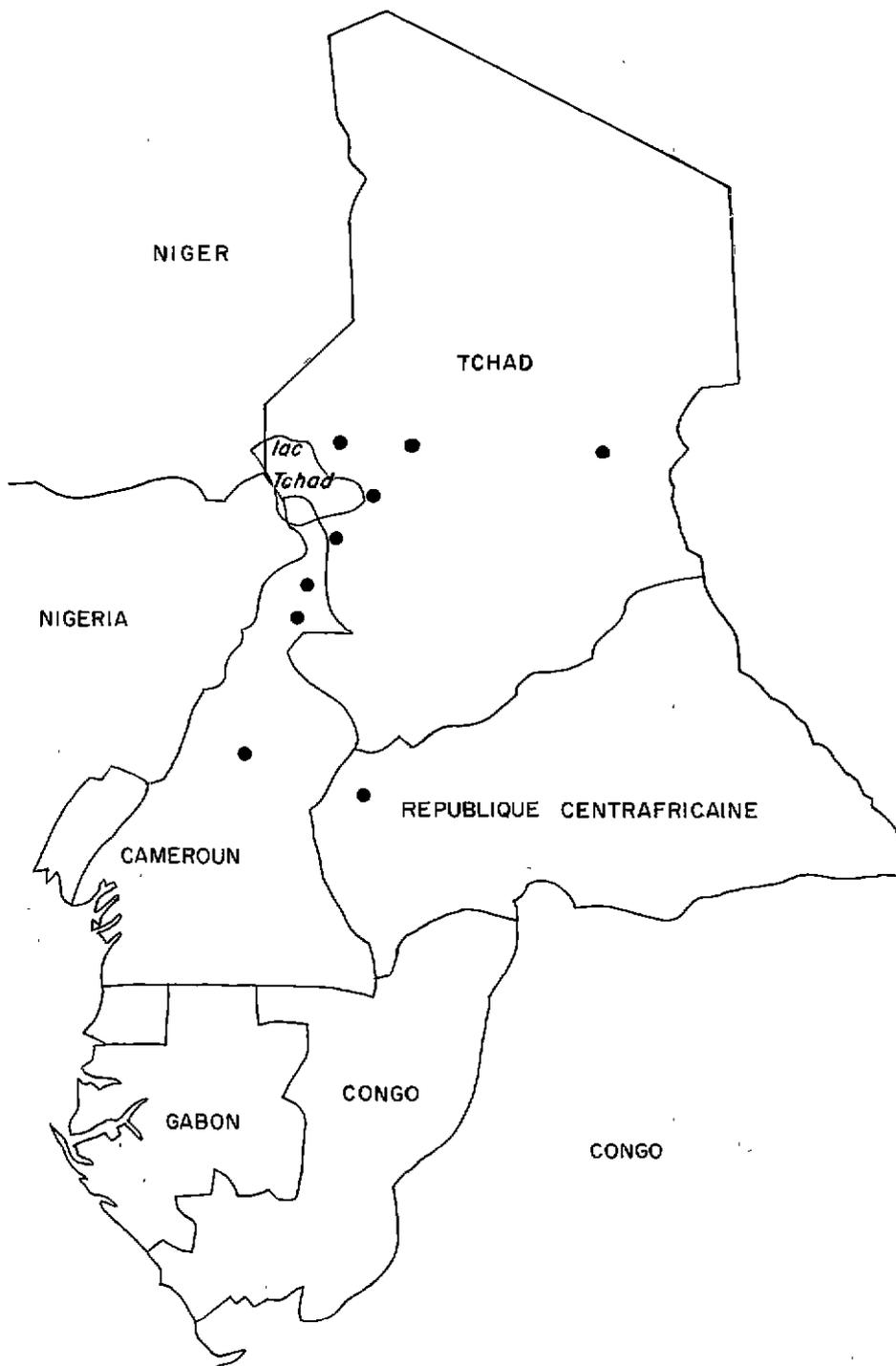
Pourtant l'infection naturelle bovine existe en Afrique Centrale. C'est ce que tend à montrer cette note qui, par ailleurs vise à proposer un moyen de détection des bovins hypo-gammaglobulinémiques (15) dont l'existence vient troubler la prophylaxie de certaines maladies. Nous avons suivi pour cette étude les méthodes classiques de l'enquête sérologique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — Sérums.

Des bovins (races zébus arabes, krédas et bororos) ont été saignés en brousse sans aucune précaution particulière d'asepsie par des équipes de vaccination lors des campagnes antipestiques. En quelques occasions fut récolté du sang d'animaux sauvages abattus par des chasseurs.

(*) En abréviation : virus PI-3.



Après exsudation des caillots, les sérums sont décantés dans des flacons qui sont placés dans de la glace fondante et envoyés au laboratoire. Dès leur réception, les sérums sont clarifiés par centrifugation puis congelés à -20°C jusqu'à leur utilisation. Aucun antiseptique n'est ajouté. Nombreux sont ceux qui sont hémoglobinémiqes. Presque tous ont été congelés et décongelés à plusieurs reprises car ils ont été utilisés dans d'autres enquêtes sérologiques.

L'origine géographique des sérums figure sur la carte.

2. — Technique d'inhibition de l'hémagglutination due au virus PI-3.

a) Préparation de l'hémagglutinine. La souche de virus utilisée est dénommée R-2 V/9 et est originaire du Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen, Allemagne. Elle est cultivée sur cellules de rein d'embryon de veau de première explantation qui, après infection par le virus, sont remises en culture dans du milieu de Eagle sans sérum. Lorsque les lésions cytopathiques sont bien nettes et que le tapis cellulaire est au 3/4 détruit (ceci en 3 à 4 jours), on récolte les liquides virulents, on les clarifie par centrifugation puis on les répartit en flacons par quantités de 2 ml et on congèle à -20°C .

Le titrage de l'hémagglutinine s'effectue par mélange à parties égales de dilutions en progression géométrique du liquide de raison 1 : 2 et d'une suspension d'hématies de cobayes à 0,4 p. 100. En quelques occasions ont été employées des hématies de mouton sans que l'on note d'influence sur le titre lu, qui est ordinairement de $2^{-8}/0,2$ ml (lecture à 100 p. 100 d'hémagglutination).

b) Technique d'inhibition.

Au début de cette enquête, les sérums de bovins ont été traités au kaolin ainsi que le recommandent BAKER et coll. (3) et ABINANTI et coll. (1). Il est néanmoins rapidement apparu qu'il était inutile d'employer cette technique de traitement des sérums car, suivant en cela l'opinion de DAWSON (5), de KETLER et coll. (11) et d'HAMPARIAN et coll. (9), les inhibiteurs non spécifiques du virus parainfluenza 3 paraissent

être très rares sinon totalement absents dans les sérums de bovins.

Après inactivation de 30 minutes à 56°C et adsorption des hétéro-agglutinines par un culot d'hématies de cobaye (ou de mouton suivant le cas) pendant une heure à 37°C , les sérums examinés sont dilués directement en sérum physiologique du 1 : 2 au 1 : 512 ou du 1 : 10 au 1 : 40.

On mélange 0,2 ml des dilutions de chaque sérum à 0,2 ml d'hémagglutinine diluée en sérum physiologique pour contenir 4 unités hémagglutinantes par 0,2 ml, puis après séjour d'une heure à 37°C on ajoute 0,2 ml de la suspension d'hématies à 0,4 p. 100. On lit l'inhibition de l'hémagglutination lorsque les témoins de la suspension globulaire sont sédimentés.

Il paraît plus avantageux de se servir de tubes de verre que de plaques en matière plastique creusées de godets dans lesquels la sédimentation des hématies de mammifères peut se faire irrégulièrement.

3. — Electrophorèse sur papier.

Elle suit les normes que l'un de nous a déjà exposées (16) et est couramment utilisée à Farcha.

Les gammaglobulines employées comme témoin dans les électrophorèses ont été préparées soit par précipitation au méthanol selon la méthode de DUBERT et Coll. (7) soit par la méthode au rivanol de MATTHAEUS et MATHEKA (13).

RÉSULTATS

1. — Incidence générale des anticorps.

Sur 886 sérums de bovins, 858 soit 96,7 p. 100 ont des anticorps inhibant l'hémagglutinine du virus parainfluenza 3. Les tableaux 1 et 2 rendent compte des résultats.

Vingt-trois sérums de moutons sur 29, 13 sérums de chameaux sur 20 sont positifs à la dilution 1 : 10.

Le tableau 3 groupe les résultats obtenus avec les sérums d'animaux sauvages.

2. — Comportement électrophorétique des sérums négatifs de bovins.

On devait se demander, en présence de la très forte proportion de sérums de bovins positifs, si

TABLEAU N°I

Titres des sérums de bovins inhibant l'hémagglutinine du virus parainfluenza 3

Titres	> 1/40	de 1/10 à 1/40	de 1/2 à 1/10	< 1/2
Nombre de sérums	538	316	3	29

TABLEAU N°II

Localisation géographique et pourcentage d'anticorps anti PI-3 chez les bovins d'Afrique Centrale.

Origine des sérums bovins		Nombre examiné	Nombre positif	Pourcentage positif
Tchad	Fort-Lamy	19	17	89,5
	Massakory 1	44	43	97,7
	Massakory 2	37	29	78,6
	Mao	50	50	100
	Moussoro	100	97	97
	Abéché	24	24	100
R.C.A.	Bouar	38	35	92
	Maroua	503	494	98
Cameroun	Dargala	39	39	100
	N'Gaoundéré	30	30	100

TABLEAU N°III

Présence d'anticorps inhibant l'hémagglutinine du virus parainfluenza 3 dans les sérums de la faune sauvage.

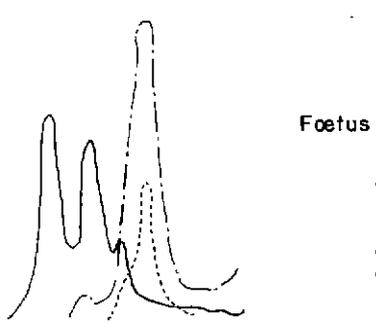
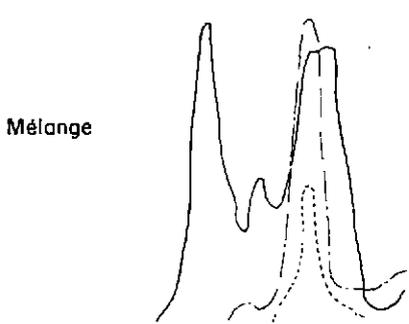
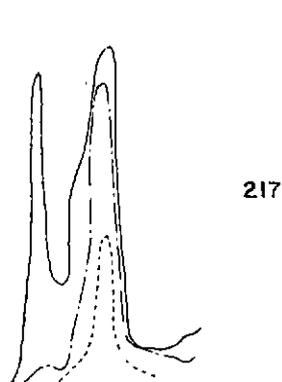
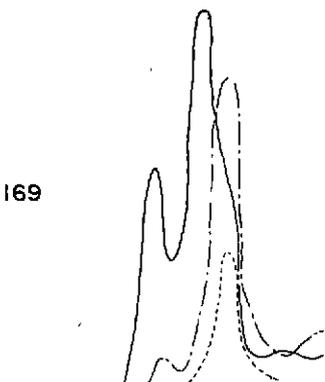
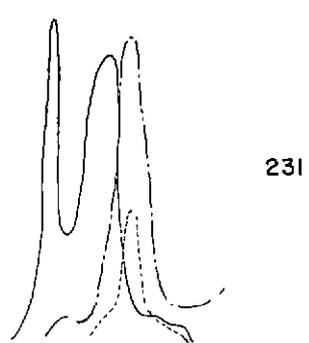
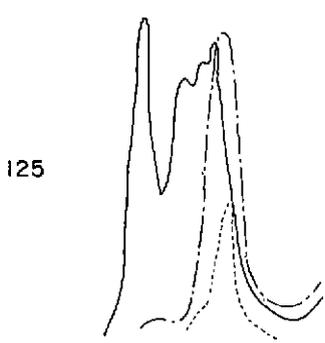
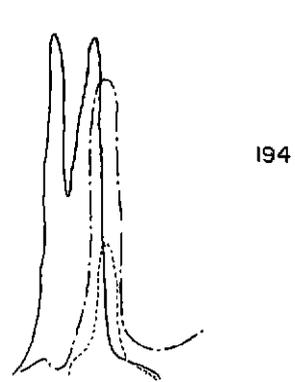
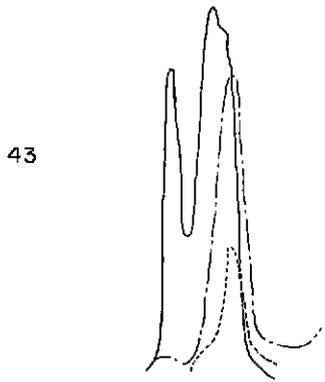
Espèces	Nombre examiné	Positifs
Gazelle (<i>Gazella rufifrons</i>)	4	1
Gazelle (<i>Gazella dorcas</i>)	12	8
Gazelle (<i>Gazella dama</i>)	7	6
Oryx (<i>Oryx algazel</i>)	3	3
Buffle (<i>Syncerus caffer equinoxialis</i>)	2	2
Damalisque (<i>Damaliscus korrigum</i>)	1	1
Bubale (<i>Alcelaphus lelwel</i>)	2	1
Cob onctueux (<i>Kobus defassa</i>)	1	0
Cob des roseaux (<i>Redunca redunca</i>)	1	1
Cob de Buffon (<i>Adenota cob</i>)	2	1
Elephant (<i>Loxodonta africana</i>)	1	1

PLANCHE 1. — Electroforégrammes de sérums sans anticorps inhibant l'hémagglutinine du virus parainfluenza 3, d'un mélange de sérum normal et d'un sérum de fœtus bovin.

Les courbes des électrophorégrammes sont disposées de telle sorte que les lignes de départ des électrophorèses coïncident.

Les sérums 217 et « mélange » ont un électrophorégramme normal alors que celui de fœtus bovin est démuné en gamma-globulines. Les sérums 43, 125, 169, 194, et 231 se montrent plus ou moins déficients en gamma-globulines.

Planche I



— — — — — Précipitation au Méthanol
- - - - - Précipitation au Rivanol

ceux qui n'avaient pas d'anticorps décelables n'entraient pas dans la catégorie des bovins hypo ou agammaglobulinémiques (15). C'est pourquoi les 29 sérums négatifs ont été examinés en électrophorèse. Pour éviter au maximum les erreurs possibles dues à des défauts de migration ou à de mauvaises interprétations des électrophorégrammes, on a inclus dans les expériences un mélange de sérums de zébus, un sérum de fœtus bovin (agammaglobulinémique) et des échantillons de gamma-globulines bovines obtenues par les méthodes au méthanol ou au rivanol.

La planche 1 reproduit quelques-uns des électrophorégrammes.

Alors que 20 sérums, tel le sérum 217, ont un comportement électrophorétique normal, 9 sérums montrent un déficit en gamma-globulines (dont les sérums 43, 125, 169, 194, 231). Le pourcentage des bovins hypogammaglobulinémiques est, dans les conditions de cette enquête, de 1 p. 100.

Les 20 sérums sérologiquement négatifs au test d'inhibition de l'hémagglutination mais à électrophorégramme orthodoxe ont été de nouveau soumis au test d'inhibition de l'hémagglutination en poussant plus loin les dilutions de sérums.

Cinq sur 20 avaient des anticorps inhibant l'hémagglutination n'apparaissant qu'après la dilution 1 : 40 ; leur déficit en anticorps n'est donc qu'apparent ; on a une sorte de phénomène de zone, chose absolument inhabituelle dans les inhibitions d'hémagglutinines virales.

DISCUSSION

L'incidence des anticorps antihémagglutinine parainfluenza 3 est singulièrement élevée en Afrique Centrale. Si l'on veut bien excepter, dans le tableau 2, les résultats des bovins de Massakory 2 (troupeau à bovins hypogammaglobulinémiques), les moyennes se situent entre 90 et 100 p. 100.

Ces chiffres sont légèrement plus élevés que ceux qui ont été trouvés aux Etats-Unis (1,12) et en Europe (4) où ils tournent autour de 80 p. 100. Il n'y a là, à vrai dire, rien de bien extraordinaire si l'on évoque le mode d'élevage du zébu en Afrique Centrale où les rassemblements d'ani-

maux aux mêmes points d'abreuvement ou de vaccination facilitent la dissémination du contag.

Peu surprenants sont les résultats acquis avec les sérums de moutons (venant recouper ceux de FISCHMAN (8) aux Etats-Unis) et avec ceux de chameaux ; cette dernière espèce n'est qu'à ajouter à la liste des espèces réceptives au virus parainfluenza 3.

Plus étonnante est, nous semble-t-il, la sérologie de la faune sauvage. Il est bon de rappeler que sur les daims d'Amérique du Nord KAHRS et Coll. (10) n'ont noté aucun sérum hébergeant des anticorps anti PI-3.

La présence d'anticorps chez les oryx, antilopes sahariennes n'ayant que peu de contact avec les zébus, réservoirs potentiels de l'infection, est digne d'être notée. Il en est de même pour l'éléphant.

L'infection à virus PI-3 est-elle due chez ces espèces à un virus adapté à elles ou aux souches bovines ? C'est là une inconnue qui si elle n'a guère d'incidence sur le plan pratique pose néanmoins un problème de virologie comparée.

Il est intéressant d'étudier à part les sérums de veau. Les sérums négatifs se retrouvent chez eux dans la classe d'âge de 4 à 6 mois uniquement, alors qu'avant cet âge et après, les sérums examinés sont tous positifs. On est alors tenté d'extrapoler à cette virose ce que l'on sait de la transmission colostrale des anticorps maternels chez les bovins expliquant la positivité des sujets de moins de quatre mois.

La conversion qui s'opère vers cet âge reflète la disparition de ces anticorps et leur réapparition deux mois plus tard lors d'une infection vraisemblablement subclinique.

La très haute incidence des anticorps antiviral PI-3, leur apparition brusque chez les veaux d'une classe d'âge précise laissent à penser que l'infection bovine par ce virus est largement répandue, voire autoentretenu dans les troupeaux d'Afrique Centrale. Ce qui peut paraître paradoxal dans ce contexte est que 15 bovins sur les 886 étudiés (soit 0,17 p. 100) n'aient pas d'anticorps décelables. Tant que l'écologie du virus ne sera pas mieux connue il paraît vain de vouloir épiloguer sur ces cas.

Donnant matière à plus amples considérations est la question des bovins hypogammaglobulinémiques. Leur incidence est faible, certes, tour-

nant autour de 1 p. 100 (*). Leur existence pose pourtant le très grave problème de la fidélité des réactions sérologiques. Il est en effet des maladies animales où la prophylaxie préconisée repose sur des examens sérologiques. Telles sont la péripneumonie et la brucellose. Pour la première, certains pays basent leurs efforts d'éradication sur des réactions de fixation du complément échelonnées dans le temps, visant à détecter et à éliminer malades et porteurs chroniques pour ne conserver que des bovins non infectés. Nous avons déjà évoqué (15) l'incertitude que faisait planer dans les conditions de l'Afrique Centrale l'existence des bovins hypogammaglobulinémiques.

Certains, malades et porteurs d'authentiques lésions péripneumoniques, donc contagieux, ont une sérologie parfaitement négative au test de fixation du complément. Il conviendrait donc qu'une épreuve de laboratoire plus facile à mettre en œuvre que l'électrophorèse puisse être proposée pour les détecter.

On peut se demander si un test d'inhibition de l'hémagglutinine PI-3, exécuté en même temps que la réaction de fixation du complément et sur les mêmes dilutions de sérums, ne pourrait pas apporter la réponse. Nous avons vu en effet qu'en utilisant les sérums à la dilution 1 : 10 nous avons 854 sérums positifs sur 886, soit 96,3 p. 100. Les 3,7 p. 100 restant se répartissent en sérums à très faible titre (0,35 p. 100), en

sérums normaux sans anticorps (1,8 p. 100), en sérums normaux présentant un « phénomène de zone » (0,54 p. 100) et en sérum hypogammaglobulinémiques (1 p. 100). Dans ces conditions, le test d'inhibition de l'hémagglutination PI-3 semble être un « marqueur » de l'hypogammaglobulinémie. Il permettrait de ne classer comme non infectés de péripneumonie que les bovins montrant à la fois une fixation du complément négative avec l'antigène péripneumonique et une inhibition de l'hémagglutinine PI-3. C'est un marqueur fort, au demeurant, éliminant des bovins à composition sérique normale puisqu'à la dilution de 1 : 10, 2,7 p. 100 de sérums négatifs sont normaux. Mais n'est-ce pas l'efficacité et la certitude qui sont à rechercher dans la constitution d'un troupeau vierge de toute infection péripneumonique ? Il restera d'ailleurs qu'en cas de doute puissant ou en présence d'un animal de prix classé « hypogammaglobulinémique » pourront être entrepris d'autres épreuves (dont l'électrophorèse du sérum, l'immunoélectrophorèse ou même la simple précipitation en gélose vis-à-vis d'un sérum antigammaglobulines bovines) qui éclairciront la situation.

Au prix de très peu de travail supplémentaire on introduirait dans la sérologie de la péripneumonie un élément de consolidation qui fait défaut en ce moment dans nos conditions de travail.

*Institut d'Elevage et de Médecine
Vétérinaire des Pays Tropicaux ;
Laboratoire
de Recherches Vétérinaires
de Farcha, Fort-Lamy, Tchad.*

(*) Incidemment, on remarquera que ce chiffre de 1 p. 100 est celui que l'on retrouve aussi pour les hypogammaglobulinémies humaines (2).

SUMMARY

Survey on the infection of cattle by the parainfluenza 3 virus in Central Africa. Application to the control of serological tests for Bovine Pleuropneumonia

Antibodies inhibiting the hemagglutinin of the parainfluenza-3 virus were found in 96,7 p. 100 of sera from cattle from Central Africa, as well as in sera from sheeps, from camels and from antelopes. In view of the very high incidence of these antibodies in cattle, the use of the hemagglutination-inhibition test for parainfluenza 3 virus could be suggested as a « Marker » of the hypogammaglobulinemia in some cattle.

RESUMEN

Encuesta sobre la infección de los bovinos por el virus parainfluenza 3 en Africa central. Aplicación a la comprobación de la prueba serológica de la perineumonía

Se encontraron anticuerpos inhibiendo la hemaglutinina del virus parainfluenza 3 en 96,7 p. 100 de los sueros de bovinos de Africa central, así como en sueros de ovejas, de camellos y de antílopes.

Siendo muy importante la incidencia de estos anticuerpos en el ganado, se podría proponer la utilización de la prueba de inhibición de la hemaglutinina del virus parainfluenza 3 para demostrar la hipogammaglobulinemia de algunos bovinos.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABINANTI (F. R.), HOERLEIN (A. B.), WATSON (R. L.) et HUEBNER (R.). — Serologic studies of myxovirus parainfluenza 3 in cattle and the prevalence of antibodies in bovines. *J. Imm.*, 1961, **86** : 505-511.
2. ARON (E.), VARGUES (R.), GROUSSIN (P.) et MICHON (J.). — Les agamma et hypogammaglobulinémies. *Presse Médicale*, 1963, **71** : 2625-2627.
3. BAKER (J. A.), ROBSON (D. S.), GILLESPIE (J. H.), Mc ENTEE (K.) et LANGER (P. H.). — Vaccination of cattle for increased profits. *Proceed. 63 rd ann. meet. US Liv. sanit. Asso.*, 1959, 143-165.
4. BÖGEL (K.). — Untersuchungen über die Epizootologie und Diagnostik bei der Parainfluenza-3- Virusinfektion des Rindes. *Mh. Tierheilk.*, 1962, **14** : 77-90.
5. DAWSON (P. S.). — The nature of substances present in normal bovine sera inhibiting the activity of parainfluenza -3 virus. *J. comp. Path.*, 1963, **73** : 428-436.
6. DAWSON (P. S.) et DARBYSHIRE (J. H.). — The occurrence and distribution in the United Kingdom of antibodies to parainfluenza 3 and infectious bovine rhinotracheitis virus in bovine sera. *Vet. Rec.*, 1964, **76** : 111-115.
7. DUBERT (J. M.), SLICEWICZ (P.), REBEYROTTE (P.) et MACHEBOEUF (M.). — Nouvelle méthode de séparation des protéines sériques par le méthanol. *Ann. I. P.*, 1953, **84** : 370-374.
8. FISCHMAN (H. R.). — Presence of neutralizing antibody for myxovirus parainfluenza 3 in sheep sera. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1965, **118** : 725-727.
9. HAMPARIAN (V. V.), WASHKO (F. V.), KETLER (A.) et HILLEMANN (M. R.). — Laboratory and field investigations of bovine myxovirus parainfluenza 3 virus and vaccine. III. Evaluation of an SF-4 (shipping fever) virus vaccine in cattle. *J. Imm.*, 1961, **87** : 139-146.
10. KAHRS (R.), ATKINSON (G.), BAKER (J. A.), CARMICHAEL (C. L.), COGGINS (L.), GILLESPIE (J.), LANGER (P.), MARSHALL (V.), ROBSON (D.) et SHEFFY (B.). — Serological studies on the incidence of bovine virus diarrhea, infectious bovine rhinotracheitis, bovine myxovirus parainfluenza 3 and *Leptospira pomona* in New-York state. *Cornell Vet.*, 1964, **54** : 360-369.
11. KETLER (A.), HAMPARIAN (V. V.), HILLEMANN (M. R.) et WASHKO (F. V.). — Laboratory and field investigations of bovine myxovirus parainfluenza 3 virus and vaccine. I. Properties of the SF-4 (shipping fever) strain of virus. *J. Imm.*, 1961, **87** : 126-133.
12. KRAMER (L. L.), SWEAT (R. L.) et YOUNG (G. A.). — Epizootiology of bovine myxovirus parainfluenza 3 (SF-4) in Nebraska cattle as determined by antibody titers. *J. A. V. M. A.*, 1963, **142** : 375-378.
13. MATTHAEUS (W.) et MATHEKA (H. D.). — Über die Gewinnung von Normal —

- und MKS — Immunglobulinen aus entsprechenden Seren vom Rind und Meerschweinchen mittels Rivanol. *Zbl Bakt. I (Org.)*, 1963, **188** : 6 et 423.
14. PROVOST (A.) et BORREDON (C.). — Les différents aspects du diagnostic clinique et expérimental de la peste bovine. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.*, 1963, **16** : 445-526.
15. PROVOST (A.), BORREDON (C.) et QUÉVAL (R.). — Une hypogammaglobulinémie essentielle des bovins d'Afrique Centrale, cause d'erreur dans les enquêtes sérologiques. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.*, 1965, **18** : 385-393.
16. QUÉVAL (R.). — Contribution à l'étude quantitative des protéines sériques du zébu arabe du Tchad. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.*, 1959, **12** : 293-296.
17. REISINGER (R. C.), HEDDLESTON (K. L.) et MANTHEI (C. A.). — A myxovirus (SF-4) associated with shipping fever of cattle. *J. A. V. M. A.*, 1959, **135** : 147-152.