

P. Jetteur <sup>1</sup>  
E. Eyanga <sup>1</sup>  
S. Makumbu <sup>1</sup>

## Enquête sérologique concernant les virus bovipestique, IBR-IPV, RSB, PI3 et BVD-MD sur des bovins du Shaba et de l'Ouest du Zaïre

JETTEUR (P.), EYANGA (E.), MAKUMBU (S.). Enquête sérologique concernant les virus bovipestique, IBR-IPV, RSB, PI3 et BVD-MD sur des bovins du Shaba et de l'Ouest du Zaïre. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1988, 41 (2) : 121-124.

Une enquête sérologique concernant le virus de la peste bovine et les virus IBR-IPV, RSB, PI3 et BVD-MD a été réalisée sur des bovins de quatre régions administratives du Zaïre : le Bandundu, l'Équateur, le Bas-Zaïre et le Shaba. Les anticorps ont été recherchés par séroneutralisation sauf pour le virus PI3 pour lequel l'inhibition de l'hémagglutination a été utilisée. Des sérums positifs envers les virus IBR-IPV, RSB et PI3 ont été trouvés dans toutes les régions où ils ont été recherchés. Pour le virus BVD-MD, des sérums positifs en quantité significative n'ont été rencontrés qu'en Equateur et au Shaba. En ce qui concerne la peste bovine, la seule région présentant un pourcentage appréciable de sérums positifs est l'Équateur. *Mots clés* : Bovin - Rhinotrachéite infectieuse bovine IBR-IPV - Infection à virus respiratoire syncytial bovin - Diarrhée à virus des bovins - Parainfluenza 3 virus - Peste bovine - Sérologie - Zaïre.

### INTRODUCTION

Dans divers pays limitrophes du Zaïre, la présence des virus IBR-IPV (Infectious Bovine Rhinotracheitis-Infectious Pustular Vulvovaginitis), BVD-MD (Bovine Viral Diarrhoea-Mucosal Disease) et PI3 (Parainfluenza 3) a été démontrée par isolement ou sérologie (3, 4, 8, 9, 10, 11, 12). La situation épidémiologique du Zaïre étant inconnue à cet égard, une enquête sérologique a été entreprise sur des sérums bovins de quatre régions administratives du Zaïre : le Bandundu, le Bas-Zaïre, l'Équateur et le Shaba. On y a recherché la présence d'anticorps envers les virus IBR-IPV, BVD-MD, PI3, RSB (Respiratoire Syncytial Bovin) et envers le virus de la peste bovine, sa présence ayant été démontrée durant ces dernières années dans divers pays entourant le Zaïre (6). Les analyses ont été effectuées par séroneutralisation (IBR-IPV, BVD-MD, RSB et peste bovine) et par inhibition d'hémagglutination (PI3).

1. Laboratoire Vétérinaire de Kinshasa, BP 8842, Kinshasa 1, Zaïre.

Reçu le 07.02.88, accepté le 15.02.88.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### Sérums

Les sérums ont été prélevés sur le terrain lors des visites dans les élevages et dans deux abattoirs de Kinshasa. Ils ont été inactivés à 56 °C durant 30 minutes et conservés à -20 °C. Ils proviennent d'élevages bovins extensifs du Bas-Zaïre, du Bandundu, de l'Équateur et du Shaba.

#### Test de séroneutralisation

Les tests de séroneutralisation ont été réalisés avec des cellules secondaires de rein de veau au moyen des souches suivantes : souche IPV 3760 pour IBR-IPV, souche NADL pour BVD-MD, souche RPOK pour la peste bovine et une souche vaccinale du commerce (Risposal R) pour le RSB. Une partie des tests a été réalisée en tube et l'autre en microplaque.

Lors des tests en tube, un volume de sérum dilué cinq fois est mis en contact dans un petit récipient avec un volume de suspension virale contenant 1000 TCID<sub>50</sub>/ml. Après une heure d'incubation à température ambiante, 0,2 ml de mélange est inoculé à un tube de culture cellulaire à confluence qui est mis en rotation. La lecture est faite après 4 jours pour IBR-IPV et BVD-MD (toutes les analyses envers le virus RSB ont été réalisées en microplaque). Pour la peste bovine, un volume de sérum non dilué est mis en contact avec un volume de suspension virale (1000 TCID<sub>50</sub>/ml) durant une nuit à 4 °C. On transvase alors 0,2 ml de mélange dans un tube de culture auquel on ajoute 100 000 cellules fraîchement trypsinisées. Les tubes sont mis en rotation après trois ou quatre jours lors du premier changement de milieu. Un nouveau changement de milieu est effectué après 7 jours et les tubes sont lus après 10 jours (5).

Lors des tests en microplaque, on mélange 0,05 ml de sérum dilué 5 fois à 0,05 ml de suspension virale contenant 100 TCID<sub>50</sub> dans un puits. La neutralisation s'effectue durant une heure à température ambiante sauf pour la peste bovine où le temps de contact est de deux heures à 37 °C (13). Excepté pour la peste bovine, on ajoute alors des cellules fraîchement trypsinisées de manière à réaliser un passage « un dans

P. Jeteur, E. Eyanga, S. Makumbu

deux » (en pratique une boîte en plastique de 25 cm<sup>2</sup> pour deux microplaques). Pour la peste bovine, la suspension cellulaire est ajustée entre 15 000 et 20 000 cellules par puits, car on s'est rendu compte que pour ce virus un excès de cellules réduit l'effet cytopathogène ainsi que le titre viral, et augmente le pourcentage de sérums faussement positifs (résultats non exposés). Tous les sérums positifs pour la peste bovine en microméthode ont été retestés en tube. Ce test étant considéré comme le test de référence, seuls ces résultats sont exposés. Après addition des cellules, les microplaques sont enfermées dans une boîte hermétique avec une bougie allumée et placées à 37 °C. Le milieu de culture est du MEM de Eagle avec les sels de Earle, autoclavable, à 0,29 g/l de glutamine, 2 g/l de bicarbonate de sodium, antibiotiques, 10 p. 100 de tryptose phosphate broth à 2,95 p. 100 et 10 p. 100 de sérum de veau local soit frais pour la peste et le BVD-MD soit traité au PEG (2) pour IBR-IPV et RSB afin de le débarrasser des anticorps contre ces deux virus. Les lectures sont effectuées après 7 jours pour IBR-IPV et BVD-MD et après 10 jours pour RSB et la peste bovine. Un sérum empêchant l'apparition d'un effet cytopathogène est considéré positif.

### Test d'inhibition d'hémagglutination

Ce test envers le virus PI3 (souche 176/6) est réalisé en microplaque à fond rond. Avant utilisation, le sérum est adsorbé durant 60 minutes à 37 °C avec un volume de globules rouges bovins et huit volumes de tampon (PBS avec 0,5 p. 100 d'albumine sérique bovine) puis centrifugé. Le sérum n'est pas traité au kaolin (1). Lors du test, on mélange 0,05 ml de sérum (dilution 1/10) à 0,05 ml de suspension virale contenant 4 unités hémagglutinantes. Après une heure de contact à température ambiante, on ajoute 0,05 ml de globules

rouges bovins à 0,5 p. 100. La lecture est faite lorsque la sédimentation est complète dans les puits témoins. Un titre de 1/10 est considéré positif (1).

## RÉSULTATS

L'ensemble des résultats individuels est repris dans le tableau I. Le pourcentage de troupeaux positifs n'est pas présenté car pour de nombreux élevages la proportion d'animaux prélevés est soit faible (sérums du terrain) soit inconnue (sérums d'abattoir). Pour les trois élevages de l'Équateur examinés, les résultats envers le virus BVD-MD et celui de la peste bovine sont présentés dans le tableau II.

**TABLEAU II.** Nombre de sérums examinés (n) et pourcentage de sérums positifs (p. 100) concernant le virus BVD-MD et celui de la peste bovine dans les trois élevages étudiés en Équateur (Zaïre).

Élevage \ Virus	BVD-MD		Peste bovine	
	n	p. 100	n	p. 100
Libenge	41	88	39	82
Ranch 1	54	0	55	33
Ranch 2	10	70	10	0
Total	105	41	104	48
Intervalle de confiance	± 9,4		± 9,6	

**TABLEAU I.** Nombre de sérums examinés (n) et pourcentage de sérums positifs (p. 100) concernant les divers virus selon les régions. Pour un même virus, deux pourcentages répertoriés par des lettres différentes (a, b, c) présentent une différence statistiquement significative (test d'homogénéité de proportions,  $P < 0,01$ ).

Région \ Virus	IBR-IPV		PI 3		RSB		BVD-MD		Peste bovine	
	n	p. 100	n	p. 100	n	p. 100	n	p. 100	n	p. 100
Bandundu	400	23 <sup>a</sup>	354	24 <sup>a</sup>	339	22 <sup>a</sup>	391	0 <sup>a</sup>	370	2 <sup>a</sup>
Bas-Zaïre	122	39 <sup>b</sup>	120	26 <sup>a</sup>	113	19 <sup>a</sup>	118	3 <sup>a</sup>	111	0 <sup>a</sup>
Équateur	109	51 <sup>b</sup>	109	37 <sup>a</sup>	102	65 <sup>b</sup>	105	41 <sup>b</sup>	104	48 <sup>b</sup>
Shaba	115	50 <sup>b</sup>	—	—	115	50 <sup>b</sup>	116	14 <sup>c</sup>	115	0 <sup>a</sup>
Total	746	34	583	27	669	33	730	8	700	8
Intervalle de confiance	± 3,4		± 3,6		± 3,6		± 2,0		± 2,0	

Vu le faible nombre d'échantillons par région et la nature des tests réalisés (micro- ou macrométhode, impossibilité d'analyser tous les sérums simultanément), les résultats de l'analyse statistique des différences entre régions ne sont donnés qu'à titre indicatif dans le tableau I.

## DISCUSSION

L'infection par le virus IBR-IPV est répandue dans les régions considérées. Au plan clinique, la forme respiratoire n'a, apparemment, jamais été rencontrée. En revanche, on observe parfois en ranching des vaginites d'étiologie inconnue (Dr VERGHEENST, communication personnelle). Bien que de nombreux sérums contiennent des anticorps contre les virus RSB et PI3, aucune pathologie associée à ces agents n'a jusqu'ici été décrite au Zaïre.

En ce qui concerne le BVD-MD, les sérums positifs proviennent pour quelques-uns du Shaba mais pour la majorité de deux sites différents en Équateur. Il s'agit d'animaux provenant d'une part d'un ranch où sévit depuis longtemps la maladie clinique (Dr RUZIGANA, communication personnelle) et d'autre part d'animaux abattus à Kinshasa et déclarés comme originaires de la ville de Libenge située à la frontière de la République Centrafricaine. Dans ce cas, il s'agit probablement d'animaux importés car une forte proportion des sérums contient des anticorps contre la peste bovine alors que cette maladie est inconnue dans la région de l'Équateur et que la vaccination n'y est pas pratiquée. Excepté l'Équateur, une grande partie des régions considérées semble donc indemne de l'infection par le virus BVD-MD. Cependant, une partie des sérums a été examinée par deux autres techniques. Pour l'une d'elles, l'immunodiffusion en gélose, les résultats concordent parfaitement avec ceux de la séroneutralisation (97 p. 100 de résultats identiques) mais pour l'autre, l'immunofluorescence indirecte, il n'en est pas de même (EYANGA, WELLEMANS et JETTEUR, résultats non publiés), aussi la situation épidémiologique est-elle peut-être plus complexe comme cela a d'ailleurs déjà été décrit en Afrique centrale (7).

Pour la peste bovine, le test de neutralisation en microplaque est aisé à réaliser mais 5 p. 100 des sérums sont négatifs lors d'un test en tube (résultats non exposés) bien que les sérums aient été dilués cinq fois avant ajout de la suspension virale (13). Outre la

ville de Libenge, le seul autre endroit où se rencontrent en nombre important des sérums positifs pour la peste bovine est un ranch de l'Équateur. Les sujets positifs sont de vieux animaux peut-être incorporés à l'élevage à la suite de la migration originaire de la République Centrafricaine survenue lors de la sécheresse du début des années 1980.

## CONCLUSION

Les virus IBR-IPV, RSB et PI3 circulent dans les quatre régions étudiées sans que jusqu'ici une atteinte clinique ait été rapportée, celle-ci pourrait néanmoins se manifester lors d'embouche ou de mise en stabulation des animaux.

D'après les tests de neutralisation réalisés, l'infection par le virus BVD-MD semble localisée à quelques élevages (bien que la situation puisse en fait être plus complexe). Il s'agit là d'une situation épidémiologique favorable mais précaire, l'arrivée d'un animal virémique pouvant introduire le virus dans un effectif totalement réceptif.

Des animaux dont l'origine est imprécise et simultanément séropositifs pour la peste bovine et le BVD-MD sont abattus à Kinshasa, au milieu d'une région où la quasi-totalité du bétail est séronégative pour ces deux virus. Il y a là un risque réel de disséminer ces agents parmi une population bovine pleinement réceptive.

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Dr LEFEVRE de l'IEMVT de Maisons-Alfort pour la souche RPOK et le sérum de référence, le Dr WELLEMANS de l'INRV de Bruxelles pour les souches de virus IBR-IPV, PI3 et BVD-MD et les sérums conjugués à la fluorescéine contre ces virus et le virus RSB, le Dr GOUSSARD de l'INRV de Kinshasa pour son aide lors des cultures cellulaires en microplaque, le Dr MICHAUX de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Cureghem de Bruxelles pour l'analyse statistique et tous les collègues et confrères du Laboratoire Vétérinaire de Kinshasa ainsi que le Dr BULA du Laboratoire Vétérinaire de Lubumbashi pour la récolte des sérums étudiés.

P. Jetteur, E. Eyanga, S. Makumbu

Bovine sera from four administrative regions of Zaire (Bandundu, Equateur, Bas-Zaire and Shaba) were screened for antibodies to IBR-IPV, RSB, PI3, BVD-MD and rinderpest virus. Seroneutralization was used for all viruses but one, PI3 virus for which an haemagglutination-inhibition test was chosen. Sera with antibodies to IBR-IPV, RSB and PI3 virus were found in all the regions investigated. For BVD-MD virus, positive sera were found in significant number in Equateur and Shaba only and for rinderpest virus in Equateur only. *Key words* : Cattle - Infectious bovine rhinotracheitis IBR-IPV - Respiratory syncytial bovine virus - Bovine virus diarrhoea - Parainfluenza 3 virus - Rinderpest - Serology - Zaire.

Se buscó en los sueros de bovinos de 4 regiones administrativas del Zaire (Bandundu, Ecuador, Bas-Zaire y Shaba) la presencia de anticuerpos contra el virus de la peste bovina y los virus IBR-IPV, RSB, PI3 y BVD-MD. Se utilizó la seroneutralización para todos los virus salvo para el virus PI3 para el cual se ha utilizado una técnica de inhibición de la hemaglutinación. Sueros con anticuerpos contra los virus IBR-IPV, RSB y PI3 se encontraron en cualquier parte donde se buscaron. Para el virus BVD-MD, sueros positivos se encontraron en número significativo solamente en el Ecuador y en el Shaba y para el virus de la peste bovina solamente en el Ecuador. *Palabras claves* : Bovino - Rinotraqueitis infecciosa bovina IBR-IPV - Virus respiratorio sincitial bovino - Diarrea viral bovina - Virus Parainfluenza 3 - Pesta bovina - Serología - Zaire.

## BIBLIOGRAPHIE

1. CHANTAL (J.), GILBERT (Y.). Grippe bovine à Parainfluenza type 3. In : Diagnostic séro-immunologique des viroses humaines et animales. Paris, Maloine S.A. Éditeur, 1974.
2. CHARLIER (G.), STROBBE (R.), VAN AERT (A.), LEUNEN (J.). Procedure for P.E.G. treatment of bovine sera used for cell culture in virus diagnosis. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 1981, 4 (3/4) : 279-283.
3. EISA (M.), KARRAR (A. E.), ABDEL RAHIM (A. H.). The occurrence of antibodies to parainfluenza 3 virus in sera of some domestic animals of the Sudan. *Br. vet. J.*, 1979, 135 (2) : 192-197.
4. HASSAN (A. K. M.), KHALDA EL TOM. Combined natural infection with infectious bovine rhinotracheitis and rinderpest viruses. *Trop. anim. Hlth Prod.*, 1985, 17 (1) : 52.
5. PLOWRIGHT (W.). The application of monolayer tissue culture techniques in rinderpest research. Introduction. Use in serological investigations and diagnosis. *Bull. Off. int. Epizoot.*, 1962, 57 (1-2) : 1-23.
6. PLOWRIGHT (W.). La peste bovine aujourd'hui dans le monde. Contrôle et possibilité d'éradication par la vaccination. *Annls Méd. vét.*, 1985, 129 (1) : 9-32.
7. PROVOST (A.). Observations sur l'immunité dans la maladie des muqueuses en Afrique centrale. *Bull. mens. Soc. vét. prat. Fr.*, 1977, 61 (8) : 479-489.
8. PROVOST (A.), BOGEL (K.), BORREDON (C.), MAURICE (Y.). La maladie des muqueuses en Afrique centrale. Observations cliniques et épizootiologiques. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1967, 20 (1) : 27-49.
9. PROVOST (A.), BORREDON (C.), FERREOL (C.). Note sur la rhinotrachéite infectieuse bovine en Afrique centrale. Isolement du virus, enquête sérologique. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1964, 17 (2) : 187-196.
10. PROVOST (A.), BORREDON (C.), QUEVAL (R.), MAURICE (Y.). Enquête sur l'infection des bovidés par le virus parainfluenza 3 en Afrique centrale. Application au contrôle de la sérologie de la péripneumonie. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1967, 20 (1) : 51-59.
11. RWEYEMAMU (M. M.). The incidence of infectious bovine rhinotracheitis antibody in Tanzanian game animals and cattle. *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1974, 22 (1) : 19-22.
12. TAYLOR (W. P.), RAMPTON (C. S.). A survey of cattle sera from Kenya and Uganda for antibodies to bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.*, 1968, 83 (5) : 121-124.
13. TAYLOR (W. P.), ROWE (L. W.). A microneutralisation test for the detection of rinderpest virus antibodies. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1984, 37 (2) : 155-159.