

INFECTION EXPÉRIMENTALE DE LA CHÈVRE PAR LE VIRUS DE LA RHINOTRACHÉITE INFECTIEUSE BOVINE (BOVINE HERPES VIRUS 1) ET TENTATIVE DE RÉACTIVATION VIRALE

par M. PIRAK*, E. THIRY*, B. BROCHIER* et P.-P. PASTORET*

Rec.
Méd. Vét.

1983
159 (12)
1103-1106

RÉSUMÉ — *Sept chèvres dépourvues d'anticorps neutralisant le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovine herpesvirus 1, BHV 1) ont été inoculées par voie intranasale à l'aide d'une souche belge de BHV 1. Les 7 animaux ont présenté une excrétion nasale de BHV 1 qui a duré de 5 à 13 jours. Une séroconversion évidente a été décelée par séroneutralisation chez toutes les chèvres. Aucune n'a présenté de signes cliniques.*

Aucune excrétion virale et aucune augmentation significative du taux d'anticorps neutralisant le BHV 1 n'ont été mises en évidence chez les animaux soumis à deux reprises à un traitement au phosphate de dexaméthasone (0,1 mg/kg et 0,2 mg/kg par jour durant 5 jours).

La chèvre est donc peu réceptive à la souche de BHV 1 utilisée. Bien que le virus s'y multiplie activement, il ne semble pas persister à l'état latent dans cette espèce.

INTRODUCTION

L'espèce bovine paye le plus lourd tribut à la rhinotrachéite infectieuse bovine, mais d'autres espèces sont également sensibles au virus causal, le *Bovine herpesvirus 1* (BHV 1) (10).

La réceptivité de la chèvre au BHV 1 a déjà été rapportée par différents auteurs, mais l'action pathogène du virus reste discutée dans cette espèce : hyperthermie et maladie très modérée (7), affection respiratoire grave, kératite (9) ; Van Houweling (16), par contre, n'est pas parvenu à reproduire de symptôme après infection expérimentale de la chèvre par le BHV 1.

Le BHV 1 présente une corrélation antigénique avec l'herpèsvirus caprin (*Bovine herpesvirus 6*, BHV 6), (5), mais s'en distingue par de nombreuses

caractéristiques biochimiques, et notamment par le profil électrophorétique du DNA viral clivé par les endonucléases de restriction (2). Le BHV 6 a été isolé de chevreux atteints d'entérite (13), (1), (8), (17). Il provoque aussi de l'avortement (17) et de la vulvovaginite (3).

Cet article relate l'infection de chèvres par une souche belge de BHV 1, isolée de cas respiratoires et capable de reproduire expérimentalement la maladie chez le bovin (11). Comme la latence du BHV 1 n'a jamais été étudiée dans cette espèce, deux essais de réactivation virale ont été pratiqués chez les chèvres, en suivant le même protocole que celui appliqué aux bovins pour produire la réactivation du BHV 1.

*Chaire de Virologie, Immunologie et Pathologie des maladies virales, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, rue des Vétérinaires, 45, B-1070 Bruxelles, Belgique.

M. Pirak est boursier du Commissariat Général aux Relations Internationales de la Communauté française de Belgique.

Le travail est partiellement subsidié par l'Institut pour l'encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSIA).

(1) Manuscrit reçu le 11 octobre 1983.

Culture de cellules, virus et séroneutralisation

Les cellules utilisées sont des cellules GBK (Georgia Bovine Kidney). Elles sont placées en microplaques de 96 puits et sont entretenues comme décrit précédemment (14).

La souche virale de BHV 1 choisie est la souche Cu5, isolée en 1976 en Belgique, d'un cas respiratoire typique (12); cette souche est pleinement virulente pour le bovin et s'y installe à l'état latent (11).

Le titrage des particules virales infectieuses est réalisé en microplaques de cellules GBK, sous milieu MEM (Minimum Essential Medium) contenant 5 p. cent d'un antisérum anti-BHV 1 bovin (15).

Les séroneutralisations sont réalisées par micro-méthode en cellules GBK, en adaptant la technique décrite par Jenny et Wessman (1973 (4)) (15).

Animaux et protocole d'expérience

Sept chèvres adultes, dépourvues d'anticorps neutralisant le BHV 1, ont été inoculées par voie intranasale à l'aide de 5×10^7 ufp (unités formant

plages) de la souche Cu5 de BHV 1 (jour 0). Les animaux ont subi des écouvillonnages nasaux quotidiens durant 15 jours.

Les écouvillons placés dans 2 ml de MEM ont été titrés par la méthode d'obtention de plages sous antisérum. La chèvre 5 est morte en cours d'expérience (jour 25) d'une entérite dont l'étiologie n'a pas pu être précisée. Le BHV 1 n'a été isolé ni du cerveau, ni du larynx, ni du pharynx, ni de la trachée de l'animal.

Trois des 6 chèvres (n° 3, 4 et 7) ont été soumises à partir du jour 21 pendant 5 jours consécutifs à des injections intraveineuses quotidiennes de phosphate de dexaméthasone (Fortecortine, Bayer) (0,1 mg/kg). Des écouvillons nasaux ont été prélevés pendant 10 jours à toutes les chèvres (n° 1, 2, 3, 4, 6 et 7) dès le début du traitement à la dexaméthasone.

Toutes les chèvres (n° 1, 2, 3, 4, 6 et 7) ont reçu le même traitement à partir du jour 83, avec une dose double de dexaméthasone (0,2 mg/kg). A cette occasion, le même protocole a été suivi.

Du sérum a été prélevé régulièrement chez les chèvres à partir du jour de l'infection (jours 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 83, 91 et 97), pour réaliser le test de séroneutralisation.

RÉSULTATS

Excrétion virale après primoinfection

Chez les chèvres 2 à 7, des particules infectieuses de BHV 1 ont été détectées dans le mucus nasal dès le lendemain de l'infection (jour 1). La chèvre n° 1 a présenté une excrétion virale à partir du jour 2. L'excrétion virale a duré de 5 à 13 jours (tableau 1).

Essai de réactivation virale

Aucune particule infectieuse de BHV 1 n'a pu être mise en évidence dans les écouvillons prélevés

lors du premier et du second traitement à la dexaméthasone.

Évolution du taux d'anticorps neutralisants

Le tableau 2 donne l'évolution du taux d'anticorps neutralisant le BHV 1 lors de la primoinfection et lors des deux tentatives de réactivation virale.

Le taux d'anticorps neutralisants est resté faible. Le taux maximum a été atteint environ 21 jours

TABLEAU 1. — Cinétique d'excrétion virale après inoculation intranasale de chèvres à l'aide de 5×10^7 ufp de la souche Cu5 de BHV 1. Les résultats sont exprimés en log ufp/ml.

JOURS:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	12	13
CHEVRES:	1	-	5,96	4,84	2,78	3,07	2,77	-	-	-	-
	2	1,3	2,3	5,05	3,2	3,8	4	-	-	-	-
	3	1,9	3,2	3,3	3,66	3,9	4,3	-	-	-	-
	4	2,92	4,63	5,5	4,46	4,2	3,43	2,3	3,3	2,77	-
	5	1,69	-	5,73	4,14	4,69	5,9	5,38	4,55	4,45	1,65
	6	2	4,64	4,36	4,51	1,3	1,3	-	1,6	-	-
	7	2	3,14	3,93	3,97	3,73	3,87	2,34	3,11	4,64	1,39

TABLEAU II. — Evolution du taux d'anticorps neutralisants chez les chèvres infectées par le BHV 1.
a : Primoinfection ; b : premier traitement à la dexaméthasone (chèvres n°s 1, 2, 3, 4, 6 et 7).
Les résultats sont exprimés en inverse de la dilution de sérum inhibant 50% de l'effet cytopathogène induit par 20 ufp de BHV 1.

	JOURS:	0a	7	14	21b	28	35	42	83c	91	97
CHEVRES:	1	0	0	4	4	4	4	8	8	4	32
	2	0	0	4	8	8	4	8	8	2	4
	3	0	0	8	16	16	16	16	16	8	64
	4	0	0	4	4	2	2	4	4	4	4
	5	0	0	8	mort le jour 25						
	6	0	0	8	8	8	8	4	16	16	8
	7	0	0	4	8	8	16	8	32	16	8

après la primoinfection. Aucune réponse anamnétique, décelée par une hausse sensible du taux d'an-

ticorps neutralisants, n'a été constatée lors des deux traitements à la dexaméthasone.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La souche de BHV 1 utilisée est capable de se multiplier au niveau de la muqueuse respiratoire antérieure de la chèvre, mais sans provoquer de signes cliniques. Le taux et la durée de l'excrétion virale sont une première preuve de la multiplication virale ; en effet, les particules virales infectieuses résiduelles de l'inoculum s'éliminent rapidement de la muqueuse nasale (9 à 14 heures) après infection expérimentale de bovins par le BHV 1 (6).

Le fait que les 7 animaux ont présenté une séroconversion évidente indique qu'il y a eu une multiplication virale avec production d'une masse antigénique suffisante. La présence d'anticorps anti-BHV 1 chez la chèvre n'est pas spécifique de l'infection par le BHV 1, puisqu'il y a corrélation antigénique entre ce virus et le BHV 6 (5). Comme les chèvres ne possédaient pas d'anticorps neutralisant le BHV 1 avant l'inoculation, la séroconversion observée est bien consécutive à l'infection expérimentale et résulte de la multiplication du BHV 1 chez les chèvres (tableau 2).

Le taux maximum d'excrétion des particules infectieuses est sensiblement égal à celui observé chez les bovins inoculés avec la même souche virale, au

même titre (Thiry et coll., données non publiées). Toutefois, l'allure de l'excrétion virale est irrégulière chez la chèvre ; chez certaines, le pic d'excrétion se maintient plus longtemps (5 à 6 jours) que chez les bovins (3 jours) (tableau 1).

Le résultat obtenu après les deux tentatives de réactivation semble indiquer que le virus ne s'installe pas à l'état latent chez la chèvre. Néanmoins, la dexaméthasone ne produit peut-être pas le même effet chez la chèvre et chez la bête bovine.

Ce fait est malheureusement peu documenté dans la littérature. La faible réceptivité observée pourrait être due au fait que le virus utilisé a subi plusieurs passages en cellules bovines (GBK) avant l'inoculation.

L'expérience nous conduit à la conclusion que la chèvre est faiblement réceptive au BHV 1 et ne convient pas comme modèle expérimental pour l'étude de la pathogénie et de la latence du virus. C'est le cas du moins avec la souche virale et les chèvres utilisées dans notre expérience. Les cas non ambigus décrits dans la littérature (7), (9) relèvent peut-être d'un effet de souche virale et/ou d'un effet de race.

- (1) BERRIOS (P.E.), Mc KERCKER (D.G.) - Characterization of a caprine herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.*, 1975, **36**, 1755-1762.
- (2) ENGELS (M.), DARAI (G.), GELDERBLOM (H.), LUDWIG (H.) - Properties of the goat herpesvirus. Résumé. International Workshop on herpesviruses, Bologna, Italy, 27-31 juillet 1981.
- (3) HORNER (G.W.), HUNTER (R.), DAY (A.M.) - An outbreak of vulvovaginitis in goats caused by a caprine herpesvirus. *N.Z. Vet. J.*, 1982, **30**, 150-152.
- (4) JENNY (E.W.), WESSMAN (S.J.) - Microtiter serology methods for bovine virology: IBR-NT (microtiter). In: *Serologic Microtiter Techniques for Diagnostic Virology. Diagnostic Virology Section, Veterinary Services Laboratory. Animal, Plant and Health Inspection Service, Ames. Iowa*, 12 février 1973, p. 6.
- (5) LUDWIG (H.) - Bovine herpesviruses. In: *the Herpesviruses tome 2*, (B. Roizman éditeur), Plenum Press, New York, 1983, p. 164.
- (6) LUPTON (H.W.), REED (D.E.) - Clearance and shedding of infectious bovine rhinotracheitis virus from the nasal mucosa of immune and non-immune calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1980, **11**, 117-119.
- (7) Mc KERCKER (D.G.), SAITO (J.K.), WADA (E.M.), STRAUB (O.) - Current status of the newer virus diseases of cattle. *Proc. U.S. Livestock Sanit. Assoc.*, 1958, **62**, 136-156.
- (8) METTLER (F.), ENGELS (M.), WILD (P.), BIVETTI (A.) - Herpesvirus-infektion bei Zicklein in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, 1979, **121**, 655-662.
- (9) MOHANTY (S.B.), LILLIE (M.G.), CORSELIUS (N.P.), BECK (J.D.) - Natural infection with infectious bovine rhinotracheitis virus in goats. *J. am. Vet. Med. Ass.*, 1972, **160**, 879-880.
- (10) PASTORET (P.-P.) - Le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (*Bovine herpesvirus 1*). Aspects biologiques et moléculaires. Thèse, 1979, Université de Liège.
- (11) PASTORET (P.-P.), AGUILAR-SETIEN (A.), BURTONBOY (G.), MAGER (J.), JETTEUR (P.), SCHOENAERS (F.) - Effect of repeated treatment with dexamethasone on the reexcretion pattern of infectious bovine rhinotracheitis virus and humoral immune response. *Vet. Microbiol.*, 1979, **4**, 149-155.
- (12) PASTORET (P.-P.), BURTONBOY (G.), AGUILAR-SETIEN (A.), GODART (M.), LAMY (M.E.), SCHOENAERS (F.) - Comparison between strains of infectious bovine rhinotracheitis virus (Bovine herpesvirus 1) from respiratory and genital origins, using polyacrylamid gel electrophoresis of structural proteins. *Vet. Microbiol.*, 1980, **5**, 187-194.
- (13) SAITO (J.K.), GRIBBLE (D.H.), BERRIOS (P.E.), KNIGHT (H.D.), Mc KERCKER (D.G.) - A new herpesvirus isolated from goats: preliminary report. *Am. J. Vet. Res.*, 1974, **35**, 847-848.
- (14) THIRY (E.), PASTORET (P.-P.), DESSY-DOIZE (C.), HANZEN (C.), CALBERG-BACQ (C.M.), DAGENAIS (L.), VINDEVOGEL (H.), ECTORS (F.) - Réactivation d'un herpesvirus en culture de cellules testiculaires prélevées chez un taureau atteint d'orchite et d'azoospermis. *Ann. Méd. Vét.*, 1981, **125**, 207-214.
- (15) THIRY (E.), BROCHIER (B.), LANSIVAL (B.), HANTON (G.), DERBOVEN (G.), PASTORET (P.-P.), ANTOINE (H.) - Étude sur l'excrétion et la réexcrétion spontanée de deux souches vaccinales du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (*Bovine herpesvirus 1*) par des veaux sains maintenus en station de sélection. *Ann. Méd. Vét.*, 1983, **127**, sous presse.
- (16) VAN HOUWELING (C.D.) - Susceptibility of goats to infectious bovine rhinotracheitis. *Cornell Vet.*, 1966, **56**, 38-41.
- (17) WALDVOGEL (A.), ENGELS (M.), WILD (P.), STUNZI (H.), WYLER (R.) - Caprine herpesvirus infection in Switzerland: some aspects of its pathogenicity. *Zbl. Vet. Med. B*, 1981, **28**, 612-623.

Experimental infection of goats with infectious bovine rhinotracheitis virus (*bovine herpesvirus 1*) and attempt at virus reactivation

by M. PIRAK, E. THIRY, B. BROCHIER and P.-P. PASTORET

SUMMARY

Seven goats, free of antibody to infectious bovine rhinotracheitis virus (*Bovine herpesvirus 1*; BHV 1), were intranasally infected with a Belgian BHV 1 strain. Nasal virus excretion occurred in each animal during five to thirteen days. A rise in neutralizing antibodies was observed in each goat but no clinical sign was recorded.

No viral excretion and no significant rise in neutralizing antibodies were observed after two dexamethasone treatments (0,1 mg/kg and 0,2 mg/kg per day during five days) applied one month and three months after primoinfection.

The goat is then poorly sensitive to this Belgian BHV 1 strain. In spite of a clear virus multiplication, BHV 1 does not seem to remain latent in this species.

Infeccion experimental de la cabra por el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (*Herpes virus bovino 1*) y tentativa de reactivación viral

Por M. PIRAK, E. THIRY, B. BROCHIER y P.-P. PASTORET

RESUMEN

Siete cabras desprovistas de anticuerpos neutralizantes del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (*Herpes virus bovino 1*, BHV1) han sido inoculadas por vía intra nasal con una sepa Belga de BHV1. Los 7 animales han presentado una excreción nasal de BHV1 durante 5 a 13 días. Una seroconversión evidente ha sido descubierta por sero-neutralización en todas las cabras. Ninguna presentó signos clínicos.

Ninguna excreción viral, ni aumento significativo de la tasa de anticuerpos contra el BHV1 han sido puestas en evidencia en los animales sometidos a dos tratamientos con fosfato de dexametasona (0,1 mg/kg y 0,2 mg/kg por día, durante 5 días). La cabra es entonces, poco receptiva a la sepa de BHV1 utilizada. El virus se multiplica activamente, pero no parece persistir en estado latente en esta especie.