

# Enquête sérologique sur la stomatite papuleuse bovine

AGUILAR-SETIÉN A.\*, PASTORET P.-P. \*, THIRY E. \*, PIVONT P. \*\*,  
GREGOIRE R. \*\*, ANTOINE H. \*\*, MICHAUX C. \*, LEKEUX P. \*

\* *Services de Virologie, de Génétique et Clinique médicale des grands animaux  
Faculté de Médecine Vétérinaire, U.Lg.  
Rue des Vétérinaires 45, 1070 Bruxelles (Belgique)*

\*\* *Laboratoire de Virologie  
Rue du Carmel 1, 5406 Marloie (Belgique)*

## RESUME

Une enquête sérologique a été effectuée pour déterminer la fréquence de la stomatite papuleuse bovine (S.P.B.) en Belgique. Des sérums de veau, d'animaux adultes ou extraits de colostrum ont été analysés à l'aide d'une technique d'immunodiffusion double en gélose.

Une forte proportion (52,7 %) des bovins adultes (1 an et plus) de provenances diverses possède des anticorps précipitant l'antigène du virus S.P.B. utilisé; dans les sérums extraits de colostrum, la présence d'anticorps est encore beaucoup plus fréquente (87,3 %). Chez les veaux séjournant au centre de sélection bovine de Ciney, la fréquence, nulle à 2-3 mois, atteint 42 % à 9-10 mois.

## INTRODUCTION

La stomatite papuleuse bovine (S.P.B.) est connue de longue date en Belgique, puisqu'elle y a été décrite pour la pre-

mière fois en 1884, par le Professeur Degive. Cette maladie est régulièrement diagnostiquée parmi les bovins présentés à la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège, et lors des examens

---

Recherches subventionnées par l'Institut pour l'encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A.).

Manuscrit déposé le 18-9-1980.

nécropsiques pratiqués au laboratoire de Marloie : elle semble donc particulièrement fréquente dans notre pays.

Bien que la stomatite papuleuse ait généralement peu d'importance économique, son agent étiologique, un virus du groupe *Parapox*, a souvent été associé chez le veau à des troubles notamment digestifs, dont les répercussions peuvent être marquantes (Crandell, 1978 ; Brown et al., 1974 ; Pallaske, 1955 ; Jolly et Daniel, 1966 ; Gibbons, 1963).

Une enquête sérologique a dès lors été entreprise en région wallonne, afin de rechercher les anticorps dirigés contre le virus S.P.B. dans des sérums de veau et d'animaux adultes ou extraits du colostrum.

Ce travail a été réalisé en employant une technique d'immunodiffusion double (Papadopoulos et al., 1968) ; en effet, il est difficile de procéder à des réactions de neutralisation avec le virus S.P.B. ou d'autres du même groupe (Jansen et Kunst, 1959 ; Plowright et Ferris, 1959 ; Pournaki et al., 1964 ; Castrucci et al., 1970 ; Rossi et al., 1977 ; Rondhuis et Straver, 1974 ; Crandell, 1978).

## MATERIEL ET METHODES

### a. Antigènes

L'antigène S.P.B., utilisé pour l'immunodiffusion double en gélose, a été préparé en adaptant la technique décrite par Hopkinson et al. (1979).

Voici brièvement la description de la technique : le virus S.P.B., souche Cu 1 (Aguilar-Setién et al., 1979), est cultivé en bouteilles de Roux d'une surface de 200 cm<sup>2</sup>, sur cellules testiculaires primaires de veau (Aguilar-Setién et al., 1978).

Après 10 à 12 jours d'incubation à 37° jusqu'à l'obtention d'un effet cytopathogène

presque complet (90 %), le surnageant est récolté et soumis à une centrifugation de 700 g pendant 10 minutes ; les cellules ainsi récoltées sont ajoutées à celles toujours présentes dans les bouteilles de Roux. Le tout est additionné de 3 ml d'eau distillée pour être soumis à une sonication de 200 W (sonicateur MSE) pendant 2 minutes dans un bac de glace. Après ce traitement, la suspension est centrifugée pendant 20 minutes à 9 000 g ; le surnageant est récolté et sa valeur antigénique estimée en immunodiffusion double, à l'aide des sérums de référence.

Des cellules testiculaires de veau, non infectées et traitées de la même façon, constituent l'antigène témoin négatif.

### b. Sérums de référence

Deux sérums de référence ont été choisis :

- Un sérum sélectionné parmi plusieurs prélevés chez un veau soumis à une infection expérimentale par le virus S.P.B., souche Cu 1 (figure 1).
- Un sérum de mouton immunisé avec le virus de l'ecthyma contagieux, gracieusement offert par le D<sup>r</sup> C. Le Jan, de la station de recherches de virologie et d'immunologie, I.N.R.A., Thiverval - Grignon, France.

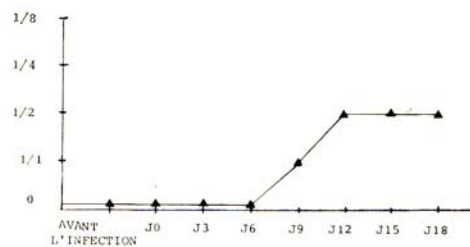


Fig. 1. — Evolution des anticorps précipitant les antigènes du virus S.P.B. après infection expérimentale d'un veau avec le même virus. Abscisse : nombre de jours.

Ordonnée : Dilution log<sub>2</sub> des antigènes du virus S.P.B.

Jour 0 : correspond au jour de l'infection.

Sérum utilisé comme référence.



### c. Technique d'immunodiffusion double en gélose

Une technique voisine de celle décrite par Hopkinson et al. (1979) pour le virus de la maladie des muqueuses (B.V.D.) a été utilisée.

Une plaque de verre (65 mm × 65 mm) est recouverte de 8 ml d'une solution, préalablement portée à 90 °C, de tampon TNE contenant 1 % d'agarose. Le tampon TNE est composé de : 0,1 M NaCl ; 0,001 M du sel disodique de l'acide éthylènedinitri-lotétraacétique (EDTA) dihydraté ; 0,01 M hydroxyméthylaminométhane (Tris) ; pH 7,4.

Après solidification du gel, on y découpe un puits central de 6 mm de diamètre, entouré de 6 autres de même grandeur, distants bord à bord de 3 mm du puits central (figure 2).

On verse ensuite 0,05 ml de l'antigène S.P.B. ou de l'antigène cellulaire témoin dans le puits central et le même volume de sérum dans chacun des puits périphériques.

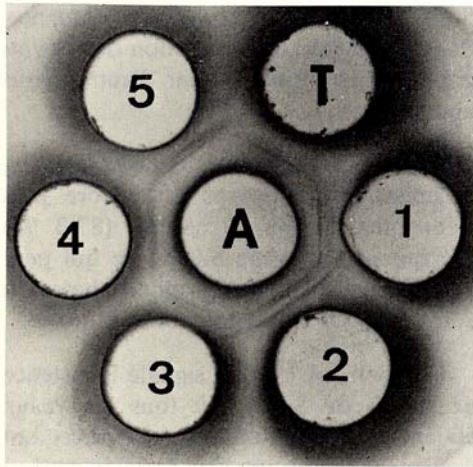


Fig. 2. — Réaction d'immunodiffusion double en gélose entre l'antigène du virus S.P.B. et divers sérums extraits de colostrum.

A : Antigène de référence.

T : Sérum bovin de référence.

1, 2, 3, 4, 5 : Sérums extraits de colostrum. Les sérums 3 et 5 ont produit respectivement 2 et 3 bandes de précipité.

Dans une même réaction, on utilise simultanément le sérum bovin de référence et 5 autres sérums choisis parmi ceux destinés à l'enquête.

Les lectures sont faites après 48 heures d'incubation dans une chambre humide, à température ambiante.

### d. Sérums utilisés pour l'enquête

Les 72 sérums bovins examinés se répartissent comme suit :

- 18 sérums récoltés sur autant de veaux âgés de 2 à 3 mois séjournant au centre de sélection bovine de Ciney ; ces veaux sont arrivés à la station âgés d'environ 1 mois, en provenance de diverses exploitations ;
- 18 sérums récoltés chez les mêmes animaux à l'âge de 9 à 10 mois ;
- 36 sérums prélevés chez autant de bovins adultes (1 à 10 ans), appartenant à des privés.

Tous ces sérums ont été inactivés par chauffage à 56 °C pendant 30 minutes, puis conservés à - 20 °C jusqu'au moment de leur utilisation.

### e. Sérums extraits de colostrum

Du sérum a été extrait de 47 échantillons de colostrum de vaches appartenant à plusieurs exploitations situées dans la province de Luxembourg.

Les sérums de colostrum ont été obtenus selon une technique courante : après centrifugation et réfrigération (4 °C, 30 minutes), la graisse surnageante est enlevée ; ensuite, les colostrums sont soumis à l'action de la rennine (10 mg pour 30 ml de colostrum pendant 24 heures à 37 °C), centrifugés (3 500 rpm durant 15 minutes) et le surnageant est recueilli.

## RESULTATS

### a. Antigènes et sérums de référence

L'antigène S.P.B. produit des lignes de précipité avec les sérums du veau infecté

expérimentalement par le virus S.P.B., souche Cu 1, dès le 9<sup>e</sup> jour après l'inoculation (figure 1) ; le sérum du 15<sup>e</sup> jour a été choisi comme sérum de référence. A aucun moment, le sérum de cet animal n'a précipité l'antigène cellulaire utilisé comme témoin.

Le sérum de mouton immunisé contre le virus de l'ecthyma contagieux produit des lignes de précipité en présence d'une dilution 1 : 2 de l'antigène S.P.B. Cette réaction démontre la présence d'antigènes de virus du groupe des *Parapox* dans notre préparation (Papadopoulos et al., 1968).

#### b. Enquête sérologique

Aucun des 18 sérums prélevés chez les veaux de 2 à 3 mois séjournant au centre de sélection ne produit de lignes de précipité en présence de l'antigène S.P.B.

Par contre, 8 des 18 sérums (42 %) prélevés chez les mêmes animaux à l'âge de 9 à 10 mois en produisent.

Parmi les 36 sérums provenant des bovins adultes, 19 (52,7 %) possèdent des anticorps précipitant l'antigène S.P.B. Deux d'entre-eux produisent 2 lignes de précipité en présence de l'antigène.

Quarante et un des 47 sérums (87,3%) de colostrum bovin précipitent l'antigène S.P.B. Parmi les 41 échantillons positifs, 7 ont produit 2 lignes de précipité et 2 en ont produits 3 (figure 2).

### DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les techniques d'immunoprécipitation en gélose réclament un antigène concentré, en quantité suffisante, pour faire apparaître un précipité. La méthode d'Hopkinson et al. (1979), adaptée au cas par-

ticulier du virus S.P.B., permet d'obtenir une préparation antigénique autorisant la recherche des anticorps précipitants spécifiques chez les bovins.

L'immunodiffusion double en gélose est particulièrement intéressante pour la recherche des anticorps spécifiques du virus S.P.B. chez les bovins, car la neutralisation est difficile à réaliser avec ce genre de virus (Plowright et Ferris, 1959 ; Crandell, 1978).

L'enquête menée à l'aide de cette technique a permis de faire diverses constatations. Les veaux séjournant à la station expérimentale ne possèdent pas d'anticorps sériques précipitant le virus S.P.B. à des taux décelables, lorsqu'ils sont âgés de 2 à 3 mois, alors que 42 % des mêmes animaux en possèdent à l'âge de 9 à 10 mois. D'autre part, une forte proportion (52,7 %) des bovins adultes (1 an et plus), de provenances diverses, ont des anticorps précipitant l'antigène du virus S.P.B. Elle montre la grande fréquence, dans notre pays, de l'infection des bovins par le virus S.P.B. (ou par d'autres virus apparentés).

Dans les sérums extraits de colostrum, la présence d'anticorps est encore plus fréquente : 41 des 47 sérums (87,3 %) précipitent l'antigène S.P.B., ce qui peut s'expliquer par la plus grande richesse du colostrum en immunoglobulines.

Crandell, en 1978, a signalé l'existence de foyers de S.P.B. où tous les veaux étaient infectés ; Rondhuis et Straver ont également décrit une très forte fréquence en Hollande (1974). L'ensemble des résultats de notre enquête plaide aussi en faveur d'une morbidité élevée.

Comme le virus de la stomatite papuleuse bovine est très répandu et peut, dans certains cas, exercer une profonde



influence sur l'état de santé des animaux (Brown et al., 1974 ; Irwin et al., 1976), il faut en tenir compte dans les exploitations bovines.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions le Directeur Ir. A. Stasse, du centre de sélection bovine de

Ciney, et le Professeur R. Hanset, de la chaire de génétique de la Faculté, de nous avoir fourni les sérums nécessaires à cette enquête. Nous remercions également le Docteur C. Le Jan, de la station de recherches de virologie et d'immunologie, I.N.R.A., Thiverval-Grignon, France, de nous avoir offert l'antisérum de référence, et L. Dagenais pour la révision du manuscrit.

#### BIBLIOGRAPHIE

- AGUILAR-SETIÉN A., PASTORET P.-P., BURTONBOY G., JETTEUR P., KAEC-KENBEECK A., SCHOENAERS F. Sensibilité de plusieurs lignées cellulaires à l'effet cytopathogène provoqué par une souche du virus de la stomatite papuleuse bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1979, **123**, 333.
- AGUILAR-SETIÉN A., PASTORET P.-P., BURTONBOY G., SCHOENAERS F. Diagnostic de la stomatite papuleuse bovine (SPB), par examen direct de la salive au microscope électronique. *Ann. Méd. Vét.*, 1978, **122**, 55.
- BROWN L.N., IRWIN M.R., BECERRA V.M. « Rat tail syndrome » of feedlot cattle and Bovine Papular Stomatitis infection. Reprint from 17th Annual Proceedings American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, 1974, 405.
- CASTRUCCI G., Mc KERCHER D.G., CILLI V., ARANCIA G., NAZIONALI C., Characteristics of a Paravaccinia virus from cattle. *Archiv für die Gesamte Virusforschung*, 1970, **29**, 315.
- CRANDELL R.A. Bovine Papular Stomatitis : its occurrence in beef cattle. *Illinois Research*, 1978, **20**, 14.
- DE GIVE A. Une affection-type ou maladie inédite — la stomatite papillaire ou papulomateuse — observée sur quatre génisses. *Ann. Méd. Vét.*, 1884, **33**, 369.
- GIBBONS W.J. Bovine papular stomatitis. *Med. Vet. Pract.*, 1963, **44**, 37.
- HOPKINSON M.F., HART L.T., SEGER C.L., LARSON A.D., FULTON R.W. An immunodiffusion test for detection of bovine viral diarrhoea virus antibodies in bovine serum. *Am. J. Vet. Res.*, 1979, **40**, 1189.
- IRWIN M.R., BROWN L.N., DEYHLE C.E., BECHTOL D.T. Association of bovine papular stomatitis with the « rat tail » syndrome of feedlot cattle. *South. West. Vet.*, 1976, **29**, 120.
- JANSEN J., KUNST H. Een stomatitisverwekkend virus bij runderen. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 1959, **84**, 947.
- JENSEN R., MACKEY D.R. Enfermedades de los bovinos en los corrales de engorda. Unión tipográfica editorial Hispano-Americana, México, 1973.
- JOLLY R.D., DANIEL C.W. Papular Stomatitis of cattle. *New Zealand Vet. J.*, 1966, **14**, 168.
- PALLASKE G. Zur Stomatitis papulosa infectiosa bovum. *Zbl. Vet. Med.*, 1955, **2**, 35.
- PAPADOPOULOS O.A., DAWSON P.S., HUCK R.A., STUART P. Agar gel diffusion studies of paravaccinia viruses. *J. Comp. Path.*, 1968, **78**, 219.
- PLOWRIGHT W., FERRIS R.D. Papular stomatitis of cattle. II. - Reproduction of the disease with culture-passaged virus. *Vet. Rec.*, 1959, **71**, 828.
- POURNAKI R., VIEUCHANGE J., LEPINE P., FASQUELLE R. Isolement d'un virus distinct du virus vaccinal au cours de passages d'une lymphé vaccinale de génisse. *Ann. Inst. Pasteur*, 1964, **107**, 173.
- RONDHUIS P.R., STRAVER P.J. Paravacciniavirus-infecties bij runderen in Nederland. Symptomen, serologie en kenmerken van virusstammen. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*, 1974, **99**, 358.
- ROSSI CH.R., KIESEL G.K., JONG M.H. A paravaccinia virus isolated from cattle. *Cornell Vet.*, 1977, **67**, 72.

## SUMMARY

### Serological survey on Bovine Popular Stomatitis

A serosurvey was made in Belgium to determine the incidence of antibodies against S.P.B. virus, in bovine sera, by immunodiffusion. The sera were taken from calves, adult bovines or extracted from colostrums.

Positive results were obtained (52,7 %) with adult bovine sera (1 year or more), whatever the animal provenance. But, among the sera extracted from bovine colostrums, the incidence of specific antibodies was much higher (87,3 %).

In an experimental farm (centre for bovine selection, Ciney), the number of positive sera, null at 2-3 months old, became important (42 %) later (9-10 months old).