

Le *Pestivirus* de l'isard contamine-t-il les ovins ?

Résultats d'expérimentations



J. Appolinaire/ONCFS

Les populations d'isards situées à l'est des Pyrénées connaissent ces dernières années un certain déclin. Le suivi sérologique annuel réalisé par l'ONCFS dans les espaces protégés de montagne montre depuis plus de quinze ans une séroprévalence importante vis-à-vis d'un Pestivirus, agent pathogène isolé ultérieurement sur certains isards malades ou morts. La découverte de ce virus a conduit à étudier son infectiosité dans des conditions expérimentales en l'inoculant à quatre femelles en gestation, une d'isard et trois brebis. La femelle d'isard a donné naissance à un chevreau Infecté Permanent Immunotolérant (IPI), alors que chez les brebis seule une séroconversion tardive (l'animal réagit contre le virus en développant des anticorps pour le combattre) a été enregistrée avec naissance d'agneaux normaux. Explications.

Guillaume Vautrain¹, Philippe Gibert²

¹ Vétérinaire – 15 rue des Haras,
36290 Mézières-en-Brenne.

² ONCFS, Unité sanitaire de la faune –
Rue de la Champagne, 73250 St Pierre d'Albigny.

Les populations d'isards ont beaucoup varié ces vingt dernières années dans les six départements de la chaîne pyrénéenne où vit l'espèce.

Après une phase d'expansion des populations de 1985 à 1994 (25 000 isards dans les Pyrénées françaises en 1994), les effectifs ont diminué entre 20 et 70 % d'une année sur l'autre selon les départements. Cette évolution était attribuée à une mortalité accrue, mais aussi à une réduction du recrutement. Une origine infectieuse à ce phénomène a été envisagée. C'est en 2001, en Espagne, puis en 2002, en France, que des analyses sur des isards morts et malades ont révélé la présence d'un *Pestivirus*. Cette découverte a suscité de nombreuses interro-

gations dont l'étude qui suit apporte quelques éléments de réponse.

La première partie de l'étude a pour but d'évaluer les effets de l'infection expérimentale par un *Pestivirus* d'une femelle d'isard en gestation, afin d'apporter quelques éléments de clinique et d'épidémiologie.

La proximité des isards et des ovins en estive provoque toujours une polémique quant aux possibilités de transmission de maladies d'un animal sauvage à un animal domestique et inversement. Dans la deuxième partie de ce travail, nous

essayons d'apporter des informations quant aux possibilités d'infections des brebis par un *Pestivirus* d'isard.

Qu'est-ce qu'un *Pestivirus* ?

Un *Pestivirus* est un virus à ARN qui infecte de nombreuses espèces animales, notamment des ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins) et sauvages (cerfs, isards...). Il existe plusieurs souches de *Pestivirus* qui sont en général adaptées à une espèce animale précise. Il arrive parfois qu'un *Pestivirus* franchisse la barrière d'espèce et contamine un animal d'une autre espèce (par exemple des moutons contaminés par le *Pestivirus* responsable de la Diarrhée virale bovine).

Chaque souche de *Pestivirus* existe sous deux formes : le biotype cytopathogène (CP) et le biotype non cytopathogène (NCP). Ceci lui confère une particularité unique en virologie. Ainsi, lorsque le biotype NCP infecte un fœtus à une période particulière de la gestation, il y a infection persistante, c'est-à-dire qu'à la naissance, le jeune naît apparemment sain mais porteur du virus ; on l'appelle IPI (Infecté Permanent Immunotolérant). Dans ce cas, il est extrêmement contagieux pour ses congénères, alors que lui ne déclenche aucune réaction immunitaire contre le *Pestivirus*. Après un court délai, allant en général de quelques jours à quelques semaines (rarement plusieurs années), suite à une co-infection par le biotype CP, l'animal déclenche une maladie avec de la diarrhée, des troubles pulmonaires, des lésions buccales conduisant à la mort. Par contre, si l'infection se produit en dehors de cette période particulière de la gestation, le *Pestivirus* peut provoquer soit un avortement, soit de simples troubles digestifs ou respiratoires sans gravité.

La pestivirose de l'isard

Enquêtes sérologiques et virologiques

Depuis plus de dix ans, un suivi sérologique et virologique est réalisé sur les isards de la Réserve nationale de faune sauvage (RNCF) d'Orlu, en Ariège. Une très forte séro-prévalence vis-à-vis du *Pestivirus* a été mise en évidence et ce, dès 1995, année du début du suivi sérologique. En outre, des antigènes de *Pestivirus* ont été mis en évidence sur plusieurs isards d'Orlu.

En 2002, une mortalité anormale d'isards a été signalée en Ariège et les autopsies d'animaux réalisées à l'Ecole nationale vétérinaire (ENV) de Toulouse ont confirmé la présence d'un *Pestivirus*.

Aspects cliniques

Jusqu'à présent, le nombre d'isards dont la mort a été attribuée avec certitude à l'infection par le *Pestivirus* est limité à quelques individus.

Les isards malades sont souvent isolés et se laissent facilement capturer. Ils sont en mauvais état corporel, avec une amyotrophie généralisée et un faible état d'engraissement.

Des signes cutanés sont observés quasi systématiquement, se traduisant par une raréfaction des poils (alopécie) et une hyper-pigmentation localisée de la peau.

Il n'est pas rare que les isards malades aient des troubles respiratoires de type jetage, polypnée et toux.

Infections expérimentales

Les objectifs de ces études sont multiples :

- évaluer la transmission verticale (c'est-à-dire de la mère au jeune) du *Pestivirus* de l'isard après inoculation expérimentale ;
- évaluer la sensibilité des ovins au *Pestivirus* de l'isard isolé dans les Pyrénées en 2002 ;
- évaluer une éventuelle transmission naturelle du *Pestivirus* de l'isard à partir d'ovins infectés à des ovins sains.

Infection d'une femelle d'isard en gestation

Isard et inoculum

Une femelle d'isard âgée de 18 mois nous a été fournie. Cet animal provenait d'un parc animalier et avait été élevé au biberon, ce qui facilitait sa manipulation. Elle était séronégative et vironégative vis-à-vis du *Pestivirus*.

La souche inoculée a été isolée en 2002 d'un isard malade issu du département de l'Ariège (souche « Ariège 2002 ») et a été conservée à l'ENV de Toulouse. L'inoculation a été réalisée par la voie intra-nasale et par voie sous-cutanée.

Résultats

Le suivi clinique de l'isard femelle n'a pas permis de mettre en évidence de trouble



Lésions cutanées et amaigrissement chez une femelle d'isard morte de pestivirose.

clinique. En particulier, aucune lésion cutanée n'a été notée. La séroconversion a été détectée vingt-sept jours après l'inoculation.

La mise-bas de l'isard s'est déroulée naturellement, sans intervention humaine 69 jours après l'inoculation. Le produit était un chevreau mâle. En estimant la durée de gestation de l'isard à 160-170 jours, l'inoculation a donc eu lieu, par rétro-calcul, entre le 90^e et le 100^e jour de gestation.

A l'examen clinique du nouveau-né, tout était normal et l'animal ne présentait aucune malformation ni autre anomalie, confirmant ainsi que le *Pestivirus* n'a pas perturbé l'organogenèse.

A la naissance, et après avoir tété le colostrum, le chevreau était séropositif (ce qui est logique car les anticorps de la mère passent fortement dans le colostrum chez les ruminants) et une analyse par PCR a permis de détecter la présence de particules de *Pestivirus* dans le sang du chevreau, alors qu'aucune particule virale n'était mise en évidence dans le sang de la mère.

Aucun trouble de santé n'a été observé chez le chevreau jusqu'à deux jours avant sa mort. En effet, le jeune isard est mort à l'âge de 84 jours, après avoir présenté un état fébrile sévère accompagné d'une diarrhée profuse. Durant l'autopsie, la rate a été prélevée. La recherche de particules virales de *Pestivirus* par PCR dans la rate s'est révélée positive. Les deux résultats positifs, espacés de plus de deux mois, sont en faveur de l'hypothèse que le jeune isard mâle était bien un IPI.



G. Vautrain

La femelle d'isard avec son chevreau IPI.

Ainsi, au terme de cette observation, on peut proposer l'hypothèse que la formation d'IPI est possible chez l'isard de la même manière que chez les autres ruminants. La période de la gestation où il est possible d'induire une infection permanente du fœtus pourrait donc aller au moins jusqu'au 90-100^e jour de gestation. Cette période semble être prolongée par rapport à celle rapportée chez les ovins, mais proche de celle observée chez les caprins.

Infection de brebis en gestation

Brebis et inoculum

L'expérimentation a été réalisée sur cinq brebis *Lacaune* x *Suffolk* adultes en gestation, issues d'un élevage aveyronnais indemne de Border disease (pestivirose de la brebis). Les brebis étaient donc naïves vis-à-vis du *Pestivirus*.

Soixante-cinq jours après la date de l'insémination artificielle, trois brebis (n° 390, 8122 et 875) ont été inoculées (brebis « inoculées ») avec la même souche de *Pestivirus* isard que pour l'expérience précédente, alors que deux autres (brebis « témoins-contacts ») n'ont reçu que du sérum physiologique sans particule virale (brebis n° 898 et 888). L'inoculation a été réalisée dans les mêmes conditions que lors de l'expérimentation précédente. Toutes les brebis étaient logées dans le même enclos afin de favoriser les contacts et les transmissions éventuelles de *Pestivirus*.

Résultats

Aucun signe clinique n'a été observé après inoculation, notamment durant les 15 jours *post*-inoculation.

La gestation s'est déroulée sans aucune anomalie. Les brebis ont toutes mis bas à 83 jours après inoculation, en l'espace de 36 heures. Douze agneaux sont nés mais cinq sont morts rapidement.

Des numérations leucocytaires ont été effectuées sur les brebis. Les résultats sont présentés sur le **graphique 1**.

Sur deux des trois brebis inoculées (n° 390 et 8122) le stade de leucopénie¹ ($4 \cdot 10^3$ leucocytes par microlitre de sang) est atteint à J4. En outre, pour la

¹ - Diminution du nombre des leucocytes (globules blancs) en dessous de la normale.

3^e brebis (n° 875), la numération leucocytaire est très proche du seuil de leucopénie. La valeur la plus basse est observée entre J4 et J5. Cette leucopénie semble transitoire car, à J14, le nombre de leucocytes sanguins est revenu à la valeur pré-inoculation pour deux brebis (n° 875 et 8122).

Le suivi détaillé de la population leucocytaire montre que la leucopénie est due à une diminution du nombre de lymphocytes (lymphopénie à J4), alors que les granulocytes évoluent faiblement et toujours au-dessus du seuil de neutropénie.

Statut sérologique

Deux des trois brebis inoculées ont séroconverti. La séroconversion a été tardive, détectée à J60 pour la n° 875 et à J83 pour la n° 390. La brebis n° 8122 est restée séronégative sur 7 prélèvements réalisés de J18 à J110 *post*-inoculation.

D'autre part, les brebis « témoins-contacts » sont toutes restées séronégatives durant l'expérimentation, soit jusqu'à 110 jours *post*-inoculation.

Statut virologique

L'évaluation de la virémie *post*-inoculation a été réalisée *a posteriori* sur les 2 brebis ayant séroconverti (brebis n° 390 et 875). L'analyse a été réalisée à partir de 7 prélèvements de sang (de



G. Vautrain

Le chevreau tétant sa mère.

J3 à J14). Aucune particule virale n'a été détectée.

Statut des agneaux

Du sang de chacun des 7 agneaux a été prélevé dès la naissance, avant la tétée du colostrum. On constate que les agneaux des deux brebis qui ont séroconverti (n° 875 et 390) sont séropositifs, alors que tous les autres sont séronégatifs. D'un autre côté, aucune particule virale n'a été détectée dans les prélèvements.

Discussion

L'inoculation du *Pestivirus* de l'isard à trois brebis initialement séronégatives se traduit par la séroconversion de deux brebis deux mois après l'exposition. En règle générale, lors d'infection aiguë (expérimentale ou non), les anticorps dirigés contre le *Pestivirus* sont détectables rapidement dans les trois semaines *post*-inoculation. Dans le cas de notre observation, la séroconversion tardive et partielle peut s'expliquer par une faible sensibilité de la brebis face au *Pestivirus* isard. Toutefois, une autre explication plausible réside dans le schéma d'inoculation : la quantité de virus inoculée était peut-être trop faible.

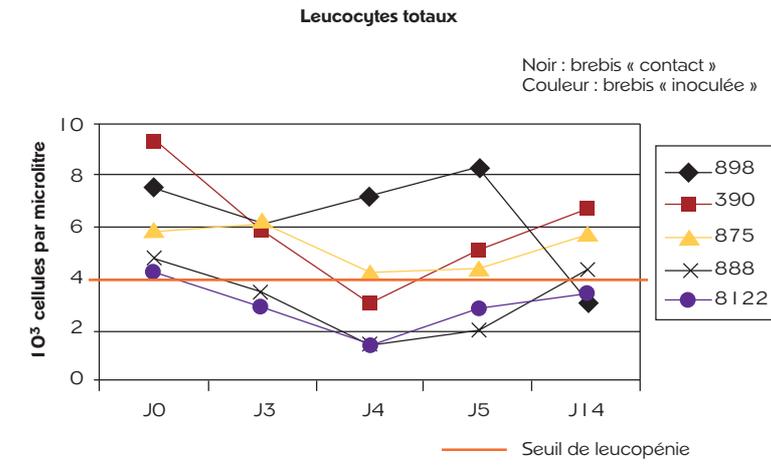
L'absence d'infection des brebis « témoins-contacts » peut être expliquée par l'absence d'excrétion ou par une excrétion trop faible des brebis inoculées, en rapport avec une multiplication réduite du *Pestivirus* isard chez ces dernières.

Malgré une inoculation des brebis en gestation dans la fenêtre de réceptivité pour la formation d'IPI, tous les agneaux sont nés vironégatifs. Il n'a donc pas été possible d'obtenir des agneaux infectés permanents (infection chronique). Toutefois, tous les agneaux issus des deux brebis ayant séroconverti sont nés séropositifs (avant l'ingestion du colostrum). Ces résultats sont cohérents avec une infection transplacentaire des fœtus à une période où ceux-ci étaient immunocompétents, soit après 80-90 jours de gestation.

Cette infection verticale tardive est elle-même cohérente avec la séroconversion tardive des deux brebis mères.

L'inoculation du *Pestivirus* isard à des brebis en gestation n'a eu aucune conséquence clinique. Les modifications hématologiques transitoires (leucopé-

Graphique 1 – Evolution de la numération leucocytaire des cinq brebis avant et après inoculation



Lot des six brebis expérimentales Lacaune x Suffolk.

nie, lymphopénie) observées au cours des jours suivant l'inoculation sont difficilement interprétables. Néanmoins, ces observations ont souvent été notées lors d'infection par un *Pestivirus*.

Conclusion

L'infection expérimentale par voie nasale d'un isard femelle vers le 95^e jour de

gestation par un *Pestivirus* isolé de l'isard (souche « Ariège 2002 ») a induit la naissance d'un chevreau IPI. Le chevreau est mort quelques semaines plus tard à la suite d'une maladie évoquant la maladie des muqueuses des bovins. Ainsi, le *Pestivirus* de l'isard semble se comporter de la même manière que les *Pestivirus* des ruminants domestiques.

Lors de l'inoculation par voie nasale à des brebis, vers 65 jours de gestation,

d'une souche de *Pestivirus* isard (souche « Ariège 2002 »), aucun signe clinique n'a pu être mis en évidence ni sur les brebis, ni sur les agneaux. L'absence de virémie des agneaux à la naissance ainsi que la séronégativité des brebis « témoins-contacts » suggèrent une absence de diffusion du *Pestivirus* isard chez les ovins, au moins dans les conditions de l'expérimentation.

Ces résultats obtenus sur les brebis sont à nuancer. En effet, les facteurs liés à la dose inoculée ainsi que le stade de gestation des brebis sont susceptibles de modifier les résultats. Ainsi, d'autres études plus complètes devraient être entreprises pour vérifier l'innocuité du *Pestivirus* isard pour les brebis.

Les infections par le *Pestivirus* revêtent une importance économique et sanitaire majeure pour l'élevage français. Le rôle de la contamination des animaux domestiques par les animaux sauvages, de même que les contaminations dans l'autre sens, doivent être analysés. Nombres d'éleveurs d'ovins ou de bovins pensent que le BDV (Border Disease Virus) ou le BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus) présent dans leur élevage est apporté par la faune sauvage, et notamment en région pyrénéenne par des isards. A l'inverse, certains chasseurs pensent que la diminution de la population d'isards dans les Pyrénées est liée à leur contamination par les animaux domestiques.

Dans les conditions de notre étude, il semblerait que le *Pestivirus* isard ne soit pas contaminant pour les ovins domestiques. Par ailleurs, sur le terrain, les épizooties de pestivirose chez l'isard ne semblent pas déclencher de troubles particuliers chez les autres ruminants domestiques ou sauvages vivant sur le même territoire.

La naissance d'isards IPI, c'est-à-dire issus de l'infection durant la gestation d'une femelle naïve, est l'un des facteurs clés dans la compréhension de l'épidémiologie de la pestivirose. Ainsi, la persistance de la maladie au sein de la population d'isards peut être attribuée à la présence d'individus IPI dans les hardes, sur le

même modèle que pour les espèces domestiques.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier particulièrement le Professeur François Schelcher de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse qui a permis la réalisation de cette thèse expérimentale, ainsi que Monsieur Serge Mounard, directeur du Parc animalier « La colline aux marmottes » à 65400 Argelès-Gazost qui a aimablement prêté la femelle isard apprivoisée.

Bibliographie

- Alzieu J.-P., Moulignié, M., Deplanche, M., Lacroux, C., Meyer, G., Letellier, C., Kekhofs, P. & Schelcher, F. 2004. Première description d'une pestivirose de l'isard (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*). *Bull. Acad. Vét.* 157 (2) : 49-54.
- Amal, M.C. Fernandez-de-Luco, D., Riba, L., Maley, M., Gilray, J., Willoughby, K., Vilcek, S. & Nettleton, P.F. 2004. A novel *Pestivirus* associated with deaths in Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*). *J. gen. virol.*, 85 : 3653-3657.
- Avalos-Ramirez, R., Orlich, M., Thiel, H.J. & Becher, P. 2001. Evidence for the presence of two novel pestivirus species. *Virology* 286 : 456-465.
- Frolich, K., Jung, S., Lieckfeldt, D., Gibert, P., Gauthier, D. & Hars, J. 2005. Detection of a newly described *Pestivirus* of Pyrenean Chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) in France. *J. Wildl. Dis.* 41 (3) : 606-610.
- Gibert, P. 2003. Etat des connaissances sur la pestivirose des herbivores sauvages : exemple de la réserve d'Orlu. *C.R. du Colloque Pestivirose de l'isard, Montgailhard, France, 12 mai 2003. ONCFS/DDAF/DDSV Ariège.*
- Gilles, P. 1997. Etude d'une affection virale dans la faune sauvage : exemple du syndrome BVD/MD. Thèse Vét., Lyon. 137 p.
- Guffong, M. & Icre, M. 2003. Evolution de la pestivirose de l'isard dans l'Ariège en 2002 et les premières données d'incidence sur le cheptel. *C.R. du Colloque Pestivirose de l'isard, Montgailhard,*

France, 12 mai 2003. ONCFS/DDAF/DDSV Ariège.

- Løken, T. 1995. Ruminant pestivirus infections in animals other than cattle and sheep. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 11 (3) : 597-614.
- Marco-Sanchez, I., Marco-Sanchez X., Fernandez-de-Luco, D. & Landry, R. 2003. Chronologie de l'apparition, de l'expression clinique et de l'étude de la pestivirose de l'isard en Espagne et en Andorre. *C.R. du Colloque Pestivirose de l'isard, Montgailhard, France, 12 mai 2003. ONCFS/DDAF/DDSV Ariège.*
- Marco, I., Lopez-Olivera, J.R., Rosell, R., Vidal, E., Hurtado, A., Juste, R., Pumarola, M. & Lavin, S. 2007. Severe outbreak of disease in the southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) associated with border disease virus infection. *Vet. Microbiol.* 120 : 33-41.
- Nettleton, P.F., Gilmour, J.S., Herring, J.A. & Sinclair, J.A. 1992. The production and survival of lambs persistently infected with border disease virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 15 : 179-188.
- Ploz, M., Loison, A., Gibert, P., Dubray, D., Menaut, P., Le Tallec, B., Artois, M. & Gilot-Fromont, E. 2007. Transmission of a *Pestivirus* infection in a population of Pyrenean chamois. *Vet. Microbiol.* 119 : 19-30.
- Raynal, J. 2004. Etude sérologique de maladies abortives non réglementées chez les isards et les ovins de la RNCFS d'Orlu (09). Thèse Vét., Toulouse. 217 p.
- Richomme, C. 2002. Cohabitation entre ongulés domestiques et sauvages en alpages : Risque de transmission interspécifique d'agents pathogènes. Rapport DEA « Ecologie », Univ. Paris XI Orsay et INA P-G, Paris. 30 p.
- Russo, P. 1986. La border disease. *Bull. Lab. Vét.* 21 : 43-48.
- Schelcher, F. & Alzieu, J.-P. 2003. La pestivirose de l'isard : description clinique de la maladie et conséquences biologiques. *C.R. du Colloque Pestivirose de l'isard, Montgailhard, France, 12 mai 2003. ONCFS/DDAF/DDSV Ariège.*
- Vautrain, G. 2007. Le *Pestivirus* de l'isard, étude expérimentale de l'infection intra et interspécifique. Thèse Vét., Toulouse. 76 p.
- Vilcek, S. & Nettleton, P.F. 2006. *Pestivirus* in wild animals. *Vet. Microbiol.* 116 : 1-12. ■