HAL
open science

MISE EN ÉVIDENCE SÉROLOGIQUE D'INFECTIONS A ROTAVIRUS AU SEIN DE L'ÉLEVAGE PORCIN FRANÇAIS (RÉGION DE BRETAGNE)

G. Corthier, J.F. Vautherot, P. Vannier

To cite this version:

G. Corthier, J.F. Vautherot, P. Vannier. MISE EN ÉVIDENCE SÉROLOGIQUE D'INFECTIONS A ROTAVIRUS AU SEIN DE L'ÉLEVAGE PORCIN FRANÇAIS (RÉGION DE BRETAGNE). Annales de Recherches Vétérinaires, 1979, 10 (1), pp.65-69. hal-00901097

HAL Id: hal-00901097

https://hal.science/hal-00901097

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Ann. Rech. Vét. 1979, **10** *(1),* 65-69.

MISE EN ÉVIDENCE SÉROLOGIQUE D'INFECTIONS A ROTAVIRUS AU SEIN DE L'ÉLEVAGE PORCIN FRANÇAIS (RÉGION DE BRETAGNE)

G. CORTHIER [1], J.F. VAUTHEROT [2] et P. VANNIER [3]

1) Station de Virologie et d'Immunologie, I.N.R.A., Laboratoire de Pathologie Porcine, 78850 Thiverval-Grignon

2) Station de Virologie et d'Immunologie, I.N.R.A., 78850 Thiverval-Grigon

3) Ministère de l'Agriculture, Direction de la Qualité, Services Vétérinaires, Station de Pathologie Porcine, 22440 Ploufragan.

Summary

SEROLOGIC DETECTION OF ROTAVIRUS INFECTION IN SWINE FROM THE REGION OF BRITTANY. — Indirect immunofluorescence (micromethod) was used to detect antirotavirus antibodies. Sera (166) were collected on adult pigs at slaughterhouse in the following french departments : Finistere, Morbihan and Ille et Vilaine. Antibodies were detected in 83% of the samples.

Le syndrome des diarrhées néonatales occupe actuellement une place prédominante dans la pathologie porcine. Les pertes économiques consécutives à l'infection par le virus de la gastroentérite transmissible (G.E.T.) sont évaluées pour l'année 1977 à 75 millions de francs pour 67 départements français (Toma *et al.,* 1978). Ce virus est d'autant plus meurtrier pour le jeune porcelet qu'il est associé dans 50% des cas à des souches entéropathogènes d'*Escherichia coli* (Renault *et al.,* 1976).

Bien que la colibacillose et le virus de la G.E.T. semblent les principaux agents responsables des diarrhées néonatales du porc, de nombreux cas ne sont pas causés par une infection par l'un ou l'autre de ces agents (Vannier et Gosselin, 1978). Cet état de fait conduit à suspecter d'autres agents étiologiques et en particulier le rotavirus. En effet le pouvoir pathogène de ce virus pour le porc (Rodger *et al.,* 1975 ; Pearson et Mc Nulty, 1977 ; Lecce et King, 1977), se traduit sur le plan clinique par un épisode de vomissement suivi d'une diarrhée persistant 5 à 6 jours et pouvant entraîner la mort de 50% des animaux (Lecce *et al.,* 1978).

Bien que la présence de rotavirus porcin ait été révélée dans de nombreux pays, l'épidémiologie des diarrhées néonatales dues à cet agent reste imprécise. Aux U.S.A. et en Angleterre, ce virus serait responsable respectivement de 12% et de 40% des cas de diarrhée néonatales chez le porcelet (Bergeland et Mc Adaragh, 1976 ; Woode *et al.,* 1976).

Le but de notre étude a été la mise en évidence d'infections à rotavirus au sein de l'élevage porcin français (par la recherche d'anticorps anti-rotavirus). A cet effet nous avons utilisé une microméthode de détection des anticorps par immunofluorescence indirecte en plaque de microtitration, dont l'originalité par rapport aux systèmes antérieurs (Snod-

grass *et al.*, 1977) est une miniaturisation qui a pour avantage de permettre de traiter rapidement un grand nombre d'échantillons.

Matériel et méthodes

1. Sérums de porcs

Les sérums de porcs ont été prélevés à l'abattoir sur des porcs en fin d'engraissement (6 mois environ). Ces animaux provenaient des départements du Finistère, d'Ille-et-Vilaine et du Morbihan. Tous les échantillons furent collectés en octobre 1977 puis congelés à − 20°C. Lors de la recherche des anticorps anti-rotavirus, les sérums des porcs ont été dilués au 1/80 dans du tampon phosphate.

2. Recherche des anticorps anti-rotavirus.

2.1. Préparation de cellules infectées par le rotavirus.

Des cellules secondaires de rein de foetus de veau sont cultivées dans des plaques de microtitration en milieu de Eagle (Mem modifié Stocker) contenant 2,9 p. 1000 de tryptose phosphate, 5% de sérum de foetus de veau et des antibiotiques. Les microplaques initialement incubées à 37°C sont placées, dès confluence des tapis cellulaires, pendant 2 jours à 30° C.

Chaque cupule est ensuite infectée avec une souche de rotavirus bovin adaptée à la culture cellulaire (L'Haridon et Scherrer, 1976). A cet effet, 0,1 ml d'une suspension de rotavirus bovin est dilué en milieu de Eagle (2 p. 100 serum de foetus de veau et 1,5 p. 1000 de tryptose phosphate), titrant 500 à 1000 doses infectieuses par ml. Après 3 jours d'incubation à 30°C, les tapis cellulaires sont fixés par l'éthanol absolu à − 20°C pendant 1/2 heure et séchés. Les microplaques sont conservées à − 20°C jusqu'à l'emploi.

2.2 Titrage des anticorps

Chaque cupule reçoit 50 microlitres d'une solution de sérum de porc en tampon PBS. Après 1 nuit à 20°C, les tapis cellulaires sont lavés, incubés durant 1 heure à 37°C en présence de 50 μl de conjugué fluorescent dilué au 1/100 final puis lavés de nouveau.

Le conjugué (immunoglobulines de lapin anti-immunoglobuline de porc conjugué à la fluoresceine (Institut Pasteur, Paris) a préalablement été dilué au 1/10 en tampon phosphate, absorbé sur poudre acétonique de foie de veau, de façon à réduire l'intensité de la fluorescence non spécifique, puis filtré sur membrane Millipore (0,22 μ). La lecture des microplaques est effectuée au moyen du système de Ploem (Zeiss-Leitz). Le titre en anticorps correspond à la dernière dilution de sérum permettant de distinguer la présence d'antigènes de rotavirus dans les cultures infectées (tabl. 1).

Résultats

Dans des sérums de foetus de porcs (tabl. 1) aucune quantité d'anticorps anti-rotavirus n'a pu être décelée par la méthode d'immunofluorescence indirecte (IFI), il en est de même pour des porcs de 100 kg indemnes d'organismes pathogènes spécifiques (IOPS) et ayant une quantité de globulines sériques voisine de celle des sérums de porcs « conventionnels » (tabl. 1). Par ailleurs aucune réaction d'immunofluorescence n'a été observée avec quelque sérum que ce soit lors de l'emploi de tapis cellulaires non infectés par le rotavirus.

Lors de l'enquête sérologique réalisée sur 166 sérums de porcs collectés parmi autant d'élevages différents dans le Finistère, le Mor-

Tableau 1. - Titres en anticorps antirotavirus, mesurés par la méthode d'immunofluorescence indirecte (titre IFI), de différents sérums de porcs.

Sérum de porc		Titre
Provenance	Numéro	IFI
Foetus de porc	1	<1/10
	2	<1/10
Porcs IOPS*	1	<1/10
	2	<1/10
	3	<1/10
Porcs adultes provenant d'élevages conventionnels	1	1/640
	2	1/640
	3	>1/1200
	4	>1/1200
	5	1/640
	6	1/160
	7	1/320
	8	1/640
	9	1/320
	10	1/160

(*) IOPS = indemnes d'organismes pathogènes spécifiques.

Tableau 2. - Fréquence des réactions sérologiques positives vis-à-vis du rotavirus parmi les sérums de porcs issus d'élevages bretons.

Département	Nombre de sérums de porcs		Pourcentage de réactions positives
	Positifs	Total	
Finistère	54	60	90
Morbihan	40	44	91
Ille et Vilaine	44	62	71
TOTAL	138	166	83

bihan et l'Ille et Vilaine, pour 83% des échantillons un titre IFI supérieur ou égal au 1/80 a été observé. Les pourcentages de sérums positifs dans chacun des trois départements varient de 71 à 91% (tabl. 2). Compte-tenu de la spécificité de la méthode, il apparaît que 83 % des porcs étudiés aient été, au moins une fois dans leur existence, en contact avec un rotavirus.

Dix sérums provenant d'élevages différents du Finistère, ont fait l'objet d'une mesure précise de leur activité anti-rotavirus (tabl. 1). Les titres IFI observés sont particulièrement importants puisque les plus élevés sont supérieurs au 1/1200 et les plus faibles sont égaux au 1/160.

Discussion

1. Validité de la méthode IFI dans la recherche des anticorps anti-rotavirus chez le porc.

La méthode IFI est rapide et facile à mettre en œuvre. Les cultures cellulaires sont infectées à l'aide d'un rotavirus bovin car nous ne disposons pas au laboratoire de souches de rotavirus porcin se répliquant *in vitro*. Cependant, il a été maintes fois démontré qu'il existe entre les rotavirus bovins et porcins une parenté immunologique révélée en immunofluorescence (Mc Nulty *et al.*, 1976 ; Woode *et al.*, 1976 ; Thouless *et al.*, 1977) en fixation du complément (Woode *et al.*, 1976 ; Thouless *et al.*, 1977) en immunodiffusion (Woode *et al.*, 1976) et en immuno-microscopie électronique (Saif *et al.*, 1977). Cependant, on ne peut pas distinguer par notre méthode les infections du porc par des rotavirus bovins ou humains (Hall *et al.*, 1976 ; Middleton *et al.*, 1975 ; Torres-Medina *et al.*, 1976) de celles dues à des souches de virus propres à l'espèce porcine. Seule la séroneutralisation permettrait une telle différenciation (Thouless *et al.*, 1977).

2. Valeur et limite de l'enquête sérologique.

La fréquence de 83% de porcs présentant une réaction sérologique positive vis-à-vis du rotavirus est à rapprocher de la fréquence des infections à rotavirus chez d'autres espèces animales : 90% pour les bovins (Zygraich *et al.*, 1975), 38% pour les ovins (Snodgrass *et al.*, 1977).

Lorsque l'on sait que l'infection par le rotavirus peut être fatale aux jeunes porcelets (Rodger *et al.*, 1975 ; Lecce *et al.*, 1976 ; Chasey et Lucas, 1977 ; Pearson et Mc Nulty, 1977) comme aux porcs au moment du sevrage (Lecce et King, 1977 ; Bolh *et al.*, 1978) il y a lieu de penser que le rotavirus joue un rôle en France dans les pertes économiques dues aux diarrhées néonatales du porcelet.

Comme dans le cas des diarrhées du veau (Scherrer *et al.*, 1976), le rôle de ce virus ne pourra être évalué précisément en France que par l'étude comparée de la fréquence des infections à rotavirus chez les animaux sains et les porcs atteints de diarrhée, par recherche du virus dans les fèces.

Accepté pour publication le 30 Octobre 1978.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier les virologistes de la Station, et particulièrement R. Scherrer, pour leur aide et leurs conseils ainsi que les Directions Départementales des Services Vétérinaires qui ont réalisé la collecte d'une grande partie des sérums.

Résumé

La recherche des anticorps anti-rotavirus a été effectuée à l'aide d'une microméthode utilisant l'immunofluorescence indirecte. Parmi les 166 sérums de porcs adultes collectés à l'abattoir dans les départements du Finistère, du Morbihan et de l'Ille et Vilaine, 83% contiennent des anticorps anti-rotavirus.

Références

BERGELAND M.E., Mc ADARAGH J.P., 1976. Reo-like viruses in pigs with naturally occuring diarrhea diseases. *IPVS Ames Iowa USA,* juin 1976.

BOHL E.H., KOHLER E.M., SAIF L.J., CROSS R.F., AGNES A.G., THEIL K.W., 1978. Rotavirus as a cause of diarrhea in pigs. *J. Amer. Vet. Med. Ass.,* **172,** 458-463.

CHASEY D., LUCAS M., 1977. Detection of rotavirus in experimentally infected piglets. *Res. Vet. Sci.,* **22,** 124-125.

HALL G.A., BRIDGER J.C., CHANDLER R.L., WOODE G.N., 1976. Gnotobiotic piglets experimentally infected with neonatal calf diarrhea reovirus-like agent (rotavirus). *Vet. Pathol.,* **13,** 197-210.

LECCE J.G., KING M.W., 1977. Reo-like virus (rotavirus) in piglets - model for weaning diarrhea. *Ann. Meet. Amer. Soc. for Microbiol.,* **77,** 54.

LECCE J.G., KING M.W., MOCK R., 1976. Reovirus like agent associated with fatal diarrhea in neonatal pigs. *Infect. Immun.,* **14,** 816-825.

LECCE J.G., KING M.W., DORSEY W.E., 1978. Rearing regimen producing piglet diarrhea (rotavirus) and its relevance to acute infantile diarrhea. *Science,* **199,** 776-778.

L'HARIDON R., SCHERRER R., 1976. Culture in vitro du rotavirus associé aux diarrhées néonatales du veau. *Ann. Rech. Vet.,* **7,** 373.

Mc NULTY M.S., ALLAN G.M., CURRAN W.L., Mc FERRAN, J.B., 1976. Comparison of methods for diagnosis of rotavirus infection of calves. *Vet. Rec.,* **98,** 463-464.

Mc NULTY M.S., ALLAN G.M., PEARSON G.R., Mc FERRAN J.B., CURRAN W.L., Mc CRACKEN R.M., 1976. Reovirus like agent (rotavirus) from lambs. *Infect. Immun.,* **14,** 1332-1338.

MIDDLETON P.J., PETRIC M., SZYMANSKI M.T., 1975. Propagation of infantile gastroenteritis virus (orbigroup) in conventional and germfree piglets. *Infect. Immun.,* **12,** 1276-1280.

PEARSON G.R., Mc NULTY M.S., 1977. Pathological changes in the small intestine of neonatal pigs infected with a pig reovirus-like agent (rotavirus). *J. Comp. Path.,* **87,** 363.

RENAULT L., LABADIE J.P., AYNAUD J.M., VAISSAIRE J., MAIRE. C. 1976. Importance de la gastro-entérite transmissible dans l'étiologie des troubles digestifs du porc. *Bull. Acad. Vet.,* **49,** 503-509.

RODGER S.M., CRAVEN J.A., WILLIAMS I., 1975. Demonstration of reovirus-like particles in intestinal contents of piglets with diarrhea. *Austral. Vet. J.,* **51,** 536.

SAIF L., BOHL E.H., KOHLER E.M., HUGUES J.H., 1977. Immune electron microscopy of transmissible gastroenteritis virus and rotavirus (reovirus-like-agent) of swine. *Amer. J. Vet. Res.,* **38,** 13-20.

SCHERRER R., COHEN J., L'HARIDON R., FEYNEROL C., FAYET J.C., 1976. Reovirus-like-agent (rotavirus) associated with neonatal calf-gastroenteritis in France. *Ann. Rech. Vet.,* **7,** 25-31.

SNODGRASS D.R., HERRING J.A., LINKLATER K.A., DYSON D.A., 1977. A survey of rotaviruses in sheep in Scotland. *Vet. Rec.,* **100,** 341.

THOULESS M.E., BRYDEN A.S., FLEWETT T.H., WOODE G.N., BRIDGER J.C., SNODGRASS D.R., HERRING J.A., 1977. Serological relationships between rotaviruses from different species as studied by complement fixation and neutralisation. *Arch. Virol.,* **53,** 287-294.

TOMA B., VANNIER P., AYNAUD J.M., 1978. Résultats de l'enquête épidémiologique sur la gastro-entérite transmissible du porc. *Bull. Off. Int. Epizoot.* (sous presse).

TORRES-MEDINA A., WYATT R.G., MEBUS C.A., UNDERDAHL N.R., KAPIKIAN A.Z., 1976. Diarrhea caused in gnotobiotic piglets by the reovirus-like-agent of human infantile gastroenteritis. *J. Infect. Dis.,* **133,** 22-27.

VANNIER P., GOSSELIN F., 1978 (Communication personnelle).

WOODE G.N., BRIDGER J.C., JONES J.M., FLEWETT T.H., BRYDEN A.S., DAVIES H.A., WHITE G.B.B., 1976. Morphological and antigenic relationships between viruses (rotaviruses) from acute gastroenteritis of children, calves, piglets, mice and foals. *Infect. Immun.,* **14,** 804.

WOODE G.N., BRIDGER J., HALL G.A., JONES, J.M., JACKSON G., 1976. The isolation of reovirus-like agents (rotaviruses) from acute gastroenteritis of piglets. *J. Med. Microbiol.*, **9**, 203-209.

ZYGRAICH N., GEORGES A.M., VASCOBOINIC E., 1975. Etiologie des diarrhées néonatales du veau. Résultats d'une enquête sérologique relative aux virus reo-like et corona dans la population bovine belge. *Ann. Med. Vét.*, **119**, 105-113.