

La glande mammaire : organe cible de l'infection par le virus de l'arthrite et de l'encéphalite caprine

C. Lerondelle, C. Fleury, J. Vialard

► **To cite this version:**

C. Lerondelle, C. Fleury, J. Vialard. La glande mammaire : organe cible de l'infection par le virus de l'arthrite et de l'encéphalite caprine. *Annales de Recherches Vétérinaires*, INRA Editions, 1989, 20 (1), pp.57-64. hal-00901843

HAL Id: hal-00901843

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00901843>

Submitted on 1 Jan 1989

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.

Article de recherche

La glande mammaire : organe cible de l'infection par le virus de l'arthrite et de l'encéphalite caprine

C. Lerondelle¹, C. Fleury² et J. Vialard³

¹ INRA, Laboratoire associé de recherches sur la pathologie des petits ruminants,

² Laboratoire d'anatomie pathologique et

³ Laboratoire de pathologie du bétail, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, BP 83, 69280 Marcy-L'Etoile, France

(reçu le 6-5-1988, accepté le 7-6-1988)

Résumé — Quinze chèvres de réforme, provenant d'élevages fortement infectés par le virus de l'arthrite-encéphalite caprine (CAEV), ont été étudiées. Onze animaux présentaient à l'examen clinique les signes d'une infection mammaire virale subclinique, confirmée par les lésions anatomopathologiques du tissu mammaire et la mise en évidence du virus. Des lactations induites sur 2 chèvres ont permis de montrer que l'expression du virus est liée au stade physiologique de la mamelle. Cette étude confirme que la glande mammaire est un organe cible important de l'infection par le CAEV et resouligne l'intérêt du chauffage du colostrum et de l'organisation de la traite comme mesures de prophylaxie.

caprin - glande mammaire - virus de l'arthrite-encéphalite (CAEV)

Summary — **The mammary gland : a target organ for infection with caprine arthritis-encephalitis virus.** Fifteen goats, culled from herds in which infection with caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) was important, were studied. Eleven animals presented, at clinical examination, the signs ('hard udder' and lymphoid nodes hyperplasia) of a subclinical viral mammary infection confirmed by the interstitial accumulation of lymphocytes and the presence of CAEV in the mammary gland. Lactation induced in 2 goats suggests that the viral expression depends on the physiological status of the udder. This study helps to support that the mammary gland is an important target organ for infection with CAEV and underlines the advantage of heated colostrum and proper milking management for preventing CAEV transmission.

caprine - mammary gland - caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV)

Introduction

L'origine bactérienne des mammites de la chèvre a été largement décrite (Poutrel, 1983; Perreau, 1984) mais ne semble pas rendre compte de tous les tableaux cliniques observés. L'induration de la ma-

melle au moment de la mise bas avec une production laitière quasiment nulle, déjà observée par Smith et Roguinsky (1977), n'est, le plus souvent, pas associée à des bactéries classiques ou à des mycoplasmes. Par ailleurs, l'expérience montre que les numérations cellulaires sur laits

individuels, utilisées comme éléments de diagnostic chez la vache, sont difficiles à interpréter dans l'espèce caprine.

Ces dernières années, différents auteurs ont décrit, lors de l'infection par les rétrovirus, agents de l'arthrite-encéphalite caprine ou de la pneumonie progressive du mouton, une atteinte mammaire (Cutlip *et al.*, 1985; Kennedy-Stoskopf *et al.*, 1985; Deng *et al.*, 1986; Robinson et Ellis, 1986; Dawson, 1987). Celle-ci se traduit soit par un syndrome aigu (le pis de bois), soit par une mammite subclinique à répercussion sanitaire et économique non négligeable (Lerondelle, 1988).

Cette étude a pour but de prouver l'existence d'une infection mammaire à virus et d'en préciser la symptomatologie chez la chèvre laitière en région Rhône-Alpes.

Matériel et Méthodes

Choix des animaux

L'étude a porté sur 15 chèvres de réforme provenant de 8 élevages suivis et considérés comme fortement infectés par le virus de l'arthrite-encéphalite caprine (CAEV). Le pourcentage d'animaux séropositifs dans chaque élevage était supérieur à 60%. Parmi les animaux étudiés, certains présentaient des signes objectifs d'arthrite, d'encéphalite ou d'anomalie mammaire. D'autres étaient considérés comme infectés latents ou indemnes. Toutes les classes d'âge étaient représentées.

Examens cliniques

Chaque animal a été l'objet d'un examen clinique portant essentiellement sur l'état des articulations et de la mamelle. La déformation des carpes a été estimée à l'aide d'un index clinique, défini par la différence entre la circonférence du plus gros des carpes et celle du plus petit des métacarpes. La glande mammaire était considérée comme atteinte lorsque le parenchyme était anormalement ferme et les nœuds lymphatiques rétromammaires hypertrophiés.

Induction de lactation

Elles ont été réalisées sur 2 chèvres tarées depuis 3 mois. Chaque animal a reçu pendant 7 jours 0,5 mg/kg/j d'estradiol 17 β et 1,25 mg/kg/j de progestérone en solution alcoolique, injectés par voie sous-cutanée à demi-dose toutes les 12 h. Aux 18^e, 19^e et 20^e jours après la première injection, les animaux recevaient 25 mg/j d'hydrocortisone, par voie intramusculaire à demi-dose toutes les 12 h. Les 2 chèvres ont été mises à la traite le 21^e jour.

Examens nécropsiques

Les animaux ($n = 13$) ont été euthanasiés par injection intraveineuse de barbituriques (Doléthol ND) et autopsiés. Des prélèvements de tissu mammaire et de nœuds lymphatiques rétromammaires ont été effectués en double, les uns fixés dans du formol du commerce à 10% pour une étude anatomopathologique, les autres utilisés pour la recherche du virus.

Examen sérologique

Un échantillon de sérum a été prélevé juste avant l'euthanasie des animaux pour la recherche d'anticorps anti-CAEV par la technique de précipitation en gélose (antigène Maedi).

Examens bactériologiques

Les côtés droit et gauche des mamelles ont été étudiés séparément sur 10 chèvres. Les premiers jets de lait ou de sécrétions mammaires ont été prélevés après désinfection de l'extrémité des trayons avec un tampon de coton imbibé d'alcool à 70°. Un aliquot (0,025 ml) de chaque échantillon a été mis en culture sur une gélose au sang de mouton. Les espèces bactériennes ont été identifiées après 24 et 48 h d'incubation à 37°C.

La recherche des mycoplasmes a été effectuée sur milieu de Hayflick modifié, le milieu de base oxoïd étant utilisé sous forme liquide et solide. Les milieux ensemencés ont été incubés à 37°C, filtrés sur membrane 0,45 μ et repiqués 2 fois. Les mycoplasmes apparaissent en 48 ou 72 h. Leur identification est basée sur des caractères biochimiques et culturels. L'incubation à 37°C a été maintenue pendant 2 semaines pour les prélèvements négatifs à 72 h.

Examen cytologique

Après la mise en culture pour l'étude bactériologique, les échantillons de lait ont été préparés pour l'identification des cellules. Une quantité constante de lait (10 ml) a été dégraissée par centrifugation (2500 t/min, 10 min, + 4°C) après addition de 10 ml de PBS. Les cellules ont été lavées par centrifugation (1800 t/min, 10 min, + 4°C) dans 10 ml de PBS. Le culot a été remis en suspension dans du PBS et la concentration ajustée à $1,5 \times 10^6$ cellules/ml après numération à la cellule de Malassez. La suspension (100 μ l) a été cytocentrifugée et les lames lues après une coloration classique May-Grünwald-Giemsa.

Isolement du virus

La mise en évidence du virus a été faite par coculture des cellules du lait récoltées selon la technique décrite pour la cytologie et de cellules sensibles au CAEV. Une lignée cellulaire (msf), établie *in vitro* (entre le 5^e et le 15^e passage) à partir d'explants de tissu recueilli sur les surfaces articulaires de fœtus de chèvre, est utilisée en routine. Environ 10^6 cellules msf mélangées à 2×10^6 cellules de lait en suspension dans du milieu MEM + 10% de sérum de veau fœtal en présence d'antibiotiques (pénicilline, streptomycine, gentamycine, amphotéricine B) ont été incubées à 37°C en atmosphère de CO₂. Après fixation des cellules, le milieu surnageant a été renouvelé 2 fois par semaine; le tapis cellulaire formé a été subcultivé tous les 10 jours jusqu'à l'apparition des lésions cellulaires. La formation de cellules géantes multinucléées en 6 à 10 jours, avec lyse partielle et tardive du tapis cellulaire, est considérée comme spécifique des rétrovirus des petits ruminants. L'identification ultérieure des souches isolées a été faite par la fixation d'anticorps spécifiques fluorescents ou par la caractérisation d'une transcriptase *reverse* dans les surnageants des cultures infectées.

Le virus a été recherché par une technique analogue dans les cellules récoltées à partir de la pulpe des nœuds lymphatiques rétromammaires. Le virus présent dans les cellules du parenchyme mammaire a été isolé en mettant directement en culture des fragments de mamelles dans du milieu MEM + 10% de sérum de veau fœtal en présence d'antibiotiques. A partir des explants, on obtient en une à 2 semaines un étalement cellulaire dans lequel apparaîtront, après une ou plusieurs subcultures, les altérations cellulaires caractéristiques de la multiplication du virus.

Résultats

Parmi les 15 chèvres étudiées, 7 présentaient des signes d'arthrite. Une chevrette de 3 mois était atteinte d'encéphalite. Deux chevrettes, dont les mamelles n'étaient pas développées, n'ont pas subi l'examen clinique correspondant. Parmi les 13 autres animaux, 11 présentaient les signes d'une atteinte mammaire subclinique. Deux chèvres ont exprimé la maladie sous sa forme aiguë lors de la mise bas avec régression vers un stade subclinique en un mois environ. Le diagnostic clinique de l'infection de la mamelle par le virus a pu être établi, quel que soit le stade physiologique, et a toujours été confirmé par la mise en évidence du virus (Tableau I).

L'étude histologique du tissu mammaire et des ganglions rétromammaires a été effectuée sur 13 chèvres dont 2 chevrettes. Les lésions du tissu mammaire consistaient en infiltrats, le plus souvent modérés, essentiellement à lymphocytes et macrophages, et en moindre proportion des plasmocytes. Le tissu conjonctif était abondant. Ce type de lésion a été observé dans le tissu mammaire des 4 animaux en période de tarissement. Dans 6 mamelles, des formations lymphoïdes pouvant avoir l'aspect de follicules lymphoïdes secondaires ont été observées, ainsi que la présence dans les tubulo-acini de lymphocytes et macrophages. Une hyperplasie de l'épithélium des tubulo-acini a été notée une seule fois. Dans tous les cas, une lymphadénite subaiguë chronique a été observée. La présence de lésions dans le tissu mammaire correspondait toujours au diagnostic clinique d'une atteinte mammaire (Tableau I).

Bien que les numérations cellulaires exactes n'aient pas été faites, nous avons noté que les sécrétions des mamelles considérées comme infectées par le virus

Tableau I. Relation entre le stade physiologique et l'atteinte de la mamelle par le virus.

<i>Stade physiologique</i>	<i>Nombre d'animaux</i>	<i>Atteinte clinique mammaire</i>	<i>Lésions anatomo-pathologiques</i>	<i>Présence de virus</i>
Mamelle impubère	2	—	2	1/1 ^a
Lactation (un mois)	3	3	3	3/3
Tarissement	8	6	5 ^b	4/6 ^c
Lactation induite	2	2	—	2/2

^a : un prélèvement non exploité; ^b : une chèvre aux lésions atypiques; ^c : 2 prélèvements non exploités.

étaient plus riches en cellules que celles des sécrétions mammaires d'animaux sains. Les chèvres étant à des stades physiologiques différents, il n'a pas été possible de comparer les formules cellulaires établies sur les sécrétions mammaires. Néanmoins, pour 4 chèvres en lactation et une tarie, nous avons constaté une modification de la formule, avec diminution significative des polynucléaires au profit des cellules mononucléées, en particulier des lymphocytes et des macrophages. Ces modifications étaient bien corrélées avec l'observation, sur coupes histologiques, d'infiltrats lymphocytaires et la présence de cellules mononucléées dans la lumière des acini.

Nous avons noté une discordance entre les résultats des sérologies individuelles et les observations cliniques. Les 4 chèvres sérologiquement positives exprimaient cliniquement la maladie, au niveau des coupes et de la mamelle. En revanche, parmi les 9 chèvres donnant une réponse négative au test de précipitation en gélose, 8 présentaient des signes cliniques d'atteinte mammaire et 4 des arthrites. Une seule chèvre était négative sérologiquement et cliniquement.

Les examens bactériologiques effectués sur le lait ou les sécrétions mammaires ont été négatifs pour 9 chèvres.

Seule une mamelle était infectée unilatéralement par un staphylocoque coagulase négative. Aucune souche de mycoplasme n'a été isolée.

Six échantillons de cellules de lait, 2 de ganglions rétomammaires et 9 explants de mamelle ont fait l'objet d'une recherche de virus. Un effet cytopathique caractéristique du CAEV s'est manifesté à partir de 12 prélèvements dans un délai de 12 à 50 jours. L'atteinte subclinique de la mamelle a toujours été confirmée par la mise en évidence du virus, à partir des cellules du lait, du tissu mammaire ou des ganglions. Pour 2 chèvres, le virus a été

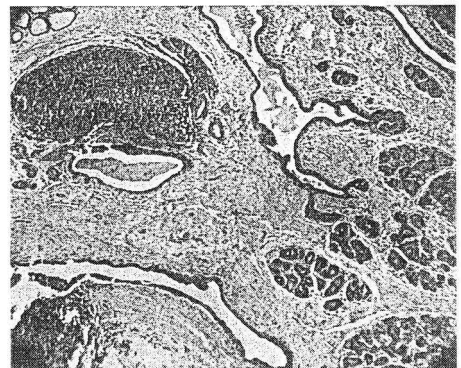


Fig. 1. Tissu mammaire (chevrette de 3 mois). Infiltrat de cellules mononucléées avec formation de follicules lymphoïdes. HE 40 x.

isolé à la fois des explants mammaires et des nœuds lymphatiques. Deux prélèvements, après 2 mois d'observation, sont restés indemnes de virus. Dans 3 cas, la présence de contaminants mycosiques n'a pas permis les recherches de virus.

Discussion

Comme le nom du virus l'indique, l'articulation est considérée le plus souvent comme la localisation majeure de l'infection par le rétrovirus. Cependant, la mamelle pourrait être une cible beaucoup plus importante du point de vue de l'épidémiologie et de la production laitière. Cette étude confirme l'existence de mammites interstitielles dues au CAEV dans la région Rhône-Alpes.

La sérologie réalisée sur tous les animaux d'un troupeau est représentative d'une infection virale généralisée. Notre étude a montré la difficulté d'établir un diagnostic sur la seule base d'une sérologie individuelle. En effet, les animaux peuvent présenter des sérologies négatives tout en étant cliniquement atteints soit dans les stades avancés de la maladie, soit dans les périodes de multiplication virale, en particulier lors de la mise bas.

L'infection de la mamelle par le virus ne conduit pas toujours à la maladie clinique telle qu'elle a été décrite (Robinson et Ellis, 1986; Dawson, 1987; Lerondelle, 1988). Les mécanismes ou les facteurs favorisant l'apparition d'une mammitte aiguë ne sont pas connus.

Chez les chèvres porteuses du virus, l'expression clinique de la maladie semble plus constante dans la mamelle que dans les articulations. Les lésions du tissu mammaire que nous avons observées sont identiques à celles décrites par Zwahlen *et al.* (1983) et Kennedy-Stos-

kopf *et al.* (1985). Elles se manifestent toujours sous forme clinique ou subclinique. Leur sévérité n'est liée ni à l'âge des animaux ni à la durée de l'infection; des chevrettes de 3 mois présentent les mêmes lésions que des chèvres adultes. Cela nous permet d'affirmer que la mamelle est un organe cible du CAEV, atteint très tôt par le virus et de façon plus constante que les articulations. L'atteinte de la mamelle est plus difficile à matérialiser que la déformation des carpes, définie par un index clinique. Néanmoins, il sera nécessaire dans l'avenir d'examiner les articulations et les mamelles pour estimer l'importance de l'expression clinique de l'infection par rapport à la sérologie dans un troupeau.

La facilité et la fréquence avec lesquelles le virus est isolé du tissu mammaire suggèrent que les infiltrats observés à partir des coupes histologiques renferment de nombreuses cellules portant l'infection virale. Notre étude montre que le virus est mis en évidence facilement à partir de cellules du lait ou des sécrétions de tarissement, mais il semble que le stade physiologique ait une influence sur le délai d'apparition des lésions cellulaires. La nature des cellules et leurs proportions respectives dans le lait varient en fonction du stade physiologique. Nous n'avons pas pu, dans notre travail, établir une relation entre la nature des cellules dans les sécrétions mammaires et la rapidité de mise en évidence du virus. En revanche, nous avons constaté une réduction considérable des délais d'apparition de l'effet cytopathique caractéristique du CAEV en culture cellulaire pour le lait des 2 chèvres induites en lactation. La recherche du virus a été effectuée 24 h avant la 1^{re} injection d'hydrocortisone, ce qui correspond pour une gestation à environ 3 jours avant la parturition. Or, les mammites cliniques dues au CAEV apparaissent toujours dans les 3 jours qui pré-

cèdent la mise bas. Les mécanismes qui régulent l'expression du virus et cette évolution clinique ne sont pas connus. Les hormones qui évoluent au cours de la gestation, les corticoïdes produits au moment de la parturition ou injectés lors de l'induction de lactation doivent intervenir pour permettre l'expression du virus soit directement, soit en modifiant les monocytes-macrophages infectés (Charlety *et al.*, 1987).

Les conséquences des mammites virales sont essentiellement des chutes de production qui ont été évaluées à environ 150 l de lait en première lactation (GIE, Centre régional d'écopathologie multi-espèces Rhône-Alpes). Les déséquilibres de pis pourraient être dus à l'infection virale mais aussi à de nombreuses autres origines. L'étude des formules cellulaires des laits nous a permis d'observer des modifications significatives des proportions respectives de chaque type de cellules à des stades physiologiques équivalents chez des animaux infectés. Cependant, cette modification ne semble pas systématique et pourrait être liée au stade d'évolution de l'infection. Une conséquence importante de l'infection virale de la mamelle pourrait être l'augmentation du nombre total de cellules dans le lait, avec une modification de la formule cellulaire.

Si cette hypothèse se confirmait, elle aurait l'intérêt de revaloriser la numération cellulaire comme élément précis de diagnostic des infections mammaires, quelle que soit leur étiologie. Pour les ovins, la mammite interstitielle due au virus Maedi est une cause de mortalité néo-natale des agneaux mais elle est surtout responsable de retard de croissance (Anderson *et al.*, 1985). Chez la chèvre, ce problème ne se pose pas. Néanmoins, l'impact économique sur l'industrie fromagère est important du fait des pertes de production. D'autre part, le lait paraît être

l'agent principal de dissémination du virus.

Cette étude confirme la nécessité des 2 mesures essentielles de prophylaxie préconisées : la distribution aux animaux de renouvellement de colostrum chauffé à 56°C pendant une heure et l'organisation du chantier de traite.

Remerciements

Nous tenons à remercier M. Fontaine et J. Asso pour leurs conseils tout au long de ce travail, J. Martinet (INRA, Jouy-en-Josas) pour le protocole d'induction de lactation, et les Laboratoires Roussel pour la fourniture des hormones stéroïdes.

Références

- Anderson B.C., Bulgin M.S., Scott A. & Barry D. (1985) Firm udder in periparturient ewes with lymphocytic accumulations retrovirus infection and milk unavailable at the teat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186, 391-393
- Charlety P., Foucaud C. & Guiguen F. (1987) Activité inhibitrice des sérums de chèvres infectées sur la formation de syncytia dus au virus de l'arthrite et de l'encéphalite (CAEV). *Ann. Rech. Vet.* 18, 245-248
- Cutlip R.C., Lehmkuhl H.D., Brogden K.A. & Bolin S.R. (1985) Mastitis associated with ovine progressive pneumonia virus infection in sheep. *Am. J. Vet. Res.* 46, 326-328
- Dawson M. (1987) Caprine arthritis-encephalitis. In : *Practice* (Jan, ed.), pp. 8-11
- Deng P., Cutlip R.C., Lehmkuhl H.D. & Brogden K.A. (1986) Ultrastructure and frequency of mastitis caused by Ovine Progressive Pneumonia Virus infection in sheep. *Vet. Pathol.* 23, 184-189
- Kennedy-Stoskopf S., Narayan O. & Strandberg J.D. (1985) The mammary gland as a target organ for infection with caprine arthritis-encephalitis virus. *J. Comp. Pathol.* 95, 609-617

- Lerondelle C. (1988) L'infection de la mamelle par le virus de l'arthrite et de l'encéphalite de la chèvre. *Bull. Soc. Vet. Med. Comp.* 90 (sous presse)
- Lerondelle C. & Poutrel B. (1984) Characteristics of non-clinical mammary infections of goat. *Ann. Rech. Vet.* 15, 105-112
- Perreau P. (1984) Les mycoplasmoses de la chèvre. In : *Les Maladies de la Chèvre* (P. Yvoré & G.Perrin, eds.), INRA, Paris, pp. 245-256
- Poutrel B. (1983) Les mammites de la chèvre et de la brebis. *Doss. Elev.* 5, 37-45
- Robinson W.E. & Ellis T.M. (1986) Caprine arthritis-encephalitis virus infection : from recognition to eradication. *Aust. Vet. J.* 63, 237-241
- Smith M.C. & Roguinsky M. (1977) Mastitis and other diseases of the goat's udder. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171, 1241-1248
- Zwahlen R., Aeschbacher M. & Balcer T. (1983) Lentivirusinfektionen bei Ziegen mit Carpititis und interstitieller Mastitis. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 125, 281-299