



VIRÉMIE PRINTANIÈRE DE LA CARPE RÉSULTATS DE CONTAMINATIONS EXPÉRIMENTALES EFFECTUÉES AU PRINTEMPS

Anne-Marie Baudouy, Michèle Danton, Ghislaine Merle

► To cite this version:

Anne-Marie Baudouy, Michèle Danton, Ghislaine Merle. VIRÉMIE PRINTANIÈRE DE LA CARPE
RÉSULTATS DE CONTAMINATIONS EXPÉRIMENTALES EFFECTUÉES AU PRINTEMPS.
Annales de Recherches Vétérinaires, 1980, 11 (3), pp.245-249. hal-00901272

HAL Id: hal-00901272

<https://hal.science/hal-00901272v1>

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.

VIRÉMIE PRINTANIÈRE DE LA CARPE RÉSULTATS DE CONTAMINATIONS EXPÉRIMENTALES EFFECTUÉES AU PRINTEMPS

Anne-Marie BAUDOUY, Michèle DANTON et Ghislaine MERLE

*Ministère de l'Agriculture, Direction de la Qualité, Services Vétérinaires
Pathologie des Animaux Aquatiques, Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires
22, rue Pierre-Curie, 94703 Maisons-Alfort, France*

Summary

SVCV INFECTION OF CARP. — This work was carried out to confirm several pathogenical points which had been previously outlined during SVCV infection trials of carp performed in autumn at + 11 °C, when the temperature was naturally decreased.

Here, 50 g carp which had undergone the wintering, were infected in spring either via the water-route (2 h in 5×10^3 pfu/ml water) or intraperitoneally (5×10^3 pfu/fish) when the natural elevation of the water temperature had reached + 11 °C. Then the fish appeared to be readily susceptible to infection and the course of the disease estimated by the virus detection in gill, blood and water, was 3 to 4 times quicker than that of the autumn infection.

The virus detection in gill is the first clue of contamination and the viraemia accounts for the spleen and kidney target cells infection and its increase is fatal.

La virémie printanière de la carpe (VPC) est une rhabdovirose dont les manifestations s'observent classiquement lors du réchauffement printanier de l'eau des étangs entre + 11 °C et + 15 °C (Fijan *et al.*, 1971).

L'étude de cette maladie de la carpe passe par la maîtrise de l'infection expérimentale. Cette dernière avait déjà été réalisée en température constante (+ 13 °C) (Ahne, 1978) dans un travail préliminaire d'observation des événements qui suivent la contamination de l'animal. Nous avons nous-mêmes repris les expériences précédentes, en nous préoccupant de suivre l'infection telle qu'elle pourrait se pro-

duire dans des conditions naturelles au cours de la saison froide et en essayant de relier les manifestations de l'infection aux variations de température simulant l'hivernage naturel (Baudouy *et al.*, 1979).

L'infection ainsi obtenue n'évoluait que très lentement, bien que tous les animaux fussent contaminés, et ne conduisait à la maladie aigüe que six mois plus tard. Il restait à montrer ce qui se passerait si l'infection était pratiquée au printemps, après que les poissons aient subi les conditions d'hivernage, en opérant, au moment de l'infection, à la même température (+ 11 °C) qu'en automne.

Matériel et Méthodes

1. Poissons

Les carpes, âgées de « 1 été », pesant en moyenne 50 grammes, proviennent d'un établissement indemne de VPC. Marquées individuellement à l'opercule, à l'aide de boucles « Presadom », elles sont détenues dans des aquariums de 40 l alimentés en circuit ouvert d'eau déchlorée à raison de 80 l/heure environ.

2. Virus

La souche de virus de la VPC nous a été confiée par le Dr Pfeil-Putzien (RFA). Elle est produite sur cultures cellulaires EPC (*Epithelioma papulosum Cyprini*), N. Fijan (données non publiées), maintenues à + 20 °C en milieu de Stoker. Les conditions de culture des cellules, de titrage du virus par la technique des plages sous agarose et les épreuves de séro-neutralisation ont déjà été décrites (De Kinke-lin et Le Berre, 1974). La mise en évidence du virus à partir des différents échantillons est réalisée sur des cellules âgées de 24 heures cultivées en plaque à 24 cupules (plaque de type Costar), chacune recevant un inoculum de 0,1 ml dilué au 1/10, dans du milieu de Stoker et incubées à + 20 °C pendant une semaine. Les cultures sont observées quotidiennement pour surveiller l'apparition éventuelle de l'effet cytopathogène.

3. Protocole expérimental

Comme dans notre précédent travail (Baudouy *et al.*, 1979), chaque groupe expérimental comprend 75 poissons (25 par aquarium).

Dans la série d'infection par bain, les poissons des deux premiers aquariums sont immergés dans 5×10^3 ufp/ml d'eau pendant 2 h ; le troisième aquarium recevant le même volume de Eagle sert de témoin.

Dans les infections par voie intrapéritonéale (IP), les carpes de deux aquariums sont inoculées avec 5×10^3 ufp sous un volume de 1 ml de milieu et les poissons témoins reçoivent le même volume de milieu.

La mortalité est observée jusqu'à disparition du cheptel infecté. Pendant cette période, les contrôles virologiques portent sur les branchies, le sang prélevé à l'artère caudale et l'excrétion virale.

Le rythme des contrôles effectués en alternance sur les aquariums est le suivant :

aquarium n° 1 : jours n° 1, 3, 8, 15, 30

aquarium n° 2 : jours n° 2, 4, 10, 22.

La recherche d'anticorps neutralisants n'a pu être réalisée compte tenu du fait que tous les poissons sont morts avant le délai normalment requis pour l'apparition de ceux-ci (7 semaines environ). En revanche, l'évolution de la virémie a été suivie quantitativement par le titrage de virus.

Les deux épreuves techniques importantes sont la biopsie branchiale et la mesure de l'excrétion virale. La première est réalisée par une aspiration à la pipette du liquide muqueux qui englobe les branchies et la seconde en immergeant les carpes individuellement pendant une heure dans un volume de 100 ml d'eau à partir de laquelle est effectué le prélèvement virologique.

La température de l'eau au moment des infections est de + 11 °C et subit, jusqu'à + 16 °C, l'évolution printanière naturelle indiquée sur les figures.

Résultats

Mortalités (fig. 1 et 2)

Dans les deux modes d'infection utilisés, on enregistre les premières mortalités au bout de 7 jours. Au 32^e jour, elles atteignent 100 p. 100 suite à l'infection IP et 80 p. 100 après l'infection par bain qui demande 50 jours pour tuer tous les animaux. La mortalité est donc plus rapide pour les poissons infectés par voie IP que par bain. D'autre part, quelle que soit la date de la mort des poissons et leur mode d'infection, les contrôles virologiques effectués sur les broyats de rein-rate et de cerveau ont toujours été positifs.

Enfin, aucune mortalité n'a été enregistrée chez les témoins.

Biopsie branchiale (fig. 1 et 2)

La mise en évidence du virus dans les branchies est réalisée au bout de 3 jours pour 10 p. 100 des poissons infectés par bain, et de 4 jours pour 35 p. 100 des animaux inoculés.

Au huitième jour, le virus est présent dans 100 p. 100 des branchies de tous les poissons et ce, jusqu'au bout de l'expérimentation.

Virémie (fig. 1 et 2)

La virémie est plus précoce après l'injection du virus (40 p. 100 d'animaux sont positifs au bout de 3 jours) qu'après la baignation (0 p. 100 dans le même temps).

Au quatrième jour, la différence entre les deux lots est encore importante (70 p. 100 par voie IP contre 100 p. 100 par bain). Cette différence demeure jusqu'au huitième jour (95 p. 100 pour les poissons baignés) et ne disparaît pratiquement qu'au dixième jour.

Excrétion virale (fig. 1 et 2)

La mesure de l'excrétion virale, par détection du virus dans l'eau ayant hébergé les animaux pendant une heure, n'a été réalisée que dans les lots de poissons infectés par bain.

La courbe d'émission du virus suit très parallèlement jusqu'à 10 jours la courbe de la virémie.

Puis, le quinzième jour, date à laquelle se déclenchent les mortalités, le virus n'est plus détecté dans l'eau alors qu'il est encore présent dans le sang de 80 p. 100 des poissons et dans les biopsies branchiales de tous les sujets.

Discussion

Dans les conditions de l'expérience, la mortalité simule celle de la maladie naturelle. Elle

est rapide par rapport à celle obtenue lors des contaminations d'automne (Baudouy *et al.*, 1979), qui évolue beaucoup plus lentement pour ne s'accélérer qu'au printemps, situation qui est résumée par la figure 3.

Les résultats obtenus avec les biopsies branchiales tendent à prouver que cet organe est un bon indicateur de l'état d'infection (100 % en 8 jours).

Dans l'infection balnéatoire, le décalage entre l'infection branchiale et la virémie plus tardive, confirme ce qui a déjà été observé

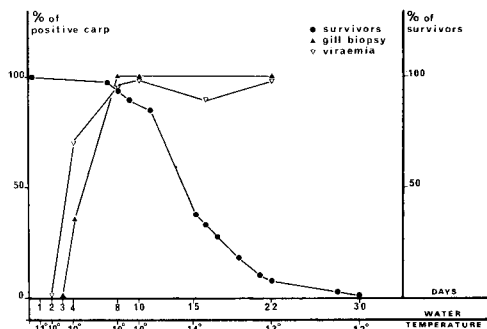


Fig. 2. — Résultats d'infection de carpes injectées par voie intrapéritonéale avec 5×10^3 ufp/ml de VPC (mêmes variations thermiques et jours de prélèvements que la figure 1).

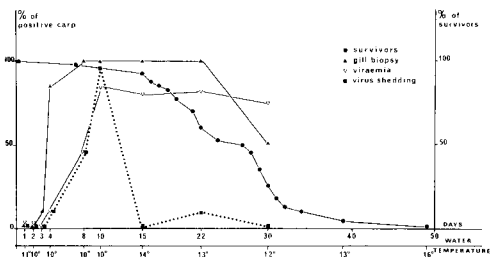


Fig. 1. — Résultats d'infection balnéatoire de 50 carpes avec 5×10^3 ufp de virus de la VPC par ml d'eau pendant deux heures à $+11^\circ\text{C}$, en température printanière croissante jusqu'à $+16^\circ\text{C}$. Chaque courbe représente les réponses individuelles des deux groupes de 20 poissons, soumis en alternance aux prélèvements virologiques aux jours indiqués, 10 poissons servant à vérifier que les mortalités ne sont pas dues aux manipulations.

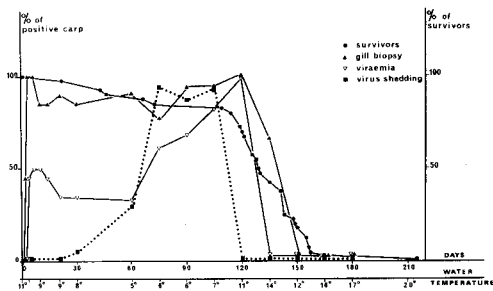


Fig. 3. — Résultats d'infection balnéatoire de 50 carpes avec 5×10^3 ufp de virus de la VPC par ml d'eau pendant deux heures à $+11^\circ\text{C}$. La température de l'eau est descendue jusqu'à $+5^\circ\text{C}$ en 60 jours et est remontée progressivement jusqu'à $+20^\circ\text{C}$ en 210 jours.

Chaque courbe représente les réponses individuelles des deux groupes de 20 poissons, soumis en alternance aux prélèvements virologiques aux jours indiqués, 10 poissons servant à vérifier que les mortalités ne sont pas dues aux manipulations.

dans les infections hivernales (Ahne, 1978 ; Baudouy *et al.*, 1979) : la multiplication primaire du virus dans cet organe précède l'atteinte des cellules cibles profondes apparemment situées dans le rein (cellules interstitielles dans un premier temps et cellules des néphrons ensuite) et dans la rate.

Dans l'infection parentérale, la quantité de virus injectée et la voie d'introduction font que les cellules cibles sont touchées immédiatement, entraînant une évolution parallèle de la virémie et de l'infection branchiale, la virémie précédant même l'infection branchiale.

D'autre part, on ne peut pas dire que le décalage entre l'apparition du virus dans les branchies des deux groupes soit significatif.

La montée de la virémie, qu'elle soit obtenue d'emblée par l'injection du virus ou par balnéation simulante mieux la maladie naturelle, traduit la généralisation de l'infection. Dans les deux cas, c'est lorsque la virémie atteint le maximum, tant en intensité individuelle, qu'en fréquence que les mortalités s'accroissent et éliminent tous les animaux.

La fréquence de l'excrétion virale augmente parallèlement à celle de la virémie ; ce qui apparaît logique car si la virémie traduit l'atteinte des cellules cibles, les cellules rénales sont atteintes en priorité et c'est l'excrétion urinaire qui doit être alors décelée.

A partir d'un certain moment, bien que la virémie soit à son maximum et que les mortalités débutent, on ne détecte plus d'excrétion virale. Ce fait a déjà été constaté lors des infections hivernales. On peut émettre l'hypothèse explicative suivante : à partir d'un certain stade lésionnel, l'émission d'urine ne se fait plus, ou se fait mal, et l'excrétion virale est donc entravée. Une autre voie possible de dissémination du virus, évoquée par Ahne (1978) est la voie intestinale ; or, au moment des mortalités, les poissons ne s'alimentent plus et les fécès éventuellement contaminés disparaissent.

D'une manière globale, la différence entre la contamination de printemps chez les animaux

ayant subi l'hivernage et la contamination d'automne chez les animaux de même origine réside dans le délai d'apparition des mortalités mais l'évolution chronologique des événements est la même et dans les deux cas la maladie clinique survient au printemps.

Cependant, les carpes contaminées au printemps sont immédiatement sensibles. Ceci se traduit par des pourcentages maxima d'animaux positifs pour la virémie et l'excrétion virale, atteints 6 à 8 fois plus rapidement (fig. 1) que ceux des animaux contaminés en automne (fig. 3) alors que dans les deux cas on se trouve sensiblement dans la même situation 8 jours après l'infection. Il semble alors que la diminution de la température freine l'évolution de l'infection puisqu'il faut 75 jours pour retrouver les valeurs qu'on obtient en 10 jours après l'infection de printemps.

En revanche, au niveau individuel l'expression des indices d'infection est la même dans les deux cas. Le contrôle branchial témoigne de l'infection de l'animal et l'élévation de la virémie de son pronostic fatal.

L'évolution de la maladie expérimentale se traduit donc par une courbe de survie qui suggérerait que les animaux sont plus sensibles et réceptifs à + 11 °C après l'hivernage qu'au sortir de l'été où à la même température, ils semblaient réfractaires.

Cependant, nos résultats ne permettent pas encore de trancher entre un retard dû à un ralentissement de la physiologie cellulaire diminuant la synthèse de virus ou à l'effet de réactions de défense encore actives lorsque le poisson sort des conditions estivales. L'influence de la température sur la réaction immunitaire a été bien démontrée chez la carpe (Avtalion *et al.*, 1973), et en particulier le ralentissement ou même la suppression de la synthèse d'anticorps aux basses températures.

Des expériences complémentaires comportant des infections à des températures régulières permettront d'apporter l'explication.

Accepté pour publication, le 4 avril 1980.

Résumé

L'infection de carpes de 50 g, effectuée à + 11 °C, au sortir de l'hivernage et à température progressivement croissante, a été réalisée pour préciser certains aspects pathogéniques de la maladie, déjà esquissés lors d'essais de contamination faits en automne. Au printemps, les carpes infectées par voie balnéatoire (2 heures dans 5×10^3 ufp/ml d'eau) ou par injection intrapérito-

néale (5×10^3 /poisson) sont immédiatement sensibles à la maladie. Les indices d'infection (branchies, virémie, dissémination du virus) évoluent 4 fois plus vite que chez les animaux contaminés à la même température mais en automne.

La présence de virus dans la branchie est le premier signe de l'infection, la virémie signe l'atteinte des cellules cibles profondes de la rate et du rein et son augmentation est d'un pronostic fatal.

Références

- AHNE W., 1978. Uptake and multiplication of spring viraemia of carps virus in carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Dis.*, **1**, 265-268.
- AVTALION R.A., WOJDANI A., MALIK Z., SHAHRABANI R., DUCZYMINER M., 1973. Influence of environmental temperature on the immune response in fish. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **61**, 1-35.
- BAUDOUY A.M., DANTON M., MERLE G., 1979. Experimental infection of susceptible carp fingerlings with spring viraemia of carp virus, under wintering environmental conditions. *Proceeding of the third session of Cooperation Programme of Research for Aquaculture*. « Sous presse ».
- FIJAN N., PETRINEC, SULIMANOVIC D., ZWILLENBERG L.O., 1971. Isolation of viral causative agent from the acute form of infection dropsy of carp. *Vet. Archiv.*, **41**, 125-135.
- DE KINKELIN P., LE BERRE M., 1974. Rhabdovirus des Poissons. II — Propriétés in vitro du virus de la Virémie Printanière de la Carpe. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* **125 A**, 113-124.