



HAL
open science

Expression du virus Visna-Maedi dans les sécrétions mammaires d'une brebis séropositive lors d'une gestation puis d'une induction artificielle de lactation

R Ouzrout, C Lerondelle

► **To cite this version:**

R Ouzrout, C Lerondelle. Expression du virus Visna-Maedi dans les sécrétions mammaires d'une brebis séropositive lors d'une gestation puis d'une induction artificielle de lactation. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1990, 21 (1), pp.69-73. hal-00901922

HAL Id: hal-00901922

<https://hal.science/hal-00901922v1>

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.

Expression du virus Visna-Maedi dans les sécrétions mammaires d'une brebis séropositive lors d'une gestation puis d'une induction artificielle de lactation

R Ouzrout, C Lerondelle

INRA, Laboratoire associé de recherches sur la pathologie des petits ruminants,
Ecole nationale vétérinaire de Lyon, BP 83, 69280 Marcy l'Étoile, France

(Reçu le 18 février 1989; accepté le 7 juin 1989)

Résumé — Les lentivirus des petits ruminants ont pour cible les cellules de la lignée monocytes-macrophages. L'expression du virus dans les macrophages est très liée à la physiologie de l'animal. Chez une brebis gestante séropositive pour le virus Visna, nous avons suivi l'apparition des cellules infectieuses dans les sécrétions mammaires, dans le colostrum et dans le lait. Chez le même animal, une induction hormonale de lactation induit encore l'apparition de cellules infectieuses dans les sécrétions mammaires. La mise en évidence du virus est très en rapport avec la teneur des sécrétions en macrophages. C'est au moment où les sécrétions mammaires contiennent beaucoup de macrophages, en fin de tarissement et en période colostrale que le virus est mis le plus facilement en évidence.

virus Visna-Maedi / ovin / sécrétion mammaire

Summary — **Expression of Visna-Maedi virus in mammary secretions of a seropositive ewe during gestation and an artificial induction of lactation.** *Lentiviruses in small ruminants are specially harboured in the mononuclear phagocyte lineage. The virus expression in macrophages is strictly correlated with physiological events of the reproduction life of the host. In a pregnant ewe, Visna-Maedi seropositive, we cultivated infectious cells from mammary secretions, colostrum and milk. In the same animal, a hormonally induced artificial lactation produced the same increase of infectious macrophages in mammary secretions. The virus is more easily obtained by coculture of milk macrophages when the number of macrophages is higher in mammary secretions.*

Visna-Maedi virus / ovine / mammary secretion

INTRODUCTION

La forme mammaire de l'infection par les lentivirus des petits ruminants a été récemment mise en évidence (Zwahlen *et al*, 1983; Dawson, 1987; van der Molen et Houwers, 1987; Lerondelle, 1988). Ces

mammites cliniques ou subcliniques ont une incidence économique importante puisque la production de colostrum (mammite interstitielle aiguë) est presque totalement supprimée ou que la production laitière est partiellement diminuée (mammite interstitielle chronique).

Les cellules de la lignée monocytes-macrophages représentent la cible du virus et le moyen de diffusion de l'infection d'animal à animal. Les macrophages du colostrum et du lait constituent un très bon matériel pour l'isolement du virus. L'expression du virus est faible ou nulle dans les monocytes infectés. Mais, au moment de la parturition, le nombre des monocytes infectieux augmente dans le sang. Et c'est aussi à cette période que les sécrétions mammaires contiennent le plus de cellules infectieuses. Lors d'une induction artificielle de lactation chez des chèvres tarées, on retrouve l'expression accrue du virus dans les monocytes du sang et dans les macrophages du colostrum et du lait.

Lors de la lactogénèse terminant une gestation puis lors d'une induction artificielle de lactation, nous avons mis en évidence des cellules infectées dans le colostrum et le lait chez une brebis séropositive pour l'antigène Maedi.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Animal

L'étude a porté sur une brebis Lacaune âgée de 3 ans, gestante. Le diagnostic de gestation a été confirmé par échographie. Les sécrétions mammaires ont été prélevées avant la mise-bas puis après, alors que la brebis allaitait un agneau. Après 2,5 mois de tarissement, une lactation artificielle a été induite et des prélèvements identiques ont été réalisés.

Induction de lactation

L'animal a reçu pendant 7 jours 0,5 mg/kg/j d'œstradiol 17 β et 1,25 mg/kg/j de progestérogène (Laboratoires Roussel, 92230 Romainville) en solution alcoolique, injectés par voie sous-cutanée à demi-dose toutes les 12 h. Aux 18,

19 et 20^e j après la première injection, l'animal recevait 25 mg/j d'hydrocortisone (Laboratoires Roussel, 92230 Romainville) par voie intramusculaire, à demi-dose toutes les 12 h (Delouis *et al*, 1978). La brebis était traitée à la main à partir du 21^e j.

Examen bactériologique

Les sécrétions mammaires ont été prélevées après désinfection de l'extrémité des trayons. Un aliquot (0,025 ml) de chaque échantillon était 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.

Sérologie

La technique ELISA (Vitu *et al*, 1982) a été utilisée pour rechercher les anticorps anti-virus Maedi dans le lait après l'induction artificielle de lactation. Les échantillons étaient dilués au 1/100 dans du PBS Tween. Les résultats étaient exprimés en densité optique.

Mise en culture des cellules du lait

Au cours de la gestation et de la phase d'allaitement (3 mois) une vingtaine de prélèvements ont été analysés. Lors de l'induction artificielle de lactation, nous avons étudié une quinzaine de prélèvements sur une période de 20 j.

Les prélèvements de lait ont été centrifugés (500 g, 10 min, + 4 °C) après addition de 30 ml de tampon phosphate. La matière grasse et le surnageant ont été éliminés. Les cellules ont été lavées par centrifugation (300 g, 6 min, + 4 °C) dans 15 ml de milieu de Eagle pour cellules en suspension. Le culot a été remis en suspension dans du MEM + 10% de sérum de veau fœtal en présence d'antibiotiques (gentamycine 100 μ g/ml, amphotéricine B 2,5 μ g/ml). La concentration a été ajustée à 2×10^6 cellules/ml, la suspension distribuée dans des plaques 24 puits pour culture de tissus et incubée à 37 °C en atmosphère de CO₂. Une h après, les plaques sont rincées et le milieu est remplacé par du

MEM + 20% de sérum de chèvre. La quantité de lait analysée dépend du nombre de cellules dans les sécrétions et variait avec les différentes phases de la lactation (environ 5 ml de colostrum ou sécrétions de tarissement et 10 ml de lait).

Examen cytologique

La suspension (100 µl) à la concentration de 2×10^6 cellules/ml a été cytocentrifugée. Les cellules ont été identifiées après coloration au May Grunwald Giemsa. Les résultats ont été exprimés en pourcentage par rapport à un total de 100 cellules.

Isolement du virus

Des fibroblastes de chèvre (4×10^5 cellules/ml), sensibles au virus Maedi, ont été ajoutés aux cellules du lait après 2 j d'incubation à 37 °C en atmosphère de CO₂. L'incubation est poursuivie pendant 5 à 7 j. Le tapis cellulaire a été subcultivé et la plaque initiale colorée au May Grunwald Giemsa.

RÉSULTATS

Mise en évidence du virus dans les cellules du lait au terme d'une gestation

Dans les sécrétions mammaires, le nombre et la nature des cellules ont évolué avec la lactation : après la mise-bas, la proportion de monocytes-macrophages a diminué en faveur des neutrophiles polynucléés (fig 1), le nombre de lymphocytes restant pratiquement constant. Le virus a été mis en évidence dans 12 des 14 échantillons de lait étudiés. La production de cellules infectées a commencé 10 j avant la mise-bas et s'est maintenue 2 mois après celle-ci. Neuf semaines après la parturition, le lait ne contenait plus de cellules productrices de virus.

Dans la série des prélèvements, 2 échantillons n'ont pas permis d'isoler du virus : 32 et 39 j après la mise en route de la lactation. Les prélèvements de lait contenaient un petit nombre de cellules (6×10^5 cellules/ml) et un faible pourcentage (5–6%) de macrophages.

Mise en évidence du virus dans les cellules du lait lors d'une induction artificielle de lactation

Avant la lactogenèse, la sécrétion mammaire, faible en quantité mais riche en cellules ne contenait pas de virus. Après les injections d'hydrocortisone, la quantité et la qualité de la sécrétion mammaire ont changé et les macrophages mis en coculture ont provoqué la formation de syncytia dans les cellules indicatrices. Le nombre de cellules productrices de virus était très élevé dans la semaine qui suivait la série d'injections de cortisone puis a diminué. Dans le lait, le nombre de macrophages a diminué tandis que celui des polynucléaires a augmenté (fig 2).

Le taux d'anticorps anti-virus Maedi dans le lait a diminué régulièrement après la mise à la traite.

DISCUSSION

Chez les petits ruminants, la mamelle est un site de réplication des rétrovirus, CAEV ou Visna-Maedi (Lerondelle *et al*, 1989). Notre étude a permis de préciser cette notion et de mettre en évidence le virus à partir des cellules des sécrétions mammaires juste avant la mise-bas, du colostrum et du lait pendant une partie de la lactation, sur une brebis. Pendant la période de tarissement, la mise en évidence du virus n'est pas toujours possible car les sé-

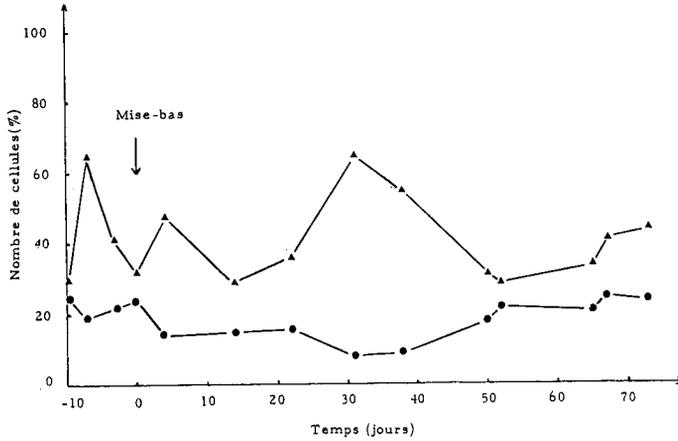


Fig 1. Analyse des populations cellulaires dans le lait lors d'une lactation :
 ▲—▲ polynucléaires;
 ●—● macrophages + monocytes.

crétions mammaires sont en très faible quantité et les cellules qu'elles renferment peu viables. La mamelle est un organe dont les cellules se renouvellent selon des cycles physiologiques liés à la lactation. La mise-bas est une période où le remaniement cellulaire est très important. C'est également à ce moment que le virus s'exprime dans le lait en grande quantité, mais aussi dans le sang. Lors d'une gestation, la parturition est déclenchée par les hormones cortico-surréaliennes. Cette action est mimée lors de l'induction de lactation par l'hydrocortisone. Avant l'injection de cortisone, le virus n'est pas mis en évidence. Après l'injection, il s'exprime rapidement et en grande quantité dans le lait et dans le sang. Ceci suggère que les corticoïdes, naturels lors d'une mise-bas, ou artificiels lors d'une induction de lactation, interviennent pour permettre l'expression du virus, soit directement, soit en modifiant les monocytes-macrophages infectés (Charley *et al*, 1987).

Au cours d'une lactogénèse normale, le pourcentage de macrophages est très élevé dans la sécrétion mammaire, comme dans le lait obtenu dans la semaine suivant les injections d'hydrocortisone. Cette

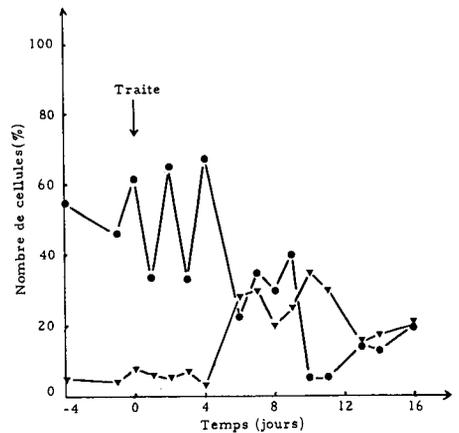


Fig 2. Analyse des populations cellulaires dans le lait après une induction de lactation :
 ▼—▼ polynucléaires;
 ●—● macrophages + monocytes.

proportion diminue rapidement en faveur des neutrophiles polynucléés. L'isolement du virus est plus fréquent dans les sécrétions mammaires de fin de tarissement et le colostrum, sans doute parce qu'elles contiennent plus de macrophages, mais aussi vraisemblablement par l'action des corticoïdes sur l'expression du virus dans les cellules cibles.

Dans les conditions naturelles, le colostrum constitue la source de l'infection pour les agneaux dont le tube digestif est perméable aux cellules maternelles pendant les premières heures de la vie. La prophylaxie de l'infection des petits ruminants par les lentivirus repose avec efficacité sur la séparation du jeune dès la naissance et l'administration de colostrum dont les cellules contenant le virus ont été détruites par chauffage.

RÉFÉRENCES

- Charley 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 Vét* 18, 245-248
- Dawson M (1987) Pathogenesis of Maedi-Visna. *Vet Rec* 120, 451-454
- Delouis C, Djiane J, Kann G, Terqui P, Head HH (1978) Induced lactation in cows and heifers by short-term treatment with steroid hormones. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 18, 721-734
- Lerondelle C (1988) L'infection de la mamelle par le virus de l'arthrite et de l'encéphalite de la chèvre (CAEV). *Sci Vét Méd Comp* 90, 139-143
- Lerondelle C, Fleury C, Vialard J (1989) La glande mammaire : organe cible de l'infection par le virus de l'arthrite et de l'encéphalite caprine. *Ann Rech Vét* 20, 57-64
- van der Molen EJ, Houwers DJ (1987) Indurative lymphocytic mastitis in sheep after experimental infection with Maedi-Visna virus. *Vet Quart* 9, 193-202
- Vitu C, Russo P, Filippi P, Vigne R, Querat G, Giauffret A (1982) Une technique ELISA pour la détection des anticorps anti-virus Maedi-Visna. Étude comparative avec l'immunodiffusion en gélose et la fixation du complément. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 5, 469-481
- Zwahlen R, Aeschbacher M, Balcer TH *et al* (1983) Lentivirusinfektionen bei Zeigen mit Carpitus und interstitieller Mastitis. *Schweiz Arch Tierheilk* 125, 281-299