

LA FIEVRE CATARRHALE DU MOUTON SUR L'ILE DE LA REUNION

**Corinne Sailleau¹, Emmanuel Bréard¹, Jean-Marie Gourreau²,
Thierry Galibert³ et Stéphan Zientara¹**

RESUME : Cet article décrit un foyer de fièvre catarrhale ovine apparu sur l'île de la Réunion au mois de juillet 2003. Les outils de diagnostic moléculaire, largement développés au laboratoire depuis l'émergence de la maladie en Europe en 1998, ont pu être utilisés lors de cette étude. Le virus incriminé a pu être identifié très rapidement grâce aux techniques d'amplification génique par amplifications géniques (PCR) spécifiques de groupe et de type couplées à la détermination de la séquence nucléotidique des gènes amplifiés. La souche virale (de sérotype 3) n'a pu être isolée sur œufs embryonnés et culture cellulaire que quelques semaines plus tard. La séroneutralisation à l'aide des 24 antisérums spécifiques a permis de confirmer le sérotype du virus. De plus, des données sérologiques et moléculaires permettent de penser que d'autres sérotypes circulent sur l'île.

Mots-clés : Fièvre catarrhale ovine, diagnostic moléculaire.

SUMMARY : This paper describes outbreaks of bluetongue (BT) in July 2003 in the french La Réunion Island. The molecular tools (which have been developed in our laboratory since the emergence of this infection in Europe in 1998) have been used. The virus has been quickly identified by specific group RT-PCR and typed by specific type RT-PCR. The nucleotide sequences of the amplified products have been determined. The infectious BT virus (serotype 3) has been isolated on embryonating chicken eggs and cell cultures a few weeks later. The serotype has been confirmed by virus neutralization test (using the 24 antisera). Moreover, serological and epidemiological data seem to indicate that other BT serotypes circulate on the Island.

Keywords : Bluetongue, molecular diagnosis.



La fièvre catarrhale du mouton ou « Bluetongue » est une arbovirose transmise par des arthropodes hématophages du genre *Culicoides*. Cette maladie est réapparue en Europe en 1998 après 19 ans d'absence. L'apparition de cette maladie en 2000 et 2001 en Corse [Zientara *et al.*, 2000] a incité l'AFSSA (laboratoire de référence français pour le diagnostic de la maladie, associé au CIRAD) à améliorer les techniques de diagnostic de cette maladie [Bréard *et al.*, 2003; Zientara *et al.*, 2002]. Depuis, deux nouvelles épizooties ont eu lieu en Corse en 2003 et 2004 [Bréard *et al.*, 2004]. Outre les techniques conventionnelles, les outils moléculaires développés ont pu être appliqués

au diagnostic de la maladie réapparue sur l'île de la Réunion en août 2003.

Fin juillet, dans un élevage situé à St Benoît (figure 1), des moutons de race Mérinos (importés un an plus tôt) ont présenté des signes cliniques évocateurs de la fièvre catarrhale ovine. Vingt six animaux sur les cent présents dans l'élevage ont présenté de l'hyperthermie, une inflammation des narines et des lèvres évoluant en croûtes, des ulcères sur la langue et les parois de la cavité buccale (figure 2) et des lésions dans l'espace interdigital des quatre pieds. Aucune mortalité n'a été signalée. Un arrêté préfectoral de mise sous surveillance de l'élevage, impliquant une interdiction de déplacement des animaux, a alors été pris.

¹ UMR 1161, AFSSA-INRA-ENVA, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 22 rue Pierre Curie, 94703, Maisons-Alfort, France

² Unité d'épidémiologie, AFSSA, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 22 rue Pierre Curie, 94703, Maisons-Alfort, France

³ Direction départementale des services vétérinaires, Parc de la Providence, 97488 St Denis Cedex, Réunion

Figure 1

Localisation du foyer de fièvre catarrhale sur l'île de la Réunion

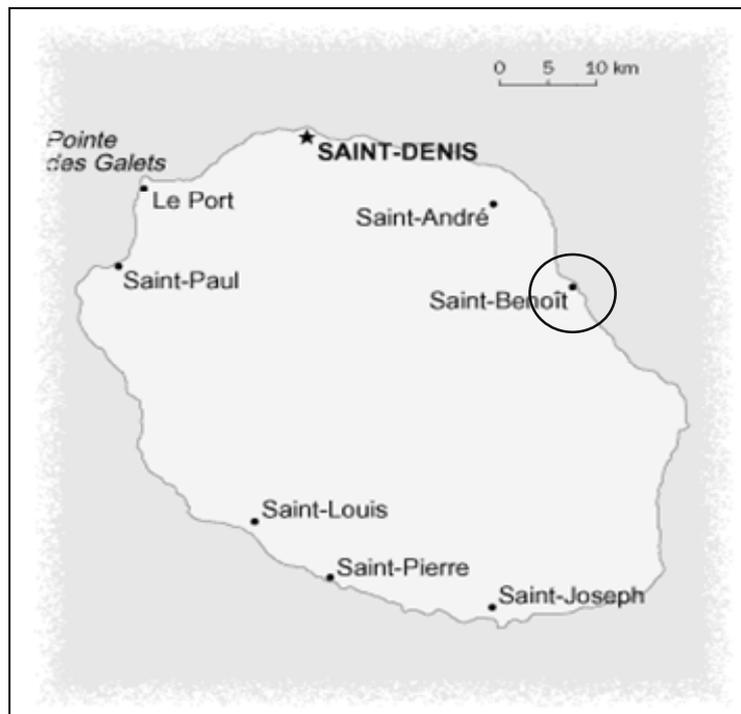


Figure 2

Congestion buccale, présence d'hémorragies et d'ulcères sur la langue et les parois de la cavité buccale (Photo B. Malivert)



Des prélèvements de sang ont été expédiés à l'AFSSA, dès l'apparition des premiers symptômes. Plusieurs types d'analyses ont été réalisées :

- **l'inoculation intra-veineuse aux œufs embryonnés** [Clavijo *et al.*, 2000] des sangs (après lavage et hémolyse des hématies), suivie de trois passages sur cellules BHK 21. Aucun virus n'a pu être isolé à partir de ces prélèvements, très certainement en raison de mauvaises conditions de conservation ;
- **l'amplification génique (PCR)** réalisée à l'aide d'amorces spécifiques des segments génomiques 7 (S7) et 10 (S10) du virus de la Bluetongue [Bréard *et al.*, 2003 ; Bréard *et al.*, 2004] (codant respectivement les protéines spécifiques de groupe VP7 et NS3). L'utilisation de ces deux PCR permet le diagnostic des 24 sérotypes du virus. Sur les 15 prélèvements reçus, 9 se sont révélés positifs pour les deux cibles

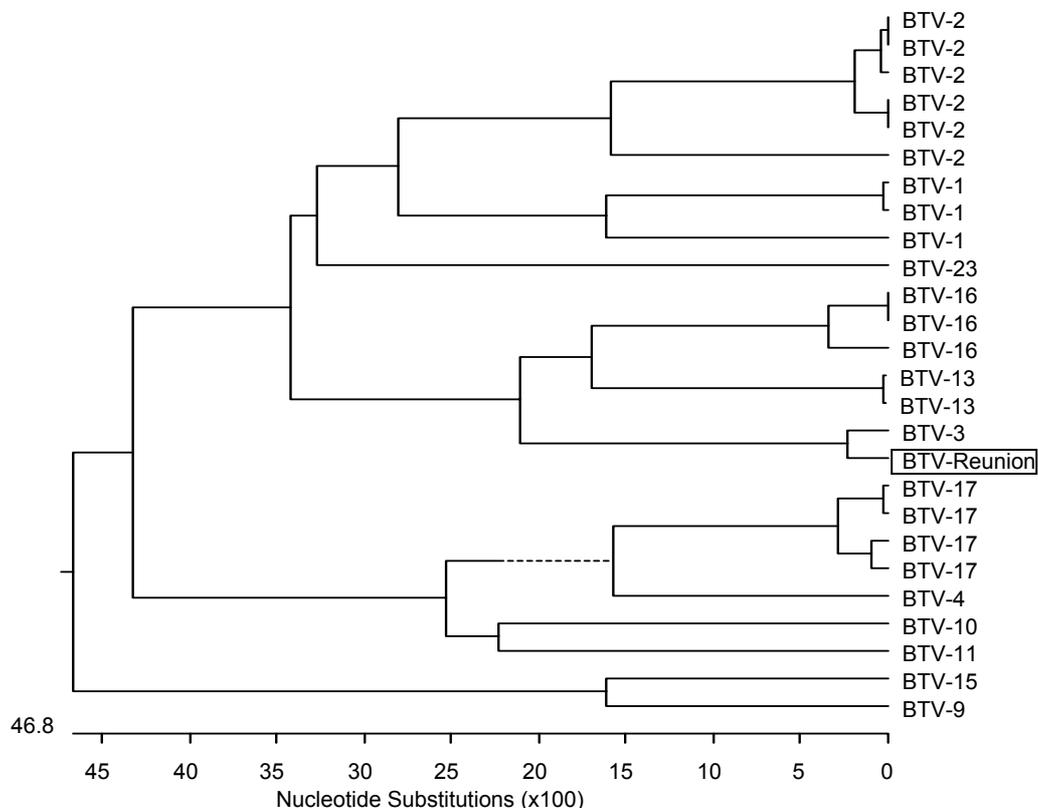
génomiques. Parallèlement, une PCR utilisant des amorces sélectionnées sur le segment 2 (codant la protéine VP2-spécifique de type-) a été réalisée sur certains prélèvements et a permis l'amplification d'une région génomique ;

- **la détermination des séquences nucléotidiques** des produits amplifiés. Les séquences obtenues et analysées à l'aide du logiciel BLASTN 2.2.6 (NCBI) ont permis de confirmer la présence du génome du virus de la Bluetongue. Le séquençage de l'ADN amplifié à l'aide des amorces du segment génomique 2 a conduit à la forte présomption du type viral incriminé : le sérotype 3 (figure 3). En effet, l'alignement de la séquence obtenue avec celles présentes dans la banque de donnée GenBank a montré que la plus forte homologie était de 96% avec une souche de BTV sérotype 3.

Figure 3

Dendrogramme montrant les relations génétiques entre la séquence du gène 2 du virus isolé à la Réunion et les séquences du même gène présentes sur GenBank.

(BTV-x = virus de la Bluetongue de sérotype x)



A la suite de ces résultats, de nouveaux prélèvements nous sont parvenus en vue d'analyses sérologiques et de l'isolement du virus. Sur les 32 sérums prélevés sur les animaux de l'élevage, 22 ont fourni une réponse sérologique positive (kit ELISA, VMRD). L'isolement du virus a été obtenu, cette fois-ci, après un passage sur œufs embryonnés suivi de deux passages sur cellules BHK 21. L'identification a été réalisée par PCR et la détermination du sérotype, par neutralisation virale à l'aide des 24 antisérums spécifiques [OIE, 2000]. Ainsi, les résultats obtenus quelques semaines plus tôt, à l'aide des outils moléculaires (PCR + séquence nucléotidique) ont pu être confirmés par les techniques conventionnelles.

Ces résultats ont depuis été confirmés par le laboratoire de l'« Institute for Animal Health » de Pirbright (Laboratoire mondial de référence de la Bluetongue).

Des analyses sérologiques et moléculaires complémentaires ont permis d'écarter l'hypothèse d'infection par le virus de la maladie hémorragique du cerf (orbivirose très proche de la Bluetongue) qui avait, sur cette même île, causé d'importants problèmes sur les cheptels bovins de janvier à mars 2003.

La Direction générale de l'alimentation a déclaré le foyer à l'OIE le 2 octobre 2003. Cependant, compte tenu de la situation géographique de l'île et eu égard aux procédures de régionalisation du chapitre 1.3.5

du Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE), la France continentale a conservé son statut indemne de la maladie.

La présence du virus de la fièvre catarrhale ovine n'avait été rapportée dans cette île que de 1974 à 1977 et en 1979. La localisation géographique de la Réunion (21° parallèle Sud), le climat et la proximité de l'Afrique (continent infecté de façon enzootique par 21 sérotypes) en font un territoire propice à l'apparition de la maladie. La faible occurrence des manifestations cliniques serait expliquée par le petit nombre d'ovins présents sur l'île (2 000 animaux répartis dans 18 élevages). Des études sérologiques récemment réalisées dans notre laboratoire ont montré que le virus de la Bluetongue circulait chez les bovins en 2002. Ces derniers animaux sont porteurs sains et constituent le réservoir du virus.

De plus, la circulation d'autres sérotypes sur l'île est fortement suspectée. En effet, en mars 2003, à partir de prélèvements réalisés sur deux ovins présentant des symptômes évocateurs de la Bluetongue, des produits PCR spécifiques ont été obtenus : l'analyse des séquences nucléotidiques a montré une divergence importante (20%) avec les séquences obtenues sur la souche de BTV 3 isolée en septembre. L'échec de l'isolement viral n'a pas permis de confirmer cette suspicion en mars, mais les résultats de séquences laissent à penser qu'un autre sérotype était impliqué.

BIBLIOGRAPHIE

Bréard E., Sailleau C., Coupier H., Mure-Ravaud K., Hammoumi S., Gicquel B., Hamblin C., Dubourget P., Zientara S. - Comparison of genome segments 2, 7 and 10 of bluetongue viruses serotype 2 for differentiation between field isolates and the vaccine strain. *Vet. Res.*, 2003, **34**, 1-13.

Bréard E., Hamblin C., Hammoumi S., Sailleau C., Dauphin G., Zientara S. - The epidemiology and diagnosis of bluetongue with particular reference to Corsica. *Res. Vet. Sci.*, 2004, **77**(1), 1-8.

Clavijo A., Heckert R.A., Dulac G.C., Afshar A. - Isolation and identification of Bluetongue virus. *Journal of Virological Methods*, 2000, **87**, 13-23.

OIE - Manual of standards for diagnostic tests and vaccine. Office international des epizooties, Paris (France), 2000.

Zientara S., De la Rocque S., Gourreau J.M., Gregory M., Diallo A., Hendrikx P., Libeau G., Sailleau C., Delecalle J.C. - La fièvre catarrhale ovine en Corse en 2000. *Epidémiol. Santé anim.*, 2000, **38**, 133-144.

Zientara S., Sailleau C., Dauphin G., Roquier C., Remond E.M., Lebreton F., Hammoumi S., Dubois E., Agier C., Merle G., Breard E. - Identification of bluetongue virus serotype 2 (Corsican strain) by reverse-transcriptase PCR reaction analysis of segment 2 of the genome. *Vet. Rec.*, 2002, **11**, 150(19), 598-601.

