

2V0001125

020

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLES (I.S.R.A.)

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES

DAKAR-HANN

DIAGNOSTIC RAPIDE DE LA PESTE BOVINE
ET DE LA PESTE DES PETITS RUMINANTS
PAR IMMUNO-ELECTROSYNESE

SARR (S.)

REF. N° 81/VIRO

SEPTEMBRE 1984

DIAGNOSTIC RAPIDE DE LA PESTE BOVINE
ETUDE LA PESTE DES PETITS RUMINANTS
PAR IMMUNO-ELECTROSYNERESE

J. SARR, M. DIOP

INTRODUCTION

L'immuno-électrosynerèse ou encore contre immuno-électrophorèse est une technique décrite en 1959 par BUSSARD (1) reprise par HOWE et COLL en 1967 (6). Elle consiste à appliquer à la double diffusion en gélée d'Ouchterlony, un courant constant de forte tension,

Depuis 1971, cette technique a été couramment utilisée dans la mise en évidence de l'antigène australien dans l'hépatite virale de type B chez l'homme (12) et pour la diagnostic de viroses animales et humaines les plus diverses (3, 10, 11).

Nous rapportons dans ce travail, les résultats de l'utilisation de cette technique au diagnostic virologique et sérologique de la peste bovine (PB) et de la peste des Petits Ruminants (PPR) permettant ainsi aux agents de l'Elevage qui travaillent sur le terrain, de connaître le résultat du diagnostic une heure après l'arrivée du prélèvement au Laboratoire.

I - MATERIEL ET METHODE

1°) Antigène de référence

Une culture primaire ou secondaire de cellules rénales de fœtus de bovin en boîte de Roux (300 cm²) dont le tapis est confluent, est inoculée avec 2 ml d'une suspension de virus bovipestique souche Kabete "Ou (7)", titrant au moins 10⁵ UIC/50.

Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du Laboratoire, on ajoute pour chaque boîte 100 ml de Earle croissance contenant 2 % de sérum de veau. Puis elles sont remises à l'étuve à 37 °C et observées tous les jours.

Les boîtes sont congelées lorsque le tapis cellulaire est détruit à 40 %. Après décongélation et centrifugation à 3 500 trs/mm pendant 15 minutes pour éliminer les débris cellulaires, l'antigène précipitant est extrait du surnageant

.../...

selon le technique de HAFEZ et COIL (5).

L'Antigène ainsi obtenu, est additionné de 25 % de mist dessican, puis lyophilisé.

Antigène-à-tes ter

Les prélèvements d'organe (foie, rate, ganglion, poumon, muqueuse intestinale etc.,) sont soigneusement découpés, broyés au mixter (Virtis) sous glace, mis en suspension dans un égal volume de tampon d'électrophorèse préalablement réfrigéré.

Après centrifugation sous froid (+4°C) à 3 500 trs/mn pendant 30 minutes, le surnageant est recueilli et constitue l'antigène.

L'antisérum

C'est un sérum de lapin précipitant le virus de la peste bovine gracieusement offert par la FAO.

Technique utilisée

On prépare deux solutions d'agarose (Biorad) avec le tampon d'électrophorèse véronal 0,02 M ph 8,6 sans NaCl, de force ionique 0,05 (2).

- une solution à 0,5 %

- une solution à 1 %.

Sur des lames bien dégraissées (25 x 75 mm) on étale 1 goutte de la solution à 0,5 %.

On laisse sécher et l'on rajoute 3 ml de la solution à 1 %

Puis on réalise des puits de 2 - 4 mm de diamètre séparés de 1,5 à 2 cm.

L'antigène est mis dans les puits situés du côté de la cathode et l'immu-sérum vers l'anode.

Un courant de 12 mA est appliqué pendant 30 minutes.

RESULTATS

a) - Immuno-électrocynarèse

- l'immunsérum a été testé à différentes dilutions contre :

- l'antigène de culture cellulaire (Ag de référence) (tableau n°1)

- le poumon, la rate, le ganglion mésentérique d'un chevreau suspect de peste des Petits Ruminants . (tableau n° 2)

- la rate et le ganglion de bovin suspect de peste bovine. (tableau n° 3)

b) - Isolement de virus

Le virus de la peste **bovine** a été isolé sur le ganglion du bovin suspect. **La rate** est restée négative après cinq passages successifs sur culture cellulaire de rein de fœtus bovin.

Chez le chevreau, seul, un Adénovirus a été isolé à la fois au niveau de la rate, de la muqueuse intestinale et du poumon.

.../...

TABLEAU N° 1 : SÉRUM-CONTRE ANTIGÈNE DE CULTURE CELLULAIRE

Ag. Culture cellulaire	DILUTIONS DE L'IMMUNOSÉRUM					
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Fur	+	+	+	-	-	
1/2	+	+	+	+	+	
1/4	-	-	-	+	+	
1/8		-			±	

* NT : non testé

TABEAU N°2 : IMMUNSERUM CONTRE BROCHAT DE: RATE, POUMONS, GANGLION DE CHEVREAU
SUSPECT DE PPR

Ag. en provenance du chevreau suspect de PPR	DILUTIONS DE L'IMMUNSERUM					
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
<u>RATE</u>						
- pur	-	-	+	+	+	
- 1/2	-	-		+	+	
- 1/4	-	-			-	
- 1/8	-	-			-	
<u>POUMON</u>						
- pur	-	-	-	+	+	
- 1/2	-	-	-	+	+	
- 1/4	NT*	NT	NT	+	+	
- 1/8	NT	NT	NT	NT	NT	
<u>GANGLION</u>						
- pur	-	-	-		-	
- 1/2	-	-	-		-	
- 1/4	NT	NT	NT	NT	NT	
- 1/8	NT	NT	NT	NT	NT	
<u>MUQUEUSE</u> <u>INTESTINALE</u>						
- pur	-	-		-	-	
- 1/2	HT	NT	NT	NT	NT	
- 1/4	NT	NT	NT	NT	NT	
- 1/8	NT	NT	NT	NT	NT	

**TABEAU N° 3 : IMMUN-SERUM CONTRE BROYAT DE RATE ET GANGLION DE BOVIN SUSPECT
DE PE**

Ag. en provenance du bovin suspect de PE	DILUTIONS DE L'IMMUN-SERUM					
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
<u>GANGLIONS</u>						
- pur			+	+	+	NT
- 1/2				+	+	NT
- 1/4					-	NT
- 1/8	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<u>RATE</u>						
- pur					-	NT
- 1/2					-	NT
- 1/4	NT	NT	NT	NT	NT	NT
- 1/8	NT	PT	NT	NT	NT	NT

DISCUSSION

L'immuno-électrosynerèse présente un certain nombre d'avantages par rapport aux techniques conventionnelles de diagnostic de la peste bovine et de la peste des Petits Ruminants.

Sa rapidité et sa facilité d'exécution peuvent justifier son choix. En effet, une heure après l'arrivée du prélèvement au Laboratoire, le résultat est pratiquement connu contre 24 à 48 heures pour l'immunodiffusion de type Outcherlony (8, 9).

La sensibilité s'exprime par la faible quantité d'antigène qu'elle est capable de mettre en évidence (5 - 10 μ l).

Elle reste aussi une technique dont l'intérêt dans l'étude quantitative et qualitative de la teneur en antigène des prélèvements est évident : l'arc de précipitation est d'autant plus proche du puits d'antigène que la quantité d'antigène précipitant est faible.

Son application dans le choix des prélèvements en vue de l'isolement de virus donne des bons résultats. Chez le bovin aspect de peste bovine, le virus est seulement retrouvé au niveau du ganglion. La rate est restée négative après cinq passages successifs sur cellules rénales de fœtus de bovin.

Chez le chevreau, le virus de la peste des Petits Ruminants n'est pas isolé. Seul un adénovirus est retrouvé au niveau de la rate, du poumon et de la muqueuse intestinale. Ceci peut s'expliquer par la faible vitalité du virus PPR dans les prélèvements. Aussi, l'association du virus de la Peste des Petits Ruminants et des adénovirus dans le syndrome "pneumopathies des Petits Ruminants" est actuellement bien établie (4).

Cette étude montre enfin que la contre immunoelectrophorèse peut être appliquée aux enquêtes épidémiologiques partant sur la peste bovine et la peste des Petits Ruminants.

Cependant, elle ne permet pas de faire un diagnostic différentiel entre les deux affections.

RÉSUMÉ

L'immuno-électrosynerèse permet le diagnostic de la peste bovine et de la peste des Petits Ruminants une heure après l'arrivée du prélèvement au Laboratoire

Aussi, elle peut être utilisée dans le choix des prélèvements en vue de l'isolement de virus.

SUMMARY

Counter immuno-electrophoresis technique is successfully used to demonstrate precipitin reaction between Rinderpest and peste des Petits Ruminants virus antigens with a rabbit anti-rinderpest serum one hour after the arrival of samples in the laboratory.

It can also be used in samples screening for virus isolation, but doesn't permit a differential diagnosis between rinderpest and PPR.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - BUSSARD, A, 1959 - Description d'une technique combinant simultanément l'électrophorèse et la précipitation immunologique dans un gel : l'électrosynerèse.
Biochim, biophys. Acta 34 258-260
- 2 - CURTIS A. WILLIAMS, MERRILL W. Chase, 1968
Methods in Immunology and Immunochemistry
Vol. II Acad. press, New York and London
- 3 - A. GASPAR et E. EDLINGER 1978
Diagnostic rapide des Entero-virus par électrosynerèse.
Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 129 A 545-552
- 4 - GIBBS E.P.J., TAYLOR W.P., LAWAN M.J.P. 1977.
The isolation of adenoviruses from goats affected with peste des Petits Ruminants in Nigeria
Res. Vet. sci. 23 (3) 331-335.
- 5 - S.M. HAFEZ, A. AL RASHIED, S. AL - BEKERI and M M. IBRAHIM 1982.
A simplified technique for the preparation of Rinderpest precipitating antigen in tissue culture.
XII^e world congress on diseases of cattle. The netherlands sept .7 - 10. Proceeding Vol II.
- 6 - HOWE C., LEE L.T., HANBOE A. and HANKENERS G. 1967
Counter immuno-electrophoresis technique
Ibid 98 : 543.
- 7 - PLOWRIGHT au W. and R.D. TERRIS 1962.
Studies with rinderpest virus in tissue culture :
The use of attenuated culture virus as a vaccine for cattle
Res. Vet. sci. 3, 172 - 182.
- 8 - PROVOST A., R. QUEVAL, C. BORREDON et Y. MAURICE. 1963.
Rechercher en vue d'une méthode rapide de diagnostic de la Peste bovine.
Rev. d'Elev. Med. vet. Pays trop. 16 n° 3 287 - 297.
- 9 - SCOTT G.R. 1967
Diagnosis of Rinderpest
FAO N° 71
- 10 - TSOTSOS A. SA, 1974
Identification and typing of virus and detection of viral antibodies by counter immuno-electrophoresis.
Path, microb. 41 297 - 310.
- 11 - VESTERGAARD B.F. 1973
Crossed immuno-electrophoretic characterisation of Herpes hominis type 1 and 2 antigens. Acta path. microbio. scand 81 808 - 810.
- 12 - WALLIS C. and MELNICK J.L. 1971
Entranced detection of Australfa antigen in serum hepatitis patient by discontinuous counter immuno-electrophoresis.
app. Microbio 21 867-869.