

## PATHOLOGIE

### ANALYSE MOLECULAIRE DES SOUCHES VACCINALES SG33 ET POXLAP DU VIRUS MYXOMATEUX : IMPLICATIONS PROPHYLACTIQUES ET EPIDEMIOLOGIQUES

J.-L. GUERIN, F. PETIT, A. VAN ES, J. GELFI, R. PY, S. BERTAGNOLI, C. BOUCAUT-BARALON.

Laboratoire associé INRA-ENVT de Microbiologie Moléculaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex, France

**RÉSUMÉ:** Le support moléculaire de deux souches vaccinales du virus myxomateux (SG33 et Poxlap) a été étudié. Ont ainsi pu être mises en évidence des délétions majeures concernant des gènes impliqués dans le pouvoir pathogène du virus. Un test sérologique discriminant les lapins vaccinés avec le SG33 de ceux qui ont été infectés par des souches sauvages a également été mis au point.

**ABSTRACT :** Molecular analysis of myxomatosis vaccine strains SG33 and Poxlap : prophylactic and epidemiological implications. Two Myxoma virus used as vaccines, SG33 and Poxlap, were studied in order to define molecular basis of their attenuated phenotype. Major deletions concerning several genes implicated in pathogenicity were discovered. A serological test discriminating rabbits vaccinated with SG33 from those infected with wild-type strains was developed.

### VACCINATION CONTRE LA MYXOMATOSE ET LA MALADIE HEMORRAGIQUE VIRALE DES LAPINS : CONSTRUCTION ET UTILISATION D'UN VIRUS MYXOMATEUX RECOMBINANT

S. BERTAGNOLI, J. GELFI, F. PETIT, C. BOUCAUT-BARALON, A. MILON

Laboratoire associé INRA-ENVT de Microbiologie Moléculaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex, France

**RÉSUMÉ:** La myxomatose et la maladie hémorragique virale des lapins (RVHD) sont les deux maladies virales les plus importantes en élevage cunicole. Les prophylaxies prévues associent la mise en place de mesures sanitaires et la pratique de la vaccination. Pour tenter d'améliorer la vaccination du lapin européen contre ces deux viroses, nous avons envisagé une nouvelle stratégie fondée sur la construction d'un virus myxomateux recombinant exprimant la protéine de capsid (VP60) du virus de la maladie hémorragique virale des lapins (RHDV). Il a permis de protéger parfaitement les lapereaux contre

la RVHD et a induit une protection partielle contre la myxomatose, équivalente à celle procurée par le virus parental SG33, et ce après inoculation par voie intradermique ou orale.

**ABSTRACT :** Protection against myxomatosis and rabbit viral haemorrhagic disease: use of a recombinant myxoma virus expressing rabbit haemorrhagic disease virus capsid protein. A myxoma virus-rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) recombinant virus was constructed with the SG33 strain of myxoma virus to protect rabbits against myxomatosis and rabbit viral haemorrhagic disease. This recombinant virus expressed the RHDV capsid protein (VP60) and induced high levels of RHDV- and myxoma virus-specific antibodies in rabbits after immunization. Inoculations by both the intradermal and oral routes protected animals against virulent RHDV and myxoma virus challenges.

### ETUDE CLINIQUE ET ANATOMOPATHOLOGIQUE DE L'INFECTION EXPERIMENTALE DE LAPINS E.O.P.S. PAR 5 SOUCHES VIRALES AMYXOMATEUSES

D. MARLIER<sup>1</sup>, D. CASSART<sup>2</sup>, C. BOUCAUT-BARALON<sup>3</sup>, H. VINDEVOGEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Service de Médecine aviaire et cunicole, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Bd de Colonster 20, Bat B42, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgique

<sup>2</sup> Service de Pathologie générale et autopsies, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Bd de Colonster 20, Bat B43, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgique

<sup>3</sup> Laboratoire associé INRA-ENVT de Microbiologie Moléculaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23, Chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex, France

**RÉSUMÉ:** La myxomatose est une maladie spécifique du lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*) provoquée par un virus appartenant au genre des *Leporipoxvirus*. Ces dix dernières années, l'expression clinique de cette maladie s'est profondément modifiée, les formes nodulaires classiques étant progressivement remplacées par des formes respiratoires amyxomateuses. Les auteurs présentent une étude clinique et anatomo-pathologique de l'infection expérimentale de lapins exempts d'organismes pathogènes spécifiques (E.O.P.S.) par 5 souches virales amyxomateuses. Cliniquement, ces 5 souches se caractérisent principalement par l'aspect atypique du myxome primaire au point d'injection associé à une nette réduction du nombre, voire à l'absence totale des myxomes secondaires. Pour toutes les souches, une blépharo-conjonctivite aiguë à subaiguë et une

*pneumonie interstitielle d'intensité très variable ont été observées. Les périodes d'incubation ont varié de  $4,8 \pm 2,0$  jours ( $n = 5$ ) à  $7,2 \pm 0,4$  jours ( $n = 5$ ). L'étude virologique montre que les paupières, les poumons et le foie sont les organes dans lesquels le virus est le plus fréquemment ré-isolé.*

**ABSTRACT : Clinical and pathological study of an experimental myxomatosis induced in SPF rabbits by five amyxomatous Myxoma virus strains.** Myxomatosis is a specific disease of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) due to a virus belonging to the Leporipoxvirus genus. These last ten years the clinical signs of this disease have changed, the well-known nodular forms being gradually replaced by a respiratory or poxless myxomatosis. The authors present a clinical and pathological study of an experimental myxomatosis induced in specific pathogen free (SPF) rabbits by five amyxomatous Myxoma virus strains. The main clinical findings were the atypical aspect of the primary skin lesions at the inoculation site and the reduction or sometimes the lack of secondary skin lesions. Blepharo-conjunctivitis and pneumonitis of different grades have been observed. The incubation periods were between  $4.8 \pm 2.0$  days ( $n = 5$ ) and  $7.2 \pm 0.4$  days ( $n = 5$ ). The virological study shows that virus is most often found in the eyelids, lungs and liver.

**MUTANTS DU  
LOCUS OF ENTEROCYTE EFFACEMENT  
DES ESCHERICHIA COLI ENTEROPATHOGENES  
DU LAPIN ET VACCINATION ORALE CONTRE LA  
COLIBACILLOSE O103**

**M. BOURY, K. GRANGE, J.P. NOUGAYREDE,  
E. OSWALD, J. DE RYCKE, A. MILON**

Unité Associée INRA-ENVT de Microbiologie moléculaire,  
Ecole Nationale Vétérinaire, 23 chemin des Capelles, 31076  
Toulouse Cedex 3, France

**RÉSUMÉ:** Les *Escherichia coli* responsables d'entérocrites chez le lapereau sevré appartiennent à un pathovar de mieux en mieux caractérisés: les EPEC (enteropathogenic *E. coli*). Parmi eux, les colibacilles O103 sont épidémiologiquement dominants. Nous avons démontré que la virulence de ces colibacilles est dépendante de leur capacité d'induction d'un effet cytopathique chez la cellule épithéliale entrant en contact avec la bactérie. Cet effet est lié à la présence d'un îlot de virulence, le Locus of enterocyte effacement, inséré dans le chromosome de ces souches. Différents mutants de gènes contenus dans cet îlot nous ont permis de démontrer l'implication de ceux-ci dans la pathogénicité. Nous décrivons ici l'efficacité d'un d'entre eux dans l'induction d'une protection contre la souche sauvage parentale après administration orale sous forme vivante.

**ABSTRACT :** Mutants of the Locus of Enterocyte Effacement in rabbit enteropathogenic *Escherichia coli* and oral vaccination against O103

**colibacillosis.** *Escherichia coli* strains involved in weaned rabbit enterocolitis belong to the enteropathogenic (EPEC) pathovar. Among them, the serogroup O103 is epidemiologically dominant. We have demonstrated that their virulence is dependent on their ability to induce a cytopathic effect upon contact with target eukaryotic cell. This effect is linked to a chromosomal pathogenicity island, the Locus of Enterocyte Effacement. Mutagenesis has proven the involvement in pathogenicity of different genes inside this island. We describe here the efficacy of one of these mutants as live oral vaccine against O103 colibacillosis in weaned rabbit.

**DETECTION D'ANTICORPS SPECIFIQUES  
CONTRE DES SOUCHES D'ESCHERICHIA COLI  
ENTEROPATHOGENES (EPEC) CHEZ LE LAPIN  
PAR UN TEST ELISA UTILISANT  
DES PROTEINES DE 94 KILODALTONS**

**D. VANDEKERCHOVE, J.E. PEETERS**

Centre d'Etudes et de Recherches Vétérinaires et  
Agrochimiques (CERVA), Bruxelles, B-1180, Belgique

**RÉSUMÉ:** Une bande de protéines de 94 kilodaltons (kDa), spécifique des souches EPEC, a été détectée et purifiée partiellement par élution. Elle a été utilisée dans un test ELISA à raison de 1 µg de protéine par puits. Lors d'infections expérimentales, d'une part avec six souches EPEC correspondant aux pathotypes 1+/O109, 2+/O128, 2+/O132, 3-/O15, 4+/O26 et 8+/O103, et d'autre part avec trois souches d'*E. coli* non pathogènes, des sérums ont été récoltés toutes les deux semaines. Des sérums de lapins provenant d'élevages commerciaux, au statut bactériologique dûment identifié, ont été collectés lors de l'abattage. Les deux groupes de sérums ont été testés à une dilution de 1:625 par ELISA à base des protéines de 94 kDa. Les résultats sérologiques ont été comparés avec les données bactériologiques. Le test donne une spécificité de 73% et une sensibilité de 96% ( $p < 0,05$ ).

**ABSTRACT :** Detection of specific antibodies against strains of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in the rabbit by an ELISA test using 94-kilodalton proteins. A protein band of 94 kilodalton, specific for EPEC strains, was detected and partially purified by elution electrophoresis. The protein band was used in an ELISA at 1 µg per well. Sera were taken every fortnight during experimental infections with six EPEC strains belonging to the pathotypes 1+/O109, 2+/O128, 2+/O132, 3-/O15, 4+/O26 and 8+/O103, and with three non pathogenic *E. coli* strains. Furthermore sera were collected from slaughter rabbits of commercial rabbitries with known bacteriological status. The two groups of sera were tested at a dilution of 1:625 with the ELISA based on the 94-kilodalton proteins. The serological results were compared with the bacteriological data. The test offers a specificity of 73% and a sensitivity of 96% ( $p < 0,05$ ).

## EVOLUTION DE LA FREQUENCE DES OTITES PASTEURELLIQUES CHEZ LE LAPIN APRES SEVRAGE EN L'ABSENCE DE MALADIE CLINIQUE

P. RIDEAUD<sup>1</sup>, P. COUDERT<sup>2</sup>, D. RABOTEAU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA, Unité de Pathologie Animale, Le Magneraud, 17700 Surgères, France

<sup>2</sup> INRA, Pathologie Aviaire Parasitologie, Laboratoire de Pathologie du Lapin, 37380 Nouzilly, France

**RÉSUMÉ:** Des études antérieures ont montré l'importance épidémiologique et la fréquence de la localisation des pasteurelles dans l'oreille moyenne chez les reproductrices. Dans cette étude, nous avons étudié l'apparition et l'évolution de ces otites pasteurelliques chez des animaux destinés à devenir des reproducteurs. Nous avons analysé l'oreille moyenne et les cornets de 546 lapins âgés de 8, 11 et 14 semaines puis de 65 femelles de la même bande âgées de 8 à 18 mois. A 8 semaines, 1 à 2% seulement des lapereaux avaient une otite moyenne. A 11 et 14 semaines ces fréquences étaient respectivement de 10 et 14% ; la moitié de ces otites était déjà suppurée. En outre à 14 semaines, 4% des animaux ont révélé à l'autopsie une rhinite pasteurellique. En bilan à cet âge, 18% des animaux sont porteurs d'un foyer pasteurellique inapparent même avec une souche non pathogène et dans de bonnes conditions d'hygiène. Après la mise en reproduction, plus de 50% des femelles avaient un foyer infectieux dans l'oreille moyenne.

**ABSTRACT :** Frequency patterns of *Pasteurella multocida* otitis of the rabbit after weaning without clinical signs of disease. Previous studies showed the epidemiological importance and the frequency of pasteurella located in middle ear of breeding does. In this work, we studied the appearance and subsequent development of pasteurellicotitis in animals intended for breeding. We explored middle ear and nasal turbinates in 546 rabbits 8, 11 and 14 weeks old and in 65 females of the same stock of 8 to 18 months of age. At the age of 8 weeks, only 1 to 2% of the young rabbits displayed middle ear otitis. At 11 and 14 weeks of age, these frequencies were respectively 10% and 14% ; in half of these cases we observed suppuration. Moreover, at 14 weeks of age, in 4% of the animals we observed pasteurellic rhinitis. On the whole, at this age 18% of the animals harboured inapparent pasteurellic focus, even when infected with a non pathogenic strain and even in good hygienic sheltering conditions. After their second parturition, more than 50% of the females displayed an infectious focus in middle ear.

## EFFICACITE DE DIVERS TRAITEMENTS ANTIBIOTIQUES CONTRE UNE PASTEURELLOSE EXPERIMENTALE CHEZ LE LAPIN

P. RIDEAUD<sup>1</sup>, P. COUDERT<sup>2</sup>, R. COURAUD<sup>1</sup>, D. RABOTEAU<sup>1</sup>, P. MERCIER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA, Unité de Pathologie Animale, Le Magneraud, 17700 Surgères, France

<sup>2</sup> INRA, Pathologie Aviaire Parasitologie, Laboratoire de Pathologie du Lapin, 37380 Nouzilly, France

**RÉSUMÉ:** L'objectif de cette étude est de vérifier un modèle expérimental lapin permettant d'évaluer l'efficacité des antibiotiques contre une pasteurellose. Cette maladie est reproduite expérimentalement sur des lapereaux SPF de 30 jours d'âge avec une souche de *Pasteurella multocida* (Pm) inoculée par voie intradermique (ID) ou par voie nasale (IN). Les résultats de ces travaux montrent que l'inoculation par voie ID provoque essentiellement des abcès localisés au point d'inoculation et une infection au niveau intestinal, alors que par voie IN avec un inoculum plus faible, la maladie est moins grave et touche surtout les voies respiratoires. Les antibiotiques peuvent avoir une efficacité différente selon la voie d'inoculation de la Pasteurelle. Contrairement aux traitements triméthoprime-sulfadoxine et gentamicine, de très bons résultats sont obtenus avec l'oxytétracycline. La gentamicine se montre plus efficace quand l'inoculation de Pm a lieu par voie intranasale. Ce modèle expérimental a permis d'évaluer l'efficacité des traitements antibiotiques par voie parentérale même contre une souche de Pm très virulente.

**ABSTRACT :** Efficacy of various antibiotics treatments against an experimental pasteurellosis in the rabbit. This study was designed to check a rabbit experimental model for the assessment of the efficacy of 3 antibiotics against pasteurellosis. This disease can be reproduced experimentally in SPF 30-day-old rabbits using a *Pasteurella multocida* (Pm) strain inoculated by intradermic (ID) injection or by intranasal route (IN). The results of this work was that ID inoculation mainly caused abscess located at the injection site and an intestinal infection whereas the IN inoculation with a lower dose caused a less serious disease and affected mainly the respiratory tract. Antibiotics may have a different level of efficiency according to the inoculation route of Pm. In opposition to the results obtained with a trimethoprim-sulfadoxine and gentamycin treatments, very good results were obtained with oxytetracycline. Gentamicine was more efficient when the inoculation of Pm was given intranasally. This experimental model made it possible to assess the efficacy of antibiotics treatments given by parenteral route even against a very virulent strain of Pm.

**ZOONOSES ET RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS  
DANS LA FILIÈRE CUNICOLE :  
PROPOSITION D'UN PROGRAMME DE CONTRÔLE  
POUR LES ÉLEVAGES DE LAPINS CHAIR**

E. FACCHIN<sup>1</sup>, F. ZANON<sup>1</sup>, A. RICCI<sup>2</sup>,  
M.C. DALLA POZZA<sup>1</sup>, M.G. CHIAVEGATO<sup>1</sup>, I. ROSSI<sup>1</sup>,  
A. RIZZO<sup>1</sup>, G.P. ZANFORLIN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie,  
Via S. Giacomo, 5, 37135 Verona, Italie

<sup>2</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova,  
Italie

<sup>3</sup> Eurotec nutrition, Milano, Italie

**RÉSUMÉ:** Après avoir souligné que la biosécurité de la viande de lapin est une priorité, on présente les résultats des observations et des examens effectués dans 5 foyers de salmonellose observés dans des élevages intensifs de Vénétie. L'infection, caractérisée par une longue persistance en élevage, constitue un danger possible de pollution pour toute la filière. L'emploi d'un probiotique (*Saccharomyces cerevisiae*, souche 47) utilisé comme alternative à l'emploi des antibiotiques a été étudié. Les résultats des observations expérimentales soulignent la nécessité d'installer des programmes de contrôles précoces, dès la phase d'élevage.

**ABSTRACT :** Zoonoses and drug residues in meat rabbit production chain : proposal for a monitoring voluntary plan. The biosecurity of rabbit meat is an indispensable requirement for the consumer. The results of observations and examinations carried out in 5 outbreaks of clinical salmonellosis of the rabbit are presented. The infection, characterized by a long persistence in the breeding farm, establishes a possible danger of contamination of the whole productive chain. Hereafter are also reported the results obtained with the use of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*, strain 47), utilized in alternative to antibiotics. The results of these experimental observations emphasize the necessity of accomplishing precocious hygienic programs, starting from the breeding phase.

**BIO-SECURITE DE LA FILIERE CUNICOLE :  
PROPOSITION D'UN PROGRAMME DE CONTROLE  
POUR LES ABATTOIRS**

F. ZANON<sup>1</sup>, E. FACCHIN<sup>1</sup>, G. CHIAVEGATO<sup>1</sup>, I. ROSSI<sup>1</sup>,  
A. RIZZO<sup>1</sup>, M. RASETTI<sup>2</sup>, L. CONTE<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie,  
Via S. Giacomo, 5, 37135, Verona, Italie

<sup>2</sup> Azienda Sanitaria Locale n° 21, Legnago (VR), Italie

<sup>3</sup> Azienda Sanitaria Locale n° 15, Cittadella (PD), Italie

**RÉSUMÉ:** Le risque de zoonoses à l'abattoir a été analysé en considérant la présence et la possibilité d'établir la provenance de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* et *Yersinia*. Puis on a analysé les secteurs de l'abattoir plus propices aux infiltrations de dermatomycoses chez le personnel et enfin, on a considéré les indicateurs d'hygiène pendant le travail (*Staphylococcus coagulase +*, *Escherichia coli* et le comptage de la Flore mésophile totale). On a relevé des résultats positifs pour *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* et *Yersinia enterocolitica*. C'est le service de l'étourdissement qui a été relevé comme le secteur de l'abattoir le plus pollué de spores de dermatophytes. Les *Escherichia coli* et le comptage de la Flore mésophile totale se sont révélés les meilleurs indices pour juger l'hygiène dans le travail. En tenant compte des résultats obtenus, il a été proposé un plan de surveillance dans l'abattoir.

**ABSTRACT :** The biosecurity of meat rabbit productive chain: proposal for a voluntary monitoring plan of slaughterhouses. Inside the rabbit productive chain the risk of zoonoses was analyzed right inside the slaughterhouse after having evaluated the possibility of establishing the genesis of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* and *Yersinia*. In addition other areas of the slaughterhouse were analyzed to determine the most dangerous area for an onset of dermatophytosis in the personnel. In the end other hygienic indicators of the processing phase were evaluated (*Staphylococcus coag. +*, *Escherichia coli* and total microbial count). Positiveness was found for *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica*. The stunning department resulted to be one of the most contaminated areas of the entire slaughterhouse where spores of dermatophytes were found. The count out of *Escherichia coli* and the total microbial count were most useful evidence found to be able to evaluate the hygienic standards kept during all the processing procedures. With consideration to all the results obtained, a security surveillance program was proposed inside the slaughterhouse.