Camille Normand

Camille Normand a obtenu son master Biosciences, spécialité Microbiologie en 2020 au sein de l'Université de Caen Normandie. Elle est actuellement en 2ème année de thèse à LABÉO sous la direction de Stéphane Pronost et Erika Hue. Elle réalise son doctorat au sein de l'unité BIOTARGEN de Normandie Université. Son projet de thèse vise à mieux comprendre les infections à herpèsvirus équin-4 afin d'optimiser les mesures prophylactiques. Camille est également une cavalière ce qui lui permet de conjuguer ses deux passions cheval et sciences.

camille.normand@laboratoire-labeo.fr

Partenaire(s)

Financeur(s)

Herpèsvirus équins et survie dans l'environnement : quels risques pour les chevaux ?

Camille Normand[1,2], Pauline Defour[1,2], Aude Bonassies[3], Philippe Ciantar[4], Christine Fortier[1,2,5], Romain Paillot[6], Christel Marcillaud-Pitel[7], Pierre-Hugues Pitel[1], François Meurens[3], Stéphane Pronost[1,2,5], Erika Hue[1,2,5]

[1]LABÉO
[2]Normandie Univ, UNICAEN, BIOTARGEN EA7450
[3]ONIRIS, BioEPAR, UMR INRA 1300
[4]Clinique vétérinaire de Launay
[5]Normandie Univ, UNICAEN, ImpedanCELL
[6]School of Equine and Veterinary Physiotherapy, Writtle University College
[7]RESPE

Type de présentation : présentation orale - projet de recherche

Ce qu'il faut retenir :

Les herpèsvirus équins, comme de nombreux virus, sont capables de survivre dans l'environnement en particulier dans l'eau. La survie du virus est favorisée par les basses températures. Ces données sont à prendre en compte lors de la gestion d'épizooties à HVE-1 et HVE-4 et la mise en place des mesures de biosécurité. La détection du virus ne veut pas dire que celui-ci sera systématiquement infectieux.

© Camille Normand

1 Contexte et objectifs

A ce jour, neuf herpèsvirus sont décrits chez les équidés (herpèsvirus équin 1 (HVE-1) à HVE-9). Le cheval est l'hôte naturel de l'HVE-1 et l'HVE-4 qui sont les deux virus responsables de la rhinopneumonie (1). Ces virus sont présents dans la plupart des pays d'élevage et constituent un problème d'importance majeure à la fois pour le bien-être animal mais également pour l'économie de toute la filière. L'HVE-1 et l'HVE-4 sont donc deux virus respiratoires particulièrement surveillés dans tous les pays d'élevage. La forme primaire de la maladie est caractérisée par l'infection du tractus respiratoire et se manifeste par de l'hyperthermie, de la toux, du jetage nasal et parfois des larmoiements. L'HVE-1 est également à l'origine de formes secondaires graves telles que des avortements et des troubles neurologiques pouvant conduire pour les cas les plus graves à l'euthanasie de l'animal. Concernant l'HVE-4, la forme respiratoire est la forme la plus décrite ; des avortements sont également décrits dans de rares cas (un à deux cas par an en France) et son implication dans la forme nerveuse bien que de plus en plus suspectée, n'est pas démontrée à ce jour. Comme les autres herpèsvirus, l'HVE-1 et l'HVE-4 sont capables, après une primo-infection, d'entrer en latence et d'être alors invisible pour le système immunitaire. Cependant, suite à un stress (tels que le transport, une maladie, un traitement, …), une réactivation du virus peut être observée qui entraine la sortie de latence et donc une possibilité d'excrétion du virus pouvant faire courir le risque de l'apparition d'un nouveau foyer épidémique (1).

Nous avons pu, lors de la pandémie de Covid19 qui a touché l'Homme sur la planète entière, mesurer l'importance de prendre en compte la contamination via le contact par des objets ou encore le risque encouru en buvant dans le verre d'une personne contaminée (2). En effet les virus, s'ils ne se multiplient pas sur les surfaces inertes et dans l'eau, peuvent survivre dans ces milieux qui constituent une source de contamination potentielle. Ce qui est vrai pour les virus humains l'est également pour les virus animaux. Il a été montré que le virus de la grippe, de différentes espèces, peut survivre jusqu'à plusieurs semaines dans une eau à 4°C (3). Concernant les herpèsvirus équins peu d'études ont été réalisées mais les premiers résultats ont montré de la même façon que le virus est capable de survivre dans l'environnement en fonction du milieu et de la température (4). Ces données sont importantes et à prendre en compte dans la gestion des foyers, qu'il s'agisse d'une épidémie de grande ampleur comme celle de Valence en 2021, ou celle qui sévit actuellement aux Etats Unis, particulièrement en Californie, où des cas sont isolés dans des structures équestres. Pour prendre les mesures de biosécurité adaptée, il est nécessaire de bien connaitre les conditions de survie de ces virus.

Des travaux ont donc été initiés, dans notre laboratoire en collaboration avec l'équipe du Pr François Meurens (Oniris, Nantes), pour étudier la survie de l'HVE-1 dans l'environnement dans des conditions de laboratoire (5). L'objectif de ce travail, qui s'inscrit dans la continuité des premiers travaux, est d'étudier la survie de l'HVE-4 en conditions de laboratoire et en conditions réelles afin d'apporter de nouveaux éléments de réponse.

2 Méthode

Dans un premier temps, une synthèse bibliographique a été faite pour identifier les premières études réalisées sur la survie de l'HVE-1 et de l'HVE-4 dans l'environnement. Ensuite, des travaux ont été menés dans notre laboratoire pour étudier la survie de l'HVE-1 et de l'HVE-4 dans différents diluants. Pour cela, différentes eaux et du milieu de culture ont été infectés par une souche d'HVE-1 (souche HVE1 FR-6815) ou une souche d'HVE-4 (souche HVE4 405/76) à différentes concentrations. La survie de ces deux virus a été étudiée à trois températures (4°C, 20°C, 34°C) sur une période de 28 jours et a été évaluée par culture cellulaire sur cellules équines dermiques et par analyse cellulaire en temps réel (RTCA). Les charges virales ont aussi été déterminées par PCR quantitative à 72 heures post-infection (hpi). Par ailleurs, la survie de l'HVE-4 en condition terrain a été étudiée au cours d'un épisode d'HVE-4 au sein d'un haras. Plusieurs prélèvements au cours du temps ont été effectués avec des chiffonnettes sur différentes surfaces et la charge virale a été suivie par PCR quantitative.

3 Résultats

3.1 Connaissances actuelles de la survie de l'HVE-1 dans l'environnement : revue de la littérature

A notre connaissance, trois études ont évalué la survie de l'HVE-1 dans l'environnement. En 1958, Doll *et al*. ont analysé la survie de l'HVE-1 (souche KyD) sur différents matériaux, aussi appelés « fomites » : une boite de Petri, du pin blanc, du fer galvanisé, du verre, du papier, des copeaux de bois, de la jute, de la corde en manille et des poils de chevaux (6). Les résultats ont montré que l'HVE-1 n'était plus infectieux au septième jour pour la paille, le verre et le fer galvanisé. Cependant, le virus était toujours infectieux sept jours post-infection pour le bois, le papier, la jute et la corde de manille mais l'infectiosité était perdue à 14 jours. Enfin, l'HVE-1 s'est révélé être toujours infectieux après 35 à 42 jours post-infection sur les poils de chevaux. Depuis, Saklou *et al*. (2017) ont déterminé la survie de l'HVE-1 (souche Mar-87) dans différentes conditions en milieu aqueux avec des variations de sédiments, de pH, de salinité ou de température sur une période de 21 jours. Aussi, ils ont pu observer que l'HVE-1 survivait jusqu'à 14 jours dans des eaux avec une faible concentration de sédiments, jusqu'à 21 jours dans des eaux dîtes basiques (pH 8 et 10 : 14 jours et 21 jours respectivement) et jusqu'à 21 jours dans des eaux avec une salinité élevée (7). Enfin, plus récemment, en 2020, Dayaram *et al*. ont analysé la survie de l'HVE-1 (souche Findlay OH03) pendant 48 heures sur plusieurs surfaces (polystyrène, vêtements en polyester, cuir, copeaux de bois et paille) dans trois conditions de température (4°C, température intérieure et température extérieure). Les résultats de cette étude ont mis en évidence que l'HVE-1 restait infectieux sur l'ensemble des matériaux sur cette période. Cependant, la condition de température extérieure a le plus affecté la survie de l'HVE-1, suivie par la condition de température intérieure puis la condition à 4°C (4).

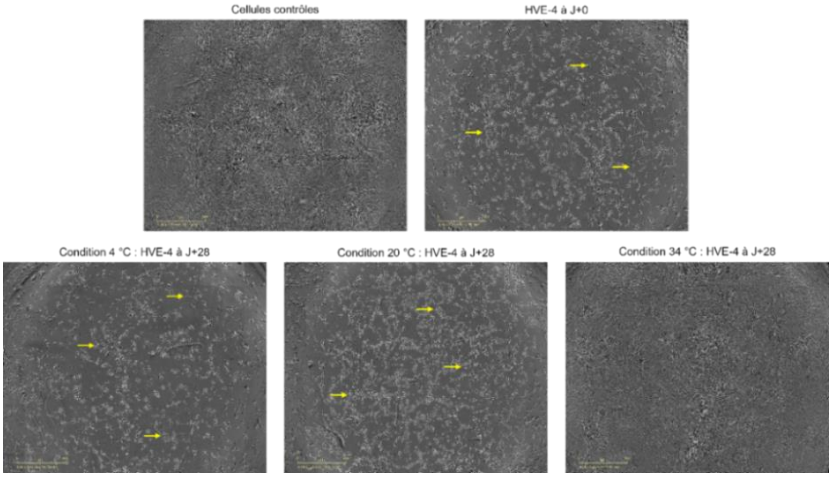
3.2 Etude de la survie des virus HVE-1 et HVE-4 dans de l'eau de pluie

La capacité d'infection de l'HVE-1 et de l'HVE-4 a été étudiée, en condition de laboratoire, dans de l'eau de pluie sur une période de 28 jours à trois températures, pouvant représenter des températures hivernales, printanières et estivales : 4°C, 20°C et 34°C.

Les analyses réalisées par RTCA ont montré que l'HVE-1 restait infectieux jusqu'au 14ème jour à 4 °C. L'infectiosité du virus diminue dans une eau à 20 °C et le virus ne présente plus de caractère infectieux dès le septième jour à 34°C. Ces résultats démontrent bien que la survie du virus dans l'eau est fonction de la température et qu'une température basse (4°C) favorise la survie du virus HVE-1.

Les résultats obtenus pour l'HVE-4 dans l'eau de pluie confirment ces observations. En effet, nous observons que le virus présente une infectiosité maximale à 4°C et 20°C et que celui-ci n'est plus infectieux après sept jours à une température de 34°C.

Figure 1 : Etude de la survie de l'HVE-4 dans de l'eau de pluie pendant 28 jours à différentes conditions de températures (4°C, 20°C et 34°C).



Les flèches jaunes montrent l'effet cytopathique dû à l'action du virus sur les cellules

3.3 Détection de l'HVE-4 dans l'environnement au sein d'un foyer infectieux

Lors d'un foyer infectieux lié à l'HVE-4 au sein d'un élevage, des prélèvements ont été effectués sur différents matériaux présents dans l'environnement des chevaux infectés : des mangeoires, des abreuvoirs, les murs des boxes, des grilles séparant les boxes, du foin, des licols (cuir et nylon), un interrupteur et une fourche. Des prélèvements, réalisés avec des chiffonnettes, ont également été réalisés sur deux chevaux infectés présents sur le site. Les différents éléments ont été échantillonnés jusqu'à 46 jours après la détection du premier cas positif au sein de l'élevage. Les tests PCRs en temps réel ont permis de détecter la présence du génome de l'HVE-4 sur l'ensemble des matériaux. L'analyse fine de ces données est actuellement en cours mais il semble que les grilles soient les surfaces sur lesquelles la charge virale la plus importante soit détectée. Les analyses en culture cellulaire n'ont pas été réalisées à ce jour et il est important de préciser qu'en absence de ces données, nous ne pouvons pas savoir si le virus est toujours infectieux sur nos modèles cellulaires.

4 Conclusions et applications pratiques

Les résultats obtenus lors de ces expériences de survie des herpèsvirus équins 1 et 4 dans de l'eau de pluie confirment les travaux antérieurs en montrant que le virus peut survivre plus ou moins longtemps dans l'environnement en fonction de la température. Les températures basses favorisent la survie du virus, ce qui n'est pas une surprise pour les personnes de laboratoire qui ont l'habitude de conserver les échantillons à 4°C ou de les congeler à -20°C ou -80°C. Les premiers résultats ne semblent pas montrer de différences importantes entre la survie de l'HVE-1 et de l'HVE-4 dans l'eau de pluie. Ceci n'est pas surprenant car la structure de ces deux virus enveloppés est vraiment très proche et l'HVE-4 moins pathogène (avortement sporadique, forme nerveuse non démontrée à ce jour) que l'HVE-1 pourrait constituer un bon modèle d'étude *in vivo*.

Notre modèle d'étude avec la technologie RTCA (culture cellulaire en temps réel) permet de bien démontrer l'infectiosité du virus sur nos modèles de cellules *in vitro*. Ce n'est pas le cas de la PCR qui montre la présence du virus en détectant son génome (ADN) mais ne différencie pas les virus morts des virus infectieux. Ces résultats sont obtenus *in vitro* sur modèle de cellules équines, qui demeure un modèle pertinent mais une inconnue demeure qui est d'importance sur le terrain : à partir de quelle charge virale détectée sur les surfaces ou dans l'eau estime-t-on qu'il y ait un risque d'infecter un cheval par les voies respiratoires ?

Ce sont ces travaux futurs qui seront menés par notre équipe qui travaillera également à identifier les surfaces sur lesquelles le virus pourrait survivre le plus longtemps. Ces notions de survie des virus dans l'environnement ont conduit récemment à davantage de travaux des équipes de recherche dans tous les domaines (virus humains et animaux) et les données futures contribueront à l'amélioration des mesures de biosécurité à mettre en place.

5 En savoir plus

(1) Ma *et al*., 2013. Vet Microbiol.167(1-2):123-134.
(2) Jia *et al*., 2022. Foods Basel Switz.11(6):802.
(3) Poulson *et al*., 2016. Appl Environ Microbiol. 2016;82(13):3721-3726.
(4) Dayaram *et al*., 2017. Sci Rep.7(1):46559.
(5) Bonassies, 2019. Thèse vétérinaire : Etude de la stabilité de l'herpèsvirus équin de type 1 dans le milieu extérieur en relation avec le contexte météorologique.
(6) Doll *et al*., 1959. The Cornell veterinarian, 49(1):75-81
(7) Saklou *et al*, 2021. Equine Vet J. 2021;53(2):349-355.

En partenariat avec :