

Tableau 1 : Résultats des RT-PCR sur écouvillons

Lieu	Désinfectant avant écouvillonnage	Résultat RT-PCR
Elevage 1 (infection datant de 7 jours) VHD confirmée ELISA		
Fosse (20 cm en profondeur)	Aucun	Positif
Poils volants	Aucun	Positif
Matériel (cages)	Aucun	Positif
Mangeoires avec granulé	Aucun	Positif
Sang sur les cages	Aucun	Positif
Elevage 2 (infection datant de 4 mois) VHD confirmée ELISA		
cages en bois	Desinfectant 1	Négatif
cages en bois	Aucun	Positif
Charpente du bâtiment en bois (non désinfectées)	Aucun	Positif
Elevage 3 (infection datant de 5 mois) VHD confirmée ELISA		
Sas	Desinfectant 1	Négatif
Cooling externe	Desinfectant 1	Négatif
Silo	Desinfectant 1	Négatif
Extérieur du bâtiment	Desinfectant 1	Négatif
Elevage 4 (infection datant de 3 mois) VHD confirmée ELISA		
Maternité cages intérieur	Desinfectant 1	Négatif
Chenil	Aucun	Négatif
Congélateur à cadavres (n'ayant pas reçu de lapins ayant la VHD mais des dépouilles de garennes)	Aucun	Négatif
Elevage 5 (infection datant de 10 jours) VHD confirmée ELISA		
Engraissement cages intérieur	Désinfectant 1	Négatif
Engraissement plafonds et murs	Désinfectant 1	Négatif
Elevage 6 (infection datant de 5 mois) VHD confirmée ELISA		
Cages ciment	Desinfectant 3	Négatif
Elevage 7 (infection datant de 3 mois) VHD confirmée ELISA		
Poussières derrière le bac à eau	Desinfectant 2	Négatif
Poussières des câbles électriques	Desinfectant 2	Négatif
Fosses	Desinfectant 2	Négatif
Cages (interstices)	Desinfectant 2	Négatif
Elevage 8 (infection datant de 4 mois)		
Maternité vaccinée n'ayant pas été touchée mais engraissement issu de cette maternité confirmé ELISA VHD		
Parois avec crottes d'oiseaux	Desinfectant 1	Négatif
Cages sans lapins	Aucune	Négatif
congélateur	Desinfectant 1	Négatif
Elevage 9 (infection datant de 1 mois) VHD non confirmée ELISA		
Cages de lapines mortes de VHD supposée	Desinfectant 3	Négatif
Elevage 10 (infection datant de 4 mois) VHD confirmée ELISA		

l'aide du kit High Pure Viral RNA (Roche Diagnostics). Pour la RT-PCR, deux amorces spécifiques (VHD1F : 5'acgtgcttcagtttggat3' et VHD1R : 5'acaattctgtctgggtgagg3') permettant d'amplifier un fragment de 400 pb sur le gène de la protéine de capsid VP60 du virus de la VHD ont été utilisées. Ces amorces ont été dessinées à partir d'un alignement de 63 séquences du gène de la VP60 du virus de la VHD. Des témoins positifs (gène de la VP60 cloné et cDNA de souches de référence) ainsi que des témoins négatifs (produit d'extraction d'eau sur chaque série) ont été introduits sur chaque série de PCR. Les analyses ont été réalisées dans un environnement sécurisé dédié au diagnostic moléculaire. La spécificité de l'amplification obtenue sur les échantillons testés a été vérifiée par séquençage du fragment amplifié.

2. Résultats

Les analyses en RT-PCR sur le gène de la VP60 du virus de la VHD se sont révélées négatives sur tous les échantillons testés en milieu désinfecté.

En revanche, nous avons mis en évidence le génome du virus sur 7 écouvillons provenant de bâtiments non ou mal désinfectés. On a mis en évidence par cette méthode des virus dans les poussières recueillies sur la charpente en bois ou sur le dessus des cages mais aussi sur les parois, les crottes, les poils, les fosses, le granulé et des taches de sang (tableau 1).

3. Discussion

Les recherches se sont révélées négatives sur tous les prélèvements faits en milieu désinfecté. Lors de l'établissement de notre protocole, nous avons choisi de faire un contrôle de désinfection indicateur à l'aide de boîtes contact. Ce contrôle ne fut pas réalisé. Cependant, même si les pratiques de désinfection que les éleveurs nous ont citées n'étaient pas toujours parfaites (les dosages ont toujours été respectés mais le nettoyage a souvent été trop rapidement effectué et des restes de matière organique existaient dans les bâtiments), il n'a pas été possible de mettre en évidence le virus dans les élevages désinfectés de cette étude. L'élevage 2 est particulièrement intéressant à ce niveau puisque seules les écouvillons réalisés sur des cages non désinfectées ont été positifs. Ruvoen (1995) préconise la désinfection des locaux et du matériel à l'aide de soude (inutilisable pour les cages galvanisées) à moins de 2% ou de formol à 3%.

Les analyses RT-PCR ont toutes été faites après avoir obtenu la certitude du diagnostic de VHD par ELISA. Deux exceptions cependant sont à prendre en compte. Dans un petit élevage fermier (élevage 9) seule une autopsie et la description de mortalité importante sur des sujets de plus de 2 mois nous a amené à conclure à une VHD. Ce diagnostic fut renforcé par le fait qu'une vaccination d'urgence a stoppé la mortalité en 5 jours. Il est possible cependant que les lésions

évoquant une VHD aient été confondues avec celles d'une septicémie à *Pasteurella multocida*. Dans un autre élevage (N°8), la VHD a bien été confirmée par ELISA sur les lapins d'engraissement mais jamais sur les femelles. Or, le prélèvement a été fait sur la maternité et nous ne sommes pas certains que le virus RHVD y ait été présent à un moment donné, même si sur l'élevage il a été retrouvé avec certitude.

L'expérience confirme la transmission indirecte du virus par l'air et tout ce qui peut être souillé par des sécrétions ou excréments de lapins malades.

Tous les éleveurs pensaient que leurs animaux étaient correctement vaccinés au moment où l'épisode de VHD est survenu. Or, dans tous les cas nous avons pu mettre en évidence des failles dans le protocole. Ainsi, aucun ne vaccine ses lapins d'engraissement (pour des raisons économiques). La population arrivant au milieu

jeune âge de l'animal (5 semaines puis rappel à 10 semaines) ou dans les 6 mois après la première vaccination. Il serait très intéressant de tester ces deux types de protocoles.

Conclusion

Ce travail met en évidence l'intérêt de la désinfection dans la lutte contre la VHD. Le virus peut être retrouvé dans beaucoup d'endroits ayant été en contact avec les lapins excréteurs ou leur cadavre mais on le retrouve aussi dans les fosses ou sur les parois ayant été indirectement en contact avec ces animaux.

Il a permis indirectement de voir que la vaccination contre la VHD doit inclure un rappel.

La présence de virus plus de 4 mois après un épisode de VHD et la chute de l'immunité dans certains cas peut expliquer les récurrences constatées.

Références

- BOUCHER S., NOUAILLE L., 2002. « Manuel Pratique des Maladies des Lapins », *France Agricole* 2^e éd., 272 p (14 – 19 et 104 – 109)
- SIMON MC, MUGURUZA R., ALONSO JL., MUZQUIZ JL., GIRONES O., HAFFAR A., 1994. « recherche du virus de la maladie hémorragique virale du lapin (VHD) chez le renard et rôle des canidés domestiques dans la transmission de la maladie. *Rec. Méd. Vét.* 170 (12), 841 – 845.
- CNEVA PLOUFRAGAN. 1996. Mise en évidence du virus de la maladie hémorragique virale du lapin (VHDv) dans les foies de lapin par la technique ELISA. Manuel technique révision 2 pages 1 à 5.
- RUVOEN CLOUET N. 1995. Le virus de la maladie hémorragique du lapin : étude du récepteur erythrocytaire et des caractéristiques antigéniques appliquées au diagnostic séroépidémiologique. *Thèse de doctorat* de l'Université de Nantes, spécialité virologie.
- XU ZJ, CHEN WX, 1989. Viral haemorrhagic disease in rabbits : a review. *Vet. Res. Comm.* 13, 205 – 212.