

ADÉNOMATOSE PULMONAIRE OVINE (adénocarcinome)

RÉSUMÉ

L'adénomatose pulmonaire ovine (OPA pour Ovine Pulmonary Adenocarcinoma), également connue sous le nom d'adénocarcinome pulmonaire ovin, ou jaagsiekte, est une tumeur contagieuse des moutons et, rarement, des chèvres. C'est une maladie respiratoire progressive, affectant principalement les animaux adultes. La maladie se manifeste dans de nombreuses régions du monde. Il a été démontré qu'un bêta-rétrovirus est responsable de la maladie : le jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV) qui est distinct des lentivirus ovins non-oncogènes.

Identification de l'agent pathogène : le JSRV ne peut pas encore être cultivé *in vitro*, c'est pourquoi les méthodes de diagnostic classiques, comme l'isolement viral, ne sont pas utilisables pour le diagnostic. À l'heure actuelle, le diagnostic repose sur l'historique et l'examen clinique, de même que sur les examens pratiqués après autopsie, sur l'histopathologie et l'immunohistochimie. L'ADN ou l'ARN viral peuvent être détectés dans la tumeur, les nœuds lymphatiques de drainage, et les cellules mononucléées du sang périphérique, au moyen de la réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR). Les agneaux s'infectent très jeunes avec le JSRV et, dans un troupeau infecté par l'OPA, la plupart des moutons sont infectés.

Épreuves sérologiques : on ne détecte pas, chez les moutons infectés, d'anticorps dirigés contre le rétrovirus et, de ce fait, les épreuves sérologiques ne peuvent être utilisées pour le diagnostic.

Spécifications applicables aux vaccins et aux produits biologiques à usage diagnostique : il n'y a ni vaccins ni réactifs biologiques disponibles.

A. INTRODUCTION

L'adénomatose pulmonaire ovine (OPA pour *Ovine Pulmonary Adenocarcinoma*), également connue sous l'appellation d'adénocarcinome pulmonaire ovin, jaagsiekte (en Afrikaans = maladie des déplacements) et carcinome pulmonaire ovin (OPC pour *Ovine Pulmonary Carcinoma*), est une tumeur contagieuse des poumons des moutons et, dans une moindre mesure, des chèvres. C'est la plus commune des tumeurs pulmonaires du mouton, elle est signalée dans de nombreux pays du monde. L'Australie et la Nouvelle-Zélande en sont indemnes, et elle a été éradiquée d'Islande.

Un certain nombre de virus différents ont été incriminés dans l'étiologie de l'OPA, dont un herpès virus et des lentivirus qui s'étaient multipliés à partir de tissu tumoral. Cependant, le premier (herpès virus) n'a pas de rôle étiologique dans l'OPA et les autres (lentivirus) ont les caractères des lentivirus non oncogènes. On a pu démontrer clairement que l'OPA est causée par un bêta-rétrovirus, qui ne peut pas encore être cultivé *in vitro* ; cependant ce virus a été cloné et séquencé. L'abréviation JSRV (pour jaagsiekte sheep retrovirus) est couramment utilisée pour désigner ce virus.

B. TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC

Actuellement, le diagnostic d'OPA repose sur des investigations cliniques et pathologiques, bien que la réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) offre des possibilités pour un diagnostic *ante mortem* au niveau du troupeau. Dans les troupeaux où la maladie est suspectée, sa présence doit être, au moins une fois, confirmée par l'examen histopathologique du tissu pulmonaire atteint. Pour un tel examen, il est impératif de partir d'échantillons issus de plusieurs localisations affectées et, si possible, provenant de plus d'un animal. En effet, une pneumonie secondaire bactérienne, pouvant être la cause immédiate de la mort, masque souvent les lésions

(à la fois macro et microscopiques) de la maladie primaire. En absence d'épreuves sérologiques spécifiques, pouvant être utilisées pour diagnostiquer l'OPA sur l'animal vivant, le contrôle de la maladie repose sur des inspections régulières des troupeaux et sur une élimination rapide des cas suspects, ainsi que de leur descendance s'il s'agit de brebis.

1. Identification de l'agent pathogène

Bien que l'herpès virus ovin 1 (OvHV-1) n'ait été isolé exclusivement que de tumeurs d'OPA, ni les études épidémiologiques ni les infections expérimentales n'ont pu apporter la preuve de son rôle dans l'étiologie de l'OPA. L'herpès virus ovin 2 (OvHV-2) est l'herpès virus responsable de la fièvre catarrhale maligne du mouton et n'a jamais été relié à l'OPA.

L'existence de rétrovirus associés à l'OPA est reconnue depuis plusieurs années. Des lentivirus ovins ont été isolés à maintes occasions, mais ces virus n'ont pas de rôle étiologique dans l'OPA.

Pendant de nombreuses années, l'impossibilité de cultiver le JSRV, et l'absence d'anticorps anti-virus chez les moutons atteints, ont empêché de confirmer que ce virus est bien l'agent étiologique. Cependant, les techniques de biologie moléculaire ont apporté un progrès décisif, en particulier le clonage et le séquençage du génome de 7,5 kb de JSRV, après purification des virions à partir de lavages pulmonaires de moutons naturellement infectés (23). Le JSRV a été classifié comme un bêta-rétrovirus en raison de son organisation génétique et de ses protéines de structure. Bien que les gènes clonés du JSRV, utilisés comme sondes en hybridation, aient révélé une gamme de séquences endogènes homologues dans le génome de moutons à la fois sains et atteints d'OPA (1, 9, 23), Le JSRV est clairement exogène et associé exclusivement à l'OPA (13). Le JSRV est détecté de façon constante dans le liquide pulmonaire, la tumeur, les cellules mononucléées du sang périphérique et les tissus lymphoïdes des moutons atteints d'OPA, et des partenaires au contact sans signe clinique ; ce virus n'a jamais été détecté chez les moutons de troupeaux non atteints ou sans historique de tumeur. Des clones proviraux entiers du JSRV ont été obtenus à partir d'ADN de tumeur d'OPA. Les particules de virus JSRV, préparées à partir de ces clones par transfection provisoire d'une lignée cellulaire, ont été utilisées pour l'inoculation intra-trachéale d'agneaux nouveau-nés. Une tumeur d'OPA a été induite chez des agneaux, démontrant ainsi que le JSRV est l'agent causal de l'OPA (6, 15).

Le génome du mouton contient de nombreuses copies des séquences endogènes virales qui sont étroitement apparentées au JSRV. Bien qu'elles ne soient pas impliquées dans l'étiologie de l'OPA, l'expression de ces séquences chez le fœtus pourrait, en induisant une tolérance, jouer un rôle dans l'absence apparente de réponse immunitaire de la part des animaux adultes envers le JSRV exogène (14).

a) Méthodes de reconnaissance des acides nucléiques

Le séquençage du JSRV et l'analyse des séquences endogènes du génome des moutons ont permis de développer des techniques PCR détectant spécifiquement le JSRV (1, 13). À l'aide de cette méthode très sensible, le JSRV a été détecté dans les cellules mononucléées du sang périphérique de moutons sans signes cliniques provenant de troupeaux atteints d'OPA, aussi bien qu'à partir d'agneaux expérimentalement infectés (5, 7, 10), et d'échantillons de lavage broncho-alvéolaire de moutons non infectés mais au contact (22). Des études longitudinales sur des troupeaux infectés par l'OPA ont démontré que les agneaux s'infectent très jeunes. Un pourcentage important des animaux de tels troupeaux est infecté bien que seulement une minorité d'entre eux développeront une OPA clinique (2, 16). Le JSRV a été retrouvé dans le colostrum et le lait des brebis de troupeaux infectés et le JSRV peut être détecté, dans les mois qui suivent, dans le sang des agneaux alimentés artificiellement avec ce colostrum ou ce lait (De las Heras *et al.* résultats non publiés).

• Contrôle et traitement

b) Inoculation à l'animal

L'OPA ne peut être transmise à aucun animal de laboratoire, mais peut être transmise au mouton avec du matériel contenant le JSRV, tel que des homogénats de tumeur, du liquide pulmonaire acellulaire concentré provenant de cas naturels d'OPA, ou des virus produits à partir de clones moléculaires. Après inoculation expérimentale de moutons adultes, la maladie clinique ne se développe qu'après plusieurs mois ou plusieurs années. En revanche, une infection par le JSRV est obtenue dans 100 % des cas lors d'inoculation similaire d'agneaux âgés de 1 à 6 mois, et une grande partie de ces agneaux développe une maladie clinique (62-90 %) et des lésions (87-100 %) (17).

Actuellement, il n'existe aucune méthode pratique d'inoculation à l'animal pour le diagnostic de l'OPA.

c) Isolement du virus

Il n'existe pas de système cellulaire permissif pour la propagation du JSRV. Quelques cultures cellulaires préparées à partir de tumeurs de jeunes agneaux peuvent permettre la réplication virale pendant une courte période de temps (11, 18).

d) Signes cliniques et pathologie

En absence actuellement de méthodes de laboratoire fiables pour le diagnostic *ante mortem* de l'OPA, l'étude de l'histoire du troupeau, des signes cliniques et l'examen des lésions post-mortem sont les éléments du diagnostic de base de la maladie. L'OPA ayant une longue période d'incubation, la maladie clinique est rencontrée le plus couramment chez des moutons de plus de 2 ans d'âge, avec un pic d'incidence à l'âge de 3 à 4 ans. Exceptionnellement, la maladie apparaît chez des animaux âgés de seulement 2 à 3 mois. Les signes prédominants sont ceux d'une gêne respiratoire progressive, particulièrement après déplacement ; la sévérité des signes reflète l'importance du développement de la tumeur dans les poumons. L'accumulation de liquide dans le tractus respiratoire est un signe prédominant de l'OPA, elle est à la cause des râles humides facilement détectés à l'auscultation. En soulevant l'arrière-train et en baissant la tête de la brebis malade, on peut causer l'écoulement d'un abondant liquide visqueux et écumeux par les naseaux. La toux et l'inappétence ne sont pas communes, mais, après l'installation des signes cliniques, la perte de poids est progressive et la phase terminale apparaît en quelques semaines ou en quelques mois. La mort est souvent accélérée en cas de complication par une pneumonie bactérienne, en particulier par l'infection à *Mannheimia* (autrefois *Pasteurella*) *haemolytica*. Chez les animaux cliniquement atteints, le diagnostic clinique peut être complété par une lymphopénie caractérisée par une diminution des lymphocytes T CD4+ et une neutrophilie correspondante, mais ces modifications ne sont pas pathognomoniques et ne sont pas détectées dans les phases précoces de l'infection expérimentale (20).

Dans quelques pays, on peut observer une autre forme d'OPA (l'OPA atypique) qui apparaît généralement comme une observation fortuite lors d'examens à l'autopsie ou à l'abattoir (4).

e) Autopsie

Les lésions de l'OPA sont dans la plupart des cas limitées aux poumons, bien qu'il puisse se produire une métastase intra et extra thoracique vers des nœuds lymphatiques ou d'autres tissus. Typiquement, les poumons affectés présentent, par rapport à la normale, une augmentation importante du volume et du poids, en raison de l'invasion massive du tissu pulmonaire par des lésions extensives à nodules grisâtres durs et confluents. Le plus souvent, les lésions sont présentes dans les deux poumons, bien que la surface atteinte de l'un ou de l'autre côté soit très variable. Les tumeurs sont fermes, de couleur grise à rosée, comme lustrées d'une brillance translucide et souvent séparées du poumon normal adjacent par une étroite zone emphysémateuse. La présence dans les conduits respiratoires d'un liquide blanc spumeux est un signe caractéristique que l'on retrouve nécessairement même dans des lésions très petites de quelques millimètres. Dans les cas avancés, ce liquide s'écoule de la trachée si elle est coupée ou pendante. Les échantillons doivent être prélevés au cours de l'autopsie pour les examens histopathologique ou immunohistochimique, ainsi que pour l'épreuve de PCR.

La pleurésie peut être manifeste en surface de la tumeur, et des abcès sont souvent présents dans le tissu adénomateux.

Dans l'OPA atypique, les tumeurs se composent de nodules blancs, durs, solitaires ou agrégés, présentant une surface sèche à la coupe et sont clairement délimitées du tissu qui les entoure. La présence de liquide en quantité n'est pas un caractère prédominant.

Les moutons adultes, dont l'examen post-mortem révèle qu'ils sont morts d'une pasteurellose aiguë, devraient faire l'objet d'un examen très attentif des poumons : en effet, les lésions de l'OPA peuvent être masquées par la coexistence d'une broncho-pneumonie, d'une pneumonie vermineuse, d'une pneumonie progressive chronique (maedi-visna) ou d'une combinaison de ces maladies. Il est recommandé que des échantillons soient prélevés à l'autopsie pour examen histopathologique.

f) Histopathologie

Histologiquement, les lésions sont caractérisées par la prolifération, principalement, de pneumocytes de type II, une cellule épithéliale sécrétoire dans les alvéoles pulmonaires. Des cellules non ciliées (cellules de Clara) et des cellules épithéliales des bronchioles terminales peuvent être impliquées. Les cellules tumorales cuboïdales ou cylindriques remplacent les fines cellules alvéolaires et forment parfois des proliférations papilliformes qui se projettent dans les alvéoles. Une prolifération intrabronchiolaire peut être observée. Dans les cas avancés, une fibrose extensive peut se développer et, occasionnellement, on peut remarquer la présence de nodules de tissu conjonctif mou au milieu d'une substance de nature mucopolysaccharidique.

Un aspect prédominant de cette pathologie est l'accumulation d'un grand nombre de macrophages alvéolaires dans les alvéoles adjacentes aux lésions néoplasiques (21).

En cas d'affection simultanée à maedi-visna, on pourra observer principalement des infiltrats lymphoïdes périvasculaires, périfonchiolaires et intersticiels.

L'aspect histologique de l'OPA atypique est essentiellement le même que pour l'OPA classique, mais avec une réponse inflammatoire exagérée (surtout à lymphocytes et plasmocytes) et de la fibrose (4).

Pour des explications plus détaillées concernant les aspects cliniques, les observations post-mortem et l'histopathologie de l'OPA, le lecteur pourra se référer à d'autres articles (4, 19).

Il semble qu'il y ait une interaction créant un effet de synergie entre l'OPA et le maedi-visna. La transmission latérale du maedi-visna paraît bien être augmentée chez les moutons atteints de l'OPA (3, 8).

2. Épreuves sérologiques

Actuellement, il n'existe pas d'épreuves de laboratoire qui permettent de pratiquer un diagnostic clinique sur l'animal vivant. Le virus JSRV est exclusivement associé avec les deux formes d'OPA, typique et atypique, mais on ne peut pas détecter des anticorps dirigés contre ce virus dans le sérum des moutons infectés, même en utilisant des épreuves très sensibles comme l'immuno-empreinte (immunoblotting) ou une épreuve immuno-enzymatique (12, 20).

C. SPÉCIFICATIONS APPLICABLES AUX VACCINS ET AUX PRODUITS BIOLOGIQUES À USAGE DIAGNOSTIQUE

Actuellement, aucun vaccin ni réactif biologique de diagnostic n'est disponible.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BAI J., ZHU R.-Y., STEDMAN K., COUSENS C., CARLSON J.O., SHARP J.M. & DEMARTINI J.C. (1996). Unique long terminal repeat U3 sequences distinguish exogenous jaagsiekte sheep retroviruses associated with ovine pulmonary carcinoma from endogenous loci in the sheep genome. *J. Virol.*, **70**, 3159–3168.
2. CAPORALE M., CENTORAME P., GIOVANNINI A., SACCHINI F., DI VENTURA M., DE LAS HERAS M. & PALMARINI M. (2005). Infection of lung epithelial cells and induction of pulmonary adenocarcinoma is not the most common outcome of naturally occurring JSRV infection during the commercial lifespan of sheep. *Virology*, **338**, 144–153.
3. DAWSON M., VENABLES C. & JENKINS C.E. (1985). Experimental infection of a natural case of sheep pulmonary adenomatosis with maedi-visna virus. *Vet. Rec.* **116**, 588–589.
4. DE LAS HERAS M., GONZALEZ L.G. & SHARP J.M. (2003). Pathology of ovine pulmonary adenocarcinoma. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **275**, 25–54
5. DE LAS HERAS M., ORTÍN A., SALVATORI D., PÉREZ DE VILLAREAL M., COUSENS C., FERRER L.M., GARCÍA DE JALÓN J.A., GONZALEZ L. & SHARP J.M. (2005). A PCR technique for the detection of Jaagsiekte retrovirus in the blood suitable for the screening of virus infection in sheep flocks. *Res. Vet. Sci.*, **79**, 259–264
6. DEMARTINI J.C., BISHOP J.V., ALLEN T.E., JASSIM F.A., SHARP J.M., DE LAS HERAS M., VOELKER D.R. & CARLSON J.O. (2001). Jaagsiekte sheep retrovirus proviral clone JSRVJS7, derived from the JS7 lung tumor cell line, induces ovine pulmonary carcinoma and is integrated into the surfactant protein A gene. *J. Virol.*, **75**, 4239–4246
7. GONZALEZ L., GARCIA-GOTI M., COUSENS C., DEWAR P., CORTABARRIA N., EXTRAMIANA B., ORTIN A., DE LAS HERAS M. & SHARP J.M. (2001). Jaagsiekte sheep retrovirus can be detected in the peripheral blood during the preclinical period of sheep pulmonary adenomatosis. *J. Gen. Virol.*, **82**, 1355–1358.

8. GONZALEZ L., JUSTE R.A., CUERVO L.A., IDIGORAS I. & SAEZ DE OCARIZ C. (1993). Pathological and epidemiological aspects of the coexistence of maedi-visna and sheep pulmonary adenomatosis. *Res. Vet. Sci.*, **54**, 140–146.
9. HECHT S.J., CARLSON J.O. & DE MARTINI J.C. (1994). Analysis of a type D retroviral capsid gene expressed in ovine pulmonary carcinoma and present in both affected and unaffected sheep genomes. *Virology*, **202**, 480–484.
10. HOLLAND M.J., PALMARINI M., GARCIA-GOTI M., GONZALEZ L., DE LAS HERAS M. & SHARP J.M. (1999). Jaagsiekte retrovirus establishes a pantropic infection of lymphoid cells of sheep with naturally and experimentally acquired pulmonary adenomatosis. *J. Virol.*, **73**, 4004–4008.
11. JASSIM F.A. (1988). Identification and characterisation of transformed cells in jaagsiekte, a contagious lung tumour of sheep. PhD thesis. University of Edinburgh, UK.
12. ORTIN A., MINGUIJON E., DEWAR P., GARCIA M., FERRER L.M., PALMARINI M., GONZALEZ L., SHARP J.M. & DE LAS HERAS M. (1997). Lack of a specific immune response against a recombinant capsid protein of Jaagsiekte sheep retrovirus in sheep and goats naturally affected by enzootic nasal tumour or sheep pulmonary adenomatosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **61**, 239–237.
13. PALMARINI M., COUSENS C., DALZIEL R.G., BAI J., STEDMAN K, DEMARTINI J.C. & SHARP J.M. (1996). The exogenous form of Jaagsiekte retrovirus (JSRV) is specifically associated with a contagious lung cancer of sheep. *J. Virol.*, **70**, 1618–1623.
14. PALMARINI M., MURA M. & SPENCER T. (2004). Endogenous betaretroviruses of sheep: teaching new lessons in retroviral interference and adaptation. *J. Gen. Virol.*, **85**, 1–13.
15. PALMARINI M., SHARP J.M., DE LAS HERAS M. & FAN H.Y. (1999). Jaagsiekte sheep retrovirus is necessary and sufficient to induce a contagious lung cancer in sheep. *J. Virol.*, **73**, 6964–6972.
16. SALVATORI D. (2005). Studies on the pathogenesis and epidemiology of ovine pulmonary adenomatosis (OPA). PhD thesis, University of Edinburgh, Scotland, UK.
17. SALVATORI D., COUSENS C., DEWAR P., ORTIN A., GONZALEZ L., DE LAS HERAS M., DALZIEL R.G. & SHARP J.M. (2004). Effect of age at inoculation on the development of ovine pulmonary adenocarcinoma. *J. Gen. Virol.*, **85**, 3319–3324.
18. SHARP J.M., HERRING A.J., ANGUS K.W., SCOTT F.M.M. & JASSIM F.A. (1985). Isolation and *in vitro* propagation of a retrovirus from sheep pulmonary adenomatosis. *In: Slow Virus Diseases in Sheep, Goats and Cattle*. Sharp J.M. & Hoff-Jorgensen R., eds. CEC Report EUR 8076 EN, Luxembourg, 345–348.
19. SHARP J.M. & DEMARTINI J.C. (2003). Natural history of JSRV in sheep. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **275**, 55–79.
20. SUMMERS C., NEILL W., DEWAR P., GONZALEZ L., VAN DER MOLEN R., NORVAL M. & SHARP J.M. (2002). Systemic immune responses following infection with jaagsiekte sheep retrovirus and in the terminal stages of ovine pulmonary adenocarcinoma. *J. Gen. Virol.*, **83**, 1753–1757.
21. SUMMERS C., NORVAL M., DE LAS HERAS M., GONZALEZ L., SHARP J.M. & WOODS G.M. (2005). An influx of macrophages is the predominant local immune response in ovine pulmonary adenocarcinoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **106**, 285–294.
22. VOIGT K., BRÜGMANN M., HUBER K., DEWAR P., COUSENS C., HALL M., SHARP J.M. & GANTER M. (2007). PCR examination of bronchoalveolar lavage samples is a useful tool in preclinical diagnosis of ovine pulmonary adenocarcinoma (Jaagsiekte), *Res. Vet. Sci.*, in press.
23. YORK D.F., VIGNE R., VERWOERD D.W. & QUERAT G. (1992). Nucleotide sequence of the jaagsiekte retrovirus, an exogenous and endogenous type D and B retrovirus of sheep and goats. *J. Virol.*, **66**, 4930–4939.

*

* *