

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

# Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master

en

Médecine vétérinaire

## THEME

**Contribution a une etude de la prevalence du virus de Schmallenberg chez les chevaux dans la wilaya d'Alger**

**Présenté par :** ZIANI Yasmine

Soutenu publiquement, le 28/10/2020 devant le jury :

Mr ZAOUANI M.

MCA (ENSV)

Présidente

Mme ZENAD W.

MAA (ENSV)

Examinatrice

Mr MIROUD K

MCA (ISV El Taref)

Promoteur

Mme AIT OUDHIA K.

Professeur (ENSV)

Co-promotrice

2020-2019

# REMERCIEMENTS

A notre promotrice Pr : AIT OUDHIA Khatima. Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'avoir accepté de nous encadrer, nous la remercions profondément d'avoir été présente à tout moment pour la réalisation de ce travail, pour ses encouragements continuels et motivants, pour son soutien moral et ses remarques pertinentes. Nous voudrions également lui témoigner notre sincère gratitude pour sa patience et son énorme gentillesse qui nous ont été précieuses afin de mener ce travail à bon port.

Au Dr M.ZAOUANI : Enseignant à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider notre jury. Veuillez trouver ici l'assurance de nos sincères remerciements et de notre profond respect.

Au Dr. W.ZENAD : Enseignante à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, d'avoir accepté d'examiner ce travail après tout ce que vous nous avez appris durant notre cursus, merci d'avoir partagé avec nous votre amour pour cette noble profession.

A madame ZIANI Imene. Nous vous présentons nos vifs remerciements pour tout ce que vous avez fait pour réaliser ce travail. Vous l'avez dirigé avec une disponibilité constante, vos compétences, votre rigueur ainsi que vos conseils mémorables nous ont beaucoup appris.

Au Professeur KHEMRI D, du service de néphrologie de l'hôpital Mustapha que nous remercions de nous avoir soutenu dans la réalisation de ce projet.

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

# SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	viii
<b>1. Qu'est-ce que la maladie de Schmallenberg ?</b> .....	1
1.1. Définition .....	1
1.2. Historique et repartition géographique : .....	1
1.3. Impact de SBV au sein des systèmes d'élevage.....	3
<b>2. Quel est l'agent pathogène responsable de la maladie ?</b> .....	3
2.1 Taxonomie et phylogénie .....	3
<b>2.1.1 Le virion :</b> .....	3
<b>2.1.2. Caractéristiques génomiques :</b> .....	4
<b>2.1.3. Le cycle viral du SBV</b> .....	7
2.2. Epidémiologie .....	8
<b>2.2.1 Espèces sensibles</b> .....	8
<b>2.2.2. Le mode de transmission du virus</b> .....	11
2.3 Diagnostic de la maladie de Schmallenberg .....	14
<b>2.3.1 Diagnostic clinique</b> .....	14
<b>2.3.2 Diagnostic post mortem</b> .....	17
<b>2.3.3 Diagnostic différentiel</b> .....	21
<b>2.3.4 Diagnostic biologique</b> .....	23
2.4 Prévention et mesures de lutte .....	25
<b>2.4.1 La lutte contre le vecteur :</b> .....	26
<b>2.4.2 La vaccination :</b> .....	27
<b>1. Origine et objectifs de l'étude :</b> .....	28
<b>2. Présentation de la problématique de recherche :</b> .....	28
<b>3. Schéma de l'étude et les caractéristiques des sujets de l'échantillon :</b> .....	29
a) Schéma général de l'étude : .....	29
b) Définition de la population étudiée : .....	29
<b>1. Réalisation d'un questionnaire :</b> .....	29
<b>2. Délimitation des zones :</b> .....	30
<b>3. Réalisation de prélèvements sanguins :</b> .....	31
3.1 Matériel nécessaire : .....	31
3.2 Méthode de prélèvement : .....	31
<b>4. Analyse sérologique en laboratoire : La technique Elisa :</b> .....	33
4.1 Composant du kit : .....	33
<b>III. Résultats obtenu dans le cadre de l'étude du SBV et discussion :</b> .....	36

Références .....	41
------------------	----

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> Répartition de la maladie de Schmallenberg par pays et date du premier rapport de détection par sérologie et /ou RT-qPCR (Áine B. Collins, 2019) .....	2
<b>Figure 2</b> Vue schématique du virion du SBV (Doceul V, 2017).....	4
<b>Figure 3</b> Génome du SBV (Doceul V, 2017).....	5
<b>Figure 4</b> Etapes classiques du cycle des Orthobunyavirus. E.E. : early endosome ; L.E. : late endosome. (CIFUENTES-MUNOZ N, 2014) .....	8
<b>Figure 5</b> Graphique représentant la fréquence d’observation des signes cliniques lors De SBV aigu chez les bovins (d’après Collin et al.,2012). .....	15
<b>Figure 6</b> Fréquence d’observations des différentes malformations dans les élevages bovins (D’après Gache et al.,2014 ; Desmarais, 2015). .....	16
<b>Figure 7</b> Arthrogrypose et léger torticolis chez un agneau atteint d’SBV congénital (Desfontaines, octobre 2013, cote d’Or.).....	16
<b>Figure 8</b> anamnèse et état des lieux. ....	30
<b>Figure 9</b> Région Est (avec agrandissement sur le lac de Reghaia) .....	31
<b>Figure 10</b> Région Ouest.....	31
<b>Figure 11</b> Matériel utilisé pour le prélèvement sanguin.....	31
<b>Figure 12</b> Prise de sang au niveau de la veine jugulaire du cheval. ....	32
<b>Figure 13</b> Acheminement des prélèvements au laboratoire afin de collecter le sérum .....	33
<b>Figure 14</b> Prélèvement du sérum par une micropipette après centrifugation puis congélation dans des microtubes Eppendorf. ....	33
<b>Figure 15</b> composants du kit Elisa. ....	34
<b>Figure 16</b> Distribution de la solution d’arrêt (modification de couleur du bleu au jaune dans les cupules) ; Plaque avec la solution d’arrêt prête pour la lecture (plaque terminée).....	35
<b>Figure 17</b> Lecture au spectrophotomètre /Lecteur ELISA. ....	35

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AHS</b>	ArthrogryposisHydranencephaly Syndrome
<b>AKAV</b>	Akabane virus
<b>AMM</b>	Autorisation de mise sur lemarché
<b>ARN</b>	Acideribonucléique
<b>BHK</b>	Baby hamster kidney cells
<b>BHM</b>	Barrière hémato-méningée
<b>BSA</b>	Bovine serum albumine
<b>BSE</b>	Bundle signaling element (Mx protein)
<b>BST</b>	Bone marrow stromal antigen 2 or Tetherine
<b>BVD</b>	Bovine viral diarrhea
<b>BVDV</b>	Bovine viral diarrhea virus
<b>CDS</b>	Coding sequence
<b>CNS</b>	Central nervous system
<b>cRNA</b>	Complementary ribonucleic acid
<b>DNA</b>	Deoxyribose nucleic acid
<b>dpi</b>	Day(s) post infection
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immunosorbent assay
<b>FACS</b>	Fluorescent Activated Cell Sorting
<b>FCS</b>	Fetal calf serum
<b>HEK</b>	Human embryonic kidney cells
<b>IV</b>	Intraveineuse
<b>KC</b>	Cellules de culicoïdes ( <i>Culicoides variipennissonorensis</i> )
<b>ORF</b>	Open reading frame
<b>PBS</b>	Phosphate buffer saline
<b>qRT-PCR</b>	Real time, reverse transcription, polymerase chain reaction
<b>RdRp</b>	RNA dependent RNA polymerase
<b>RFP</b>	Red fluorescent protein
<b>RNA</b>	Ribonucleic acid

## Résumé :

**Objectif :** le virus de Schmallenberg (SBV) est un virus nouvellement émergent appartenant au sérotype Simbu et qui a été signalé pour la première fois en 2011 en Allemagne. Il s'est répandu ensuite dans différents pays Européens. Les signes cliniques observés lors d'infections à ce virus sont : de la fièvre, une perte d'appétit, une baisse de la production laitière et dans quelques cas de la diarrhée et des malformations congénitales caractéristiques présents surtout chez les veaux, les agneaux et les chevreaux.

**Matériel et méthode :** Dans cette étude pour une enquête sérologique du SBV, des échantillons de sang de 151 chevaux dans la région d'Alger à forte population équine sont collectés et analysés à l'aide d'un Test ELISA.

**Résultats :** Sur la base de nos résultats, 17% (n = 25) des 151 échantillons au total étaient positifs pour les anticorps anti-SBV et 83% (n = 126) étaient négatifs. Il y avait une différence significative entre l'âge et le sexe. En effet, les femelles ont semblé être plus touchées par le virus du fait de l'immunodépression de ces dernières dues aux gestations et aux lactations. De la même façon, les jeunes animaux de moins de 11 ans semblent être plus sujets à l'infection. Du fait que ces derniers soient plus actifs que les adultes et qu'ils soient plus utilisés dans diverses activités sportives et de loisir, et par conséquent plus exposés aux piqures d'insectes.

**Conclusion :** Cette étude a démontré la présence d'anticorps anti SBV sur des populations de chevaux en Algérie. La présence des moucheron piqueurs Culicoides et les conditions de vie appropriées, en particulier dans les zones tempérées et conditions environnementales humides par la présence des deux lacs de Reghaia et du Parc Dounya, sont les causes possibles des maladies liées aux arbovirus observées dans ce pays.

**Mots clés :** cheval, Algérie, nouvelle maladie émergente, virus de Schmallenberg.

## ملخص

**الهدف:** فيروس (SBV) Schmallenberg هو فيروس ناشئ حديثاً ينتمي إلى مجموعة Simbu المصلية ، وقد تم الإبلاغ عنه لأول مرة في عام 2011 في ألمانيا. ثم انتشر إلى دول أوروبية مختلفة. العلامات السريرية التي لوحظت أثناء الإصابة بهذا الفيروس هي: الحمى ، وفقدان الشهية ، وانخفاض إنتاج الحليب ، وفي بعض الحالات الإسهال والتشوهات الخلقية المميزة الموجودة خاصة في العجول.

**المادة والطريقة:** في هذه الدراسة للمسح المصلي لـ SBV ، تم جمع عينات دم من 151 حصاناً في منطقة الجزائر العاصمة مع عدد كبير من الخيول وتحليلها باستخدام اختبار ELISA.

**النتائج:** بناءً على نتائجنا ، كانت 17% (n = 25) من إجمالي 151 عينة إيجابية للأجسام المضادة لـ SBV و 83% (n = 126) كانت سلبية. كان هناك فرق كبير بين العمر والجنس. في الواقع ، يبدو أن الإناث أكثر تضرراً من الفيروس بسبب تثبيط المناعة بسبب الحمل والرضاعة. وبالمثل ، تبدو الحيوانات الصغيرة تحت سن 11 أكثر عرضة للإصابة. لأن الأخير أكثر نشاطاً من البالغين ويستخدمون أكثر في مختلف الأنشطة الرياضية والترفيهية ، وبالتالي أكثر تعرضاً لدغات الحشرات.

**الخلاصة:** أظهرت هذه الدراسة وجود الأجسام المضادة لـ SBV في تجمعات الخيول في الجزائر. إن وجود البراغيش القارصة Culicoides والظروف المعيشية المناسبة ، خاصة في المناطق المعتدلة والظروف البيئية الرطبة من خلال وجود بحيرتي الرغاية ومنتزه الدنيا ، من الأسباب المحتملة للأمراض المرتبطة بالفيروسات المنقولة بالمفصليات التي لوحظت في هذا البلد.

**الكلمات المفتاحية:** حصان ، الجزائر ، مرض ناشئ جديد ، فيروس شماليينبيرج.

## **Abstract :**

**Objective:** Schmallerberg virus (SBV) is a newly emerging virus belonging to the Simbu serogroup and which was first reported in 2011 in Germany. It then spread to different European countries. The clinical signs observed during infections with this virus are: fever, loss of appetite, reduced milk production and in some cases diarrhea and characteristic congenital malformations present especially in calves, lambs and the kids.

**Material and method:** In this study for a serological survey of SBV, blood samples from 151 horses in the region of Algiers with a large equine population are collected and analyzed using an ELISA test.

**Results:** Based on our results, 17% (n = 25) of the total 151 samples were positive for anti-SBV antibodies and 83% (n = 126) were negative. There was a significant difference between age and sex. In fact, females seemed to be more affected by the virus due to their immunosuppression due to pregnancy and lactation. Likewise, young animals under the age of 11 appear to be more prone to infection. Because the latter are more active than adults and are used more in various sports and leisure activities, and therefore more exposed to insect bites.

**Conclusion:** This study demonstrated the presence of anti SBV antibodies in populations of horses in Algeria. The presence of Culicoides biting midges and the appropriate living conditions, in particular in temperate zones and humid environmental conditions by the presence of the two lakes of Reghaia and Dounya Park, are the possible causes of the diseases linked to arboviruses observed in this country.

**Keywords:** horse, Algeria, new emerging disease, Schmallerberg virus.

## Introduction

Le virus de Schmallerberg a été identifié pour la première fois en novembre 2011 en Allemagne chez des bovins et ovins présentant des symptômes atypiques. Ce virus fait partie de la famille des *Bunyaviridae*, genre *Orthobunyaviridae*, et est proche des virus Akabane, Aino et Shamonda, 3 virus connus uniquement chez les ruminants. Les *Bunyavirus* sont principalement transmis par les culicoïdes et éventuellement par les moustiques. La détection de la maladie est donc fortement liée avec la période d'activité des vecteurs (Martinelle et al., 2012).

La maladie chez les équidés se manifeste essentiellement par des signes cliniques tels que de la fièvre, une perte d'appétit et une dégradation de l'état général. Les signes cliniques disparaissent généralement en quelques jours. Dans le cas d'une infection pendant la gestation de la jument, des avortements, de la mortalité ainsi que des atteintes congénitales de type arthrogrypose et hydranencéphalie sont rapportées (Rasekh et al., 2018).

D'après les informations actuellement disponibles, il s'avère que le virus de Schmallerberg infecte principalement les ruminants. Cependant, bien que le risque zoonotique soit considéré comme très faible, l'émergence du SBV a constitué dès sa découverte un évènement majeur en santé animale et un nouveau défi pour les vétérinaires et les chercheurs dans le monde. Ceci a mené au développement de nombreuses enquêtes épidémiologiques, immunologiques et virologiques dans plusieurs pays.

Depuis quelques années, plusieurs études ont été menées afin de déterminer une éventuelle circulation du SBV parmi les animaux, aussi bien domestiques que sauvages. Les analyses sérologiques ont permis de montrer une large circulation virale chez de nombreuses espèces animales dans le monde, principalement en Europe (Ziantara et al., 2012).

En Algérie, très peu d'informations sont disponibles quant à la maladie elle-même, la circulation du virus au sein de nos élevages et les modalités de transmission sur le terrain. L'Algérie, une région aux multiples strates climatiques, représente un contexte agroécologique et socio-économique spécifique, conduisant à des effets épidémiologiques très spécifiques. Un véritable modèle pour plusieurs maladies animales.

Le statut passé et actuel de l'infection par le virus de Schmallerberg n'est pas bien connu car peu d'études sont disponibles pour l'instant. C'est dans ce contexte que cette étude a été entreprise dans le but d'étoffer les connaissances sur la présence de la maladie sur notre territoire et de mettre en évidence la circulation du virus à travers une enquête sérologique, permettant la mise en évidence des anticorps anti-virus Schmallerberg, témoins de l'infection, voire de la maladie. Si des interrogations se posent au sujet de l'origine de la maladie, les vétérinaires ainsi que les propriétaires de chevaux sont surtout inquiets concernant l'avenir de la maladie.

Dans un premier temps, nous avons enrichi notre recherche par une revue exhaustive de la littérature, que ce soit par l'étude de l'agent infectieux, de sa pathogénie pour la reliée à la pathologie et aux méthodes diagnostiques et de prévention. La seconde partie correspond à notre étude expérimentale. Celle-ci décrit les résultats de la prévalence du virus chez les équidés et d'anticiper d'éventuelles mesures préventives à instaurer en cas d'émergence officielle du virus.

## **I. Généralités sur la maladie de Schmalleberg**

### **1. Qu'est-ce que la maladie de Schmalleberg ?**

#### **1.1. Définition**

Le virus de Schmalleberg (SBV) est un orthobunyavirus appartenant au serogroupe Simbu, de la famille des Bunyaviridae. Ce virus ayant émergé durant l'été 2011 en Europe centrale a été associé à des déformations caractéristiques dont les plus importantes sont l'arthrogrypose, le torticolis, la scoliose, l'hydrocéphalie ainsi que des déformations de la face. Ces malformations sont observées chez des veaux nouveau-nés mais aussi à des avortements et à des pertes embryonnaires précoces des agneaux et des chevreaux après l'infection de femelles gestantes (Hoffmann Bernd., 2011).

Cependant, La plupart des infections n'induisent pas de virémie et restent asymptomatiques chez les ruminants adultes, certains signes non spécifiques comme la fièvre, la diminution de la production de lait, la baisse de l'ingestion et de la diarrhée ont été signalées (Steinrigl A., 2014).

SB s'est ensuite propagé très rapidement à travers tout le continent, affectant principalement les ruminants domestiques. A noter que des anticorps anti-SBV ont également été trouvés chez des ruminants sauvages en liberté dans plusieurs pays européens et chez certains animaux gardés en captivité au Royaume-Unis et en Autriche. (Beer M., 2012)(Wernike K., 2014).(Fieke M. Molenaar, 2015).

Ce virus est transmis à l'animal par des insectes vecteurs. En effet, il a été prouvé que son génome viral a été détecté dans différentes espèces de moucheron culicoïdes dont la cécidomyie et chez certains moustiques (Lasse Dam Rasmussen, 2012) (A. R. W. Elbers, 2013)(Ana A fonso, 2014)(Scott Jones, 2019) (Magdalena Larska, 2013).

#### **1.2. Historique et repartition géographique :**

Le virus de Schmalleberg (SBV) a été identifié pour la première fois en novembre 2011 par l'Institut allemand Friedrich Loeffler (FLI) après avoir effectué des analyses génomiques consistant à amplifier tous les morceaux d'ARN et d'ADN de manière aléatoire sur des échantillons sanguins de bovins provenant d'une ferme dans la ville de Schmalleberg. (Rhénanie du Nord-Westphalie, Allemagne) (Hoffmann Bernd., 2011).

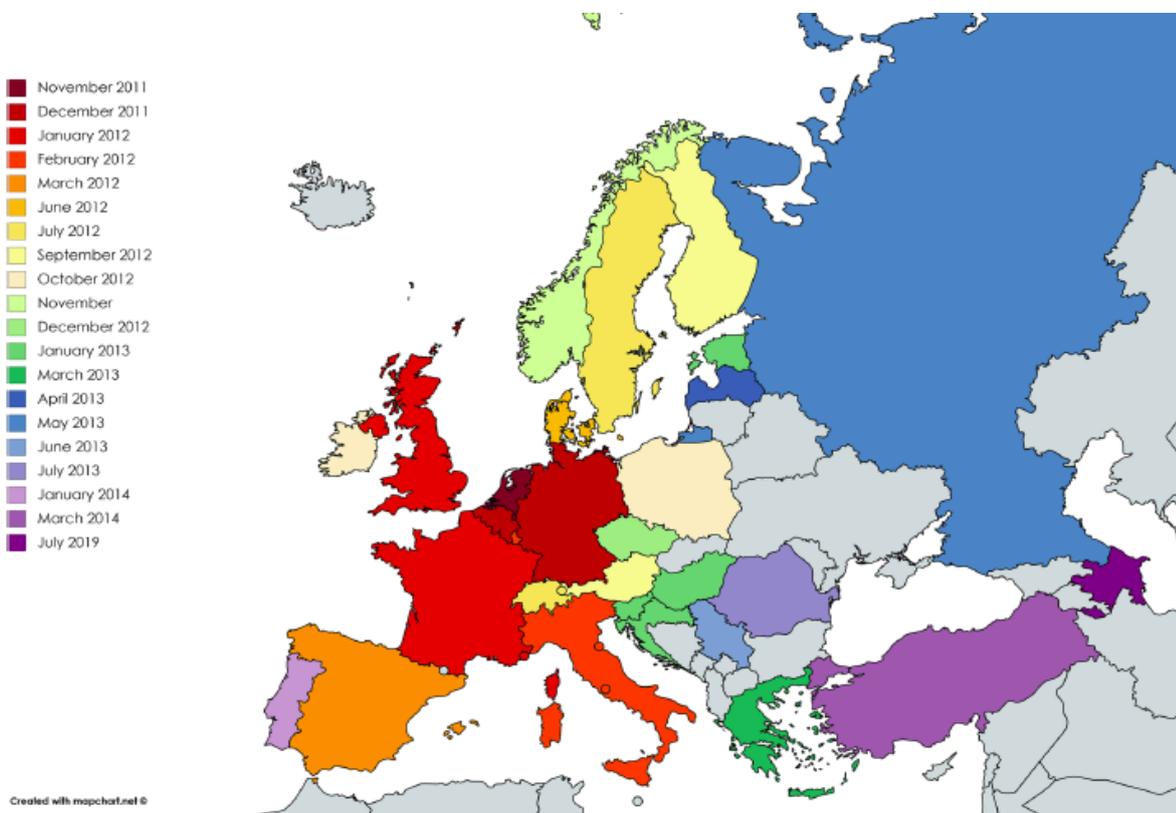
Les chercheurs du FLI à partir des premières séquences obtenues, ont créé une première PCR (Réaction de polymérisation en chaîne) et se sont ensuite rendu compte que le matériel génétique en provenance du SBV est présent chez les animaux présentant les signes cliniques de cette maladie.

De ce fait, ils ont prouvé que le nouvel orthobunyavirus (Schmallenberg) proche de celui du virus Shamonda, était l'agent pathogène à l'origine du syndrome observé.

SBV a ensuite circulé en Europe en 2012 et 2013 avec des cas signalés dans 13 846 exploitations de 29 pays différents, en touchant certaines espèces dont les alpagas, les bisons, les bovins, les ovins, les caprins, les cerfs, les buffles et les élans (Ana Afonso, 2014) (Barnabas King, 2015).

Le virus a ensuite été identifié à la fin de l'été/automne 2016, au Royaume-Uni, en Irlande et en Belgique chez un grand nombre d'animaux avec plusieurs cas de fœtus déformés apparus ultérieurement pendant la saison d'agnelage 2016-2017. (APHA. Disease surveillance in England and Wales, December 2016, 2016). (Garigliany M, 2012)

La diffusion de SBV a eu lieu en Europe et à l'international en 2017 et 2018. (Áine B. Collins, 2019).



*Figure 1 Répartition de la maladie de Schmallenberg par pays et date du premier rapport de détection par sérologie et /ou RT-qPCR (Áine B. Collins, 2019)*

### 1.3. Impact de SBV au sein des systèmes d'élevage

L'impact économique du virus de Schmallenberg est en général considéré comme faible car au sein d'un même élevage peu de sujets sont touchés et les signes cliniques observés sont peu visibles. Cependant, l'évaluation de la circulation du virus au sein des exploitations agricoles présente une importance majeure afin de faciliter la mise en place et la définition de moyens pour prévenir la maladie.

La conséquence économique du SBV dépend des systèmes de production, des pratiques de l'éleveur et du stade physiologique des animaux principalement lors de gestation. En effet, l'impact s'avère très important en élevage ovin viande, modéré en élevage bovin viande et en ovin lait pendant qu'il apparaît faible en bovin lait.

En période hivernale les femelles en fin de gestation sont les plus susceptibles de subir un impact modéré de même que lors de l'introduction dans un élevage d'animaux naïfs. Cependant, lors d'endémies, l'impact varie entre un impact nul et modéré.

Les signes cliniques souvent peu visibles et le nombre faible d'animaux atteints font que l'impact économique de SBV est généralement considéré comme faible et de ce fait, il est souvent négligé et sous-estimé par les intervenants en élevage : éleveurs et zootechniciens (RABOISSON Didier, 2015).

## 2. Quel est l'agent pathogène responsable de la maladie ?

### 2.1 Taxonomie et phylogénie

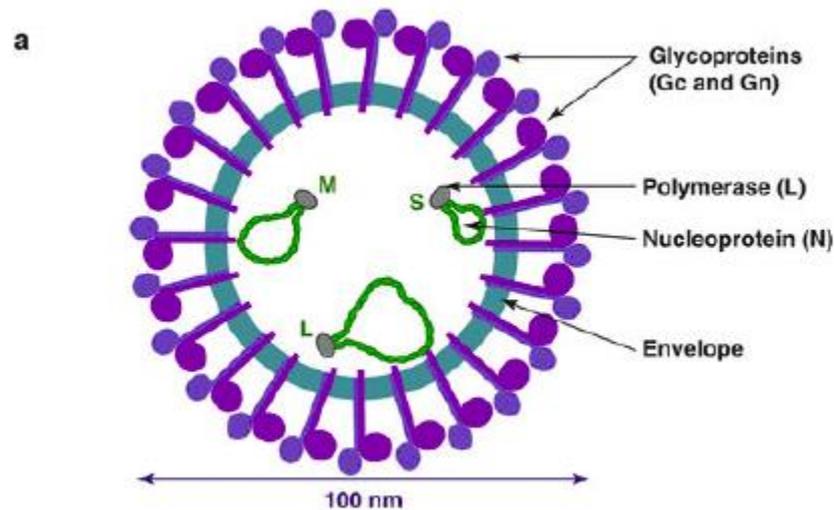
#### 2.1.1 Le virion :

Selon la nouvelle classification adoptée par l'« International Committee on Taxonomy of Viruses », l'espèce Schmallenbergorthobunyavirus est classée dans le genre Orthobunyavirus comptant 88 espèces et appartenant à la famille Peribunyaviridae de l'ordre des Bunyvirales.

Les caractéristiques morphologiques du virion de SBV sont les suivantes :

- Des hétérodimères formés des protéines transmembranaires Gc et Gn forment la membrane externe (Figure 2) ;
- La composition brute des virions des Peribunyaviridae a été estimée comme suit : ARN 2%, protéines 58%, lipides 33%, glucides 7% (Knipe D M, 2013) ;

- L'ARN viral présentant une polarité négative est divisé en trois segments qui sont recouverts par une protéine N multimérisée ;
- La protéine N En plus de la protection de l'ARN, assure l'ancrage de la polymérase virale aux segments d'ARN et lie l'extrémité carboxy-terminale des protéines Gn-Gc ce qui stabilise le virion (Plyusnin A, 2011).

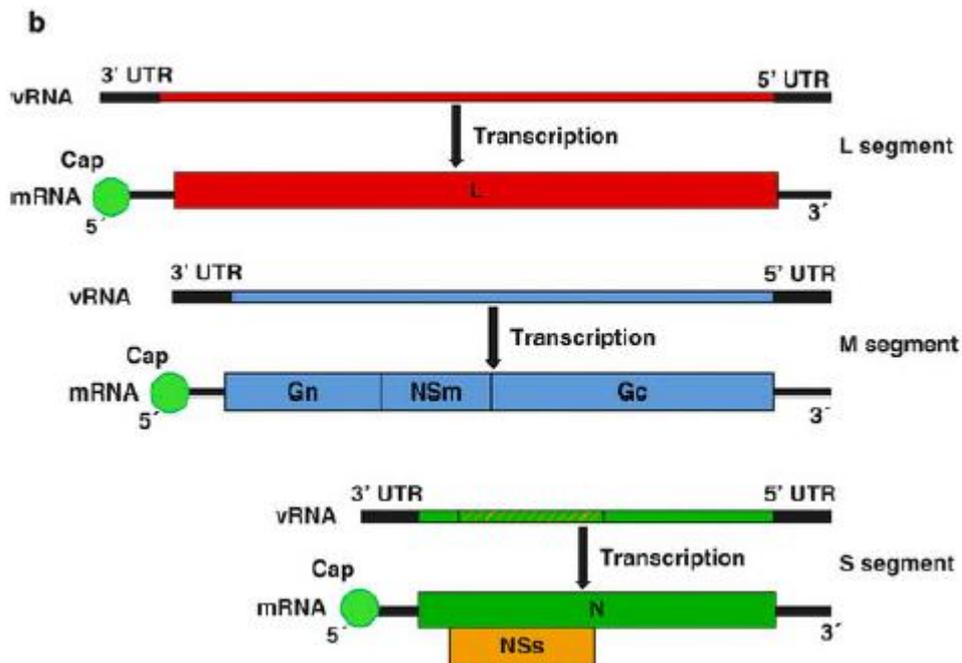


**Figure 2** Vue schématique du virion du SBV (Doceul V, 2017)

### 2.1.2. Caractéristiques génomiques :

Les virus de la famille des Bunyaviridae sont des virus enveloppés présentant un génome à ARN segmenté qui est composé de trois segments d'ARN de polarité négative : L (grand), M (moyen) et S (petit). Ces segments codent pour quatre protéines structurales et deux protéines non structurales :

- Le plus large (segment L) comprend 6865 nucléotides (nt) et attache la protéine L (Figure 3) la polymérase virale (ARN-dépendent ARN polymérase) ;
- Le moyen segment (M, 4415nt), attache les deux glycoprotéines membranaires Gn et Gc ainsi que la protéine NSm qui est une protéine non-structurale ;
- Le plus petit segment (S, 830nt) attache la nucléoprotéine N ainsi que la seconde protéine non-structurale NSs (Tarlinton R, 2012) ;
- Les extrémités 3' et 5' étant conservées parmi les Peribunyaviridae permettent la formation de molécules d'ARN circulaires fermées par des liaisons non-covalentes. Ces dernières forment à leur tour trois nucléoprotéines individuelles dont la composition est estimée à 4% de ARN et 96% de protéines avec la protéine N, (Knipe D M, 2013).



**Figure 3** Génome du SBV (Doceul V, 2017)

#### 2.1.2.a. Réassortiment virale du SBV :

SBV a été décrit par deux études phylogénétiques comme suit :

- Un virus recombiné dont les segment S et L provenaient du virus Shamonda et le segment M du virus Sathuperi (YANASE T, 2012) ;
- Un ancêtre du virus Shamonda et appartenant à l'espèce Sathuperi (GOLLER K.V, 2012) La survenue d'une telle recombinaison dépend d'une condition qui est la co-infection d'une cellule par des virus différents ;
- Il a été démontré qu'une cellule de mammifère ne pouvait être réinfectée une seconde fois après 16 heures d'infection (WERNIKE K., 2016).

La capacité de recombinaison des virus Sathuperi et Shamonda a été testée in vitro sur des cellules de mammifères et celles d'insectes. Les virus recombinés en cellules mammifères s'avèrent très nombreux mais au fil des passages, une forte pression de sélection s'exerce, contrairement aux cellules d'insectes où le taux de réassortiment génétique est moindre pendant que le nombre de descendants est plus important (COUPEAU D, 2019)

Enfin, une dernière étude a démontré qu'une combinaison très proche du duo de protéines N et L de SBV présente une importance pour la viabilité d'un virus réassorti en lui permettant une bonne transcription et réplication d'une large variété de génomes d'Orthobunyavirus (TILSTON-LUNEL N.L, 2017). L'étude démontre aussi la

viabilité d'un virus recombiné dont les segments L et S provenant de SBV et celle du segment M, provenant du virus Oropouche agent pathogène humain. De ce fait, le résultat obtenu exprime la possibilité que les mécanismes de recombinaison des Orthobunyavirus pourraient avoir des conséquences du pour la santé publique.

#### **2.1.2.b. Recombinaison virale du SBV :**

Ce mécanisme exprimé en conditions expérimentales s'avère quasiment absent pendant que le mécanisme de mutation apparaît très limité et cela malgré la grande capacité des virus à ARN a la mutation(COUCPEAU D, 2019).

Les arbovirus subissent une pression de sélection intense entraînant ainsi une réduction de la diversité génétique de l'espèce et cela en maintenant une stabilité génétique importante(FORRESTER N, 2014). Cette stabilité génétique se retrouve aussi dans le cas de SBV (HOFMANN M.A, 2015). Mais, il existe deux exceptions caractérisant SBV et qui sont les suivantes :

- Comme les protéines Gn et Gc du segment M sont les plus immunogènes, ce segment présente alors des îlots génomiques d'hypervariabilité permettant ainsi au virus d'avoir une certaine capacité d'évasion face à la réponse immunitaire de l'hôte(COUCPEAU D C. F., 2013)(Fischer, 2013). En effet, lors d'expériences préliminaires de vaccination, la partie N-terminale qui est ciblée par la réponse immunitaire vaccinale va contenir cette séquence qui sera hypervariable (BOSHRA H.Y., 2017) ;
- Lors de l'infection in utero, le virus se multiplie à l'intérieur d'un seul hôte qui est la femelle en gestation et y subit de nombreuses multiplications permettant ainsi l'expression de la diversité génétique naturelle des virus à ARN. Cette diversité génétique des fœtus malformés sera donc plus importante. De ce fait, des chercheurs du FLI ont publié en 2019 un article visant à mettre en garde contre la phylogénie de SBV basée sur des prélèvements issus de fœtus malformés. Cette étude a mis en évidence qu'une partie de ces mutations se concentre dans la partie Gc du segment M qui est reconnue par les anticorps neutralisants et de ce fait, être le résultat d'une sélection induite par le système immunitaire de l'hôte (WERNIKE K, 2019).

#### **2.1.2.c. Capacité de survie en milieu extérieur :**

Après exploration des résultats obtenus à partir d'Orthobunyavirus du séro groupe California, il semblerait que le pouvoir infectieux de SBV soit réduit fortement après un chauffage à 50-60°C pendant au moins 30 minutes ainsi que l'utilisation de désinfectants tels que le glutaraldéhyde à 2%, l'éthanol à 70%, le

formaldéhyde et l'eau de javel à 1% réduiraient fortement le pouvoir infectieux du SBV. La survie du virus dans le milieu extérieur, en dehors d'un vecteur ou de son hôte paraîtrait donc très limitée dans le temps (OIE, 2013a).

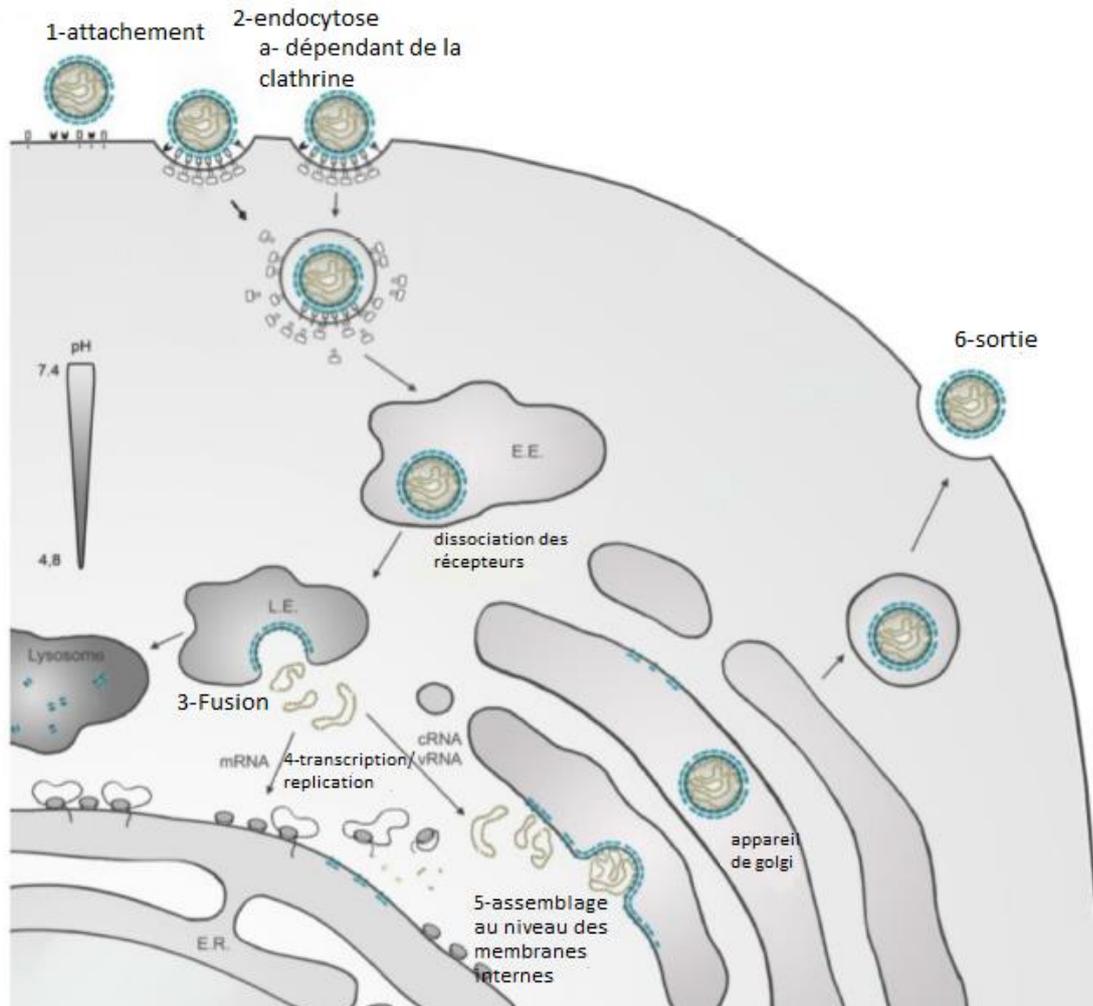
### **2.1.3. Le cycle viral du SBV**

Lorsqu'un hôte réceptif est piqué par un Culicoïdes, de la salive contenant le virus sera injectée à l'hôte. Une réplication in situ du virus est observée puis, elle sera suivie par une réplication dans les nœuds lymphatiques adjacents. Une phase de virémie sera observée en 2 à 5 jours et correspondra à la dissémination du virus dans tout l'organisme de l'hôte avant d'atteindre les organes cibles (HOFFMANN A.R, 2012).

L'attachement du virus à la membrane cellulaire de l'hôte se fait par l'intermédiaire des glycoprotéines et principalement par la glycoprotéine Gc. Cependant, la présence de la glycoprotéine Gn semble nécessaire pour que Gc présente une conformation exposant les sites d'attachement. Gn semble aussi participer directement à l'attachement du virus dans le tube digestif du moucheron vecteur (Knipe D M, 2013).

Le virus pénètre par endocytose après interaction entre les glycoprotéines de surface et les récepteurs cellulaires. Après réplication et synthèse des protéines du virion, l'assemblage du nouveau virus prend place dans des tubules viraux associés étroitement à l'appareil de Golgi et au réticulum endoplasmique. Dans le virion, chaque segment génomique est empaqueté par la nucléocapside associée à la polymérase afin de former le complexe ribonucléoprotéine ou RNP.

Les virions néo synthétisés sortent de la cellule par bourgeonnement après fusion de la membrane de l'appareil de Golgi et la membrane cellulaire (Walter & Barr, 2011).



**Figure 4** Etapes classiques du cycle des Orthobunyavirus. E.E.: early endosome; L.E.: late endosome. (CIFUENTES-MUNOZ N, 2014)

## 2.2. Epidémiologie

### 2.2.1 Espèces sensibles

Selon l'European Food Safety Authority (EFSA, 2014), une espèce sensible ou espèce réceptive au SBV est une espèce dans laquelle le virus peut se multiplier en présentant ou non des signes cliniques. Il existe selon elle trois catégories d'espèces sensible :

- Les espèces présentant directement le virus en association a des signes cliniques,
- Les espèces présentant directement le virus (détection directe),
- Les espèces dans lesquelles les anticorps contre le SBV ont été détectés (détection indirecte).

**a) Les ruminants domestiques :**

Les ruminants domestiques représentés principalement par les bovins, les ovins et les caprins présentent une sensibilité similaire au SBV(MEROC E. P. A., 2013). De ce fait, la détection directe et indirecte du virus ainsi que les signes cliniques de la maladie ont été retrouvés aussi bien chez les adultes que chez les jeunes ruminants nouveau-nés(MEROC E. R. F., 2014).

**Espèce bovine :** Lorsque le virus envahit un territoire ; Les bovins sembleraient être les premiers infectés. Cela peut être expliqué par plusieurs aspects biologiques du culicoïdes *obsoletus*, le vecteur principal de SBV (GACHE K., 2013). En effet, Les culicoïdes semblent s'orienter préférentiellement vers les bovins qui dégagent le plus haut taux de CO<sub>2</sub> en raison de leur plus grand volume(R.L, 1965).De plus, les femelles culicoïdes semblent prendre préférentiellement leurs repas sanguins chez les bovins(LASSEN S.B., 2012). Enfin, il est avéré que le cycle larvaire des culicoïdes qui n'a jamais été observé dans les matières fécales des petits ruminant soit plus efficace dans les bouses compostées des bovins(GONZALEZ M., 2013).

**Espèce Ovine :** Si les bovins semblent être les premiers infectés par le SBV, les ovins payent de plus lourdes conséquences en termes d'avortements et d'agneaux malformés. Cette particularité propre aux ovins pourrait être expliquée par l'effet de la saisonnalité. En effet, même si elle n'est pas définie de manière définitive, la fenêtre de sensibilité du fœtus ovin se situe dans le deuxième mois de gestation car c'est le moment le plus favorable à l'apparition de malformations au cours de leur gestation (MARTINELLE L., 2015).Or le pic de transmission du SBV par le vecteur culicoïde se situe en automne période à laquelle la majorité des brebis sont situées dans la fenêtre de sensibilité au SBV(TARLINTON R., 2012).

**Espèce caprine :**le niveau d'atteinte des caprins nouveau-nés par le SBV semble inférieur à celui des autres ruminants domestiques (DOMINGUEZ M., 2012). Les éléments déterminants de l'incidence de cette maladie en élevage caprin semblent être les techniques d'élevage des troupeaux. En effet, les élevages les plus atteints sont ceux dont les chèvres sont élevées à l'extérieur(LALOY E., 2017).

**b) Les non-ruminants :**

**Espèce humaine :** Comme de nombreuses maladies dues à des virus du genre Orthobunyavirus peuvent toucher l'homme, la possibilité de transmission zoonotique du SBV n'a pas été complètement exclu. De ce fait, les populations exposées en Allemagne et aux Pays-Bas ont été soumises à des tests sérologiques et moléculaires cependant, les

résultats n'ont démontré aucune présence d'ARN viral ni d'anticorps anti-SBV chez ces individus(DUCOMBLE T., 2012). De ce fait, Le risque pour la santé publique est donc absent ou extrêmement faible(REUSKEN C, 2012).

**Espèce équine** : Les tests effectués sur les équidés n'ont démontré aucune preuve d'une possible sensibilité de cette race(EFSA, 2014). Cependant, pour la première fois en 2018, une étude effectuée sur des chevaux en Iran a démontré la présence d'anticorps anti-SBV chez 10 des 200 échantillons analysés(RASEKH M., 2018).

**Espèce canine** : Les résultats obtenus chez cette espèce sont contradictoires et virent vers une non-sensibilité. En effet, une étude effectuée sur un échantillon de 110 chiens appartenant à une région présentant une forte circulation de SBV n'a présenté aucun résultat positif cependant, un seul sérum a présenté un résultat douteux (GARIGLIANY M.-M., 2013).

Néanmoins, deux études ont démontré que l'espèce canine pouvait elle aussi être sensible au SBV. En effet, la présence d'une sérologie positive chez un chien a été démontré par des chercheurs en Suède (WENSMAN J.J., 2013). De plus, une étude effectuée sur une portée de bergers Allemands issus d'une femelle présentant des anticorps anti-SBV a rapporté la présence de l'ARN viral au niveau de l'encéphale d'un des chiots et de signes nerveux centraux congénitaux chez l'ensemble des chiots de la portée(SAILLEAU C., 2013).

**Espèce cameline** : L'exposition des camélidés au SBV a déjà été étudiée. Or, cette étude ayant testé qu'un faible échantillon de camélidés, s'est avérée non concluante du fait que le test enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) n'était pas adapté au dépistage de cette espèce ce qui a entraîné de faux négatifs dont un lama et un chameau de Bactriane (JACK C, 2012).

Cependant une étude effectuée sur des camélidés d'Amérique du Sud a démontré que les signes cliniques que présentaient ces derniers étaient semblables à ceux signalés pour les ruminants domestiques infectés par le SBV, bien que leur taux d'anticorps semble plus faible. Selon cette étude, SBV provoque une infection sub clinique chez ces camélidés et dont la progéniture ne présente ni avortement ni malformation congénitale(SCHULZ Claudia, 2015).

c) **Faune Sauvage** :

La plupart des espèces sauvages autochtones étudiées ont été sujettes à des récoltes de sérum après des journées de chasse. Le spectre d'hôte de ces animaux englobe des

carnivores sauvages ainsi que de petits mammifères tout deux testés négatifs pour SBV(MOUCHANTAT S., 2015).Pendant que tous les ruminants sauvages autochtones sont sensibles à la maladie parmi eux, on peut compter le cerf (*Cervuselaphus*), le daim (*Dama dama*), le bison européen (*Bison bonasusbonasus*), le chevreuil (*Capreoluscapreolus*), le mouflon (*Ovisariesmusimon*), et le bouquetin des Alpes (*Capra ibex*). Cependant, la seule espèce de non-ruminants sensible au SBV est le sanglier (*Sus scrofa*)(DESMECHT D., 2010-2012).Tandis que le porc domestique est très résistant expérimentalement(POSKIN A., 2014).

Pour les espèces exotiques testées, les récoltes se sont faites directement dans des zoos testant ainsi différentes espèces dont l'éléphant d'Asie (*Elephasmaximus*) et d'autres bovidés exotiques dont les Cervidés, les Suidés et les Giraffidés. En effet, un grand nombre d'échantillons d'éléphants provenant de zoo anglais ont été analysés. Leurs résultats ont démontré que la majorité des animaux d'un troupeau exposé ont subi une séroconversion dans un délai similaire et qu'après leur exposition initiale, le niveau de leurs anticorps est resté élevé. L'étude fournit aussi des preuves irréfutables de la sensibilité de nombreuses herbivores au SBV. Cependant, aucune espèce n'a semblé présenter des signes cliniques spécifiques à la maladie (MOLENAAR F.M., 2015).

### 2.2.2. Le mode de transmission du virus

La transmission du virus se fait selon :

- a) **Transmission vectorielle:** par un moucheron du genre Culicoïdes :

Cette transmission est définie comme la voie principale de contamination des ruminants et cela par le biais des mouchérons du genre Culicoïdes. Elle présente une cyclicité qui dépend des conditions météorologiques ce qui explique la dissémination du virus à travers l'Europe.

#### a.1 Les culicoïdes :

- **Définition :**

Le Culicoïdes est un diptère hématophage microscopique qui mesure de 1 à 3 mm de long. Il appartient au genre Culicoïdes et à la sous-famille des Ceratopogoninae qui contient plus de 1400 espèces (PERRIN Y., 2012). Plusieurs de ces espèces semblent être impliquées dans la transmission du SBV dont on peut citer Culicoïdes obsoletus, Culicoïdes scoticus, Culicoïdes dewulfi et Culicoïdes chiopterus(BALENGHIEN T., 2012).

- **Biologie :**

- La durée de vie des culicoïdes est entre 10 à 20 jours cependant, elle peut être allongée jusqu'à 60 ou 90 jours lorsque les températures baissent (Balenghien, 2010),
- Les mâles Culicoïdes se nourrissent de nectar, de pollen et de matières organiques en décomposition alors que les femelles qui sont hématophage ont besoin de repas sanguins pour la maturation de leurs œufs qu'elles pondent 2 à 4 jours après le repas sanguin (ZIMMER J.-Y., 2014a),
- Des organes sensoriels olfactifs permettent aux culicoïdes de repérer leurs hôtes en vue de repas sanguins. En effet, les culicoïdes sont capables de détecter des composés volatils dont le dioxyde de carbone dégagé par l'hôte (ZIMMER J.-Y. V. F., 2015). De ce fait, plus l'hôte produit de CO<sub>2</sub> et donc plus il est volumineux plus la fréquence de la prise de repas sanguins est élevée (KOCH H.G., 1979),
- La densité de population des Culicoïdes varie non seulement des saisons mais aussi de l'espèce elle-même. En effet, certaines de ces espèces dont Culicoïdes obsoletus semblent être présentes tout au long de l'année alors que d'autres ne sont présentes que pendant de courtes périodes comme Culicoïdes impunctatus qui est seulement visible de mai à septembre (M.W, 1971). Il faut noter aussi que la transmission de SBV par le moucheron vecteur est plus favorable dans certains milieux qui sont les biotopes humides contenant des matières organiques en abondance. De ce fait, on peut par exemple différencier Culicoïdes dewulfi qui est une espèce présente exclusivement des bouses de vache de Culicoïdes obsoletus qui semble au contraire être une espèce ubiquiste qui est la moins stricte dans ses habitudes alimentaires. En effet, C. obsoletus qui se nourrit préférentiellement de sang bovin, peut aussi se nourrir de sang de ruminants domestiques et sauvages, d'équidés, de souris, et même de sang humain (LASSEN S.B., 2012),
- Après la ponte, les œufs éclosent en 2 à 8 jours puis passent par quatre stades larvaires qui durent deux semaines en été et plusieurs mois en saison hivernale. A l'issue de ces stades, les larves atteignent le stade nymphal pour qu'ensuite il y ait émergence d'imago (adulte) en 2 à 10 jours (Balenghien, 2010).

b) **Transmission vénérienne :**

La transmission sexuelle de SBV est encore inconnue. En effet, l'évaluation de la capacité d'une vache à être infectée par saillie naturelle ou par insémination artificielle n'a jamais été effectué.

Cependant, il a été démontré que L'excrétion du virus de Schmallerberg dans le sperme des taureaux était possible(HOFFMAN B., 2013)(PONSART C., 2014)(SCHULZ C., 2014).

c) **Transmission verticale :**

La Transmission verticale de SBV de la femelle gestante à ses embryons ou à ses fœtus été confirmé chez les espèces ovines, bovines et caprines et cela après avoir retrouvé plusieurs cas de malformations congénitales associées à SBV chez des nouveau-nés, des mort-nés et des avortons(VAN DEN BROM R., 2012). Cependant, la transmission verticale chez d'autres espèces n'a pas été déterminée.

Les anomalies congénitales décrites lors de l'infection par le SBV sont semblables à celles associées aux virus du séro groupe Simbu dont le virus Akabane ou le virus Aino qui ont été utilisés comme modèle pour le virus de Schmallerberg. Ces anomalies sont connues sous le nom de syndrome arthrogrypose / hydranencéphalie(VARELA M., 2013).

L'apparition de difformités congénitale chez les nouveau-nés infectés se fait pendant une fenêtre bien particulière de la gestation. Cette fenêtre est appelée « Fenêtre de passage transplacentaire ». En effet, si la femelle est infectée avant la gestation ou avant le 28ème jour de gestation chez l'ovin, cette gestation se passe normalement car le virus ne peut pas infecter le fœtus. Cela peut être expliqué par le fait que les cotylédons de la mère qui sont un « pont » permettant le passage du virus au petit ne deviennent fonctionnels qu'au 28ème jour(VARELA M., 2013).

La période à laquelle le fœtus est le plus susceptible se situe entre le 28ème et le 50ème jour de gestation pour les ovins, entre le 30ème et le 50ème chez les caprins et entre le 62ème et le 173ème chez les bovins.

Les symptômes observés chez les nouveau-nés bovins dépendent de la période de gestation de la femelle (Calixte, 2019-2020):

- **Avant 80 jours :** surtout mortalité embryonnaire ;

- **Entre 80 et 105 jours** : uniquement encéphalopathies (porencéphalies et hydranencéphalie) ;
- **Entre 105 et 170 jours** : arthrogrypose ;
- **Entre 105 et 120** : syndrome global hydranencéphalie-arthrogrypose.

**d) Autres types de transmissions :**

Après inoculation sous-cutanée de quelques vaches, l'ARN du SBV a pu être détecté dans les prélèvements fécaux, buccaux et nasaux de ces dernières (WERNIKE K. E. M., 2013). Or, selon la même étude, la transmission par contact directe ou indirecte a semblé peu probable et cela après avoir démontré expérimentalement qu'effectuer une infection par voie orale entre deux bovins n'entraînait pas de virémie détectable par PCR.

Une autre étude effectuée en 2012 a démontré que mettre en contact des vaches naïves avec des vaches virémiques pendant une période de 24 jours ne permettait pas le développement d'une ARNémie et de ce fait les vaches étudiées sont restées séronégatives (WERNIKE K. B. A., 2012).

Par ailleurs, la survie du virus dans le milieu extérieur est très courte. Ce qui ne facilite en rien la transmission horizontale directe ou indirecte de SBV.

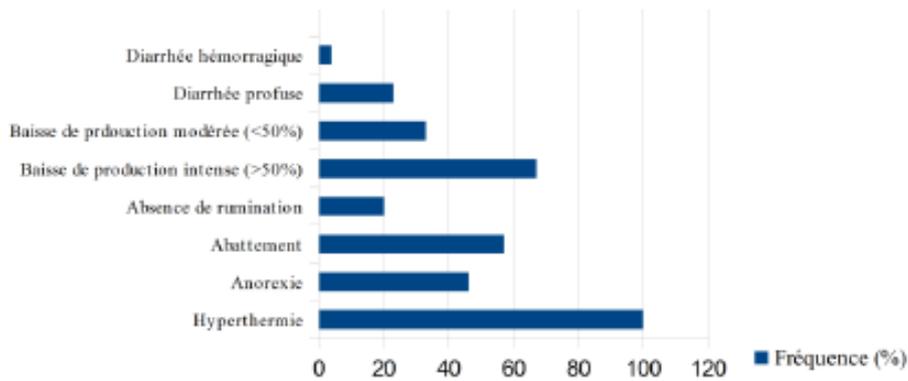
## **2.3 Diagnostic de la maladie de Schmallerberg**

### **2.3.1 Diagnostic clinique**

#### **1. Les signes cliniques non spécifiques :**

L'infection a été découverte pour la première fois en Allemagne chez des vaches non gestantes, et les premiers signes cliniques observés étaient non spécifiques, et de faibles intensités tel que la fièvre et de la diarrhée de quelques jours, passant souvent inaperçus dans un troupeau non laitier.

Souvent de faibles sévérités les symptômes se manifestent aussi par une baisse de production laitière. (HOFFMANN A.R., 2012), de la diarrhée a été aussi observée chez les chèvres, et les brebis. (HELMER C., 2013).



**Figure 5** Graphique représentant la fréquence d'observation des signes cliniques lors de SBV aigu chez les bovins (d'après Collin et al., 2012).

## 2. Les malformations congénitales :

Chez les ruminants domestiques femelles gestantes, les signes cliniques et les lésions sont plus spécifiques. L'infection fœtale par le SBV chez les bovins, caprins, et ovins mènent à une dystocie et à la naissance d'un produit non viable, se traduisant par des avortements, mortinatalités et de la prématurité.

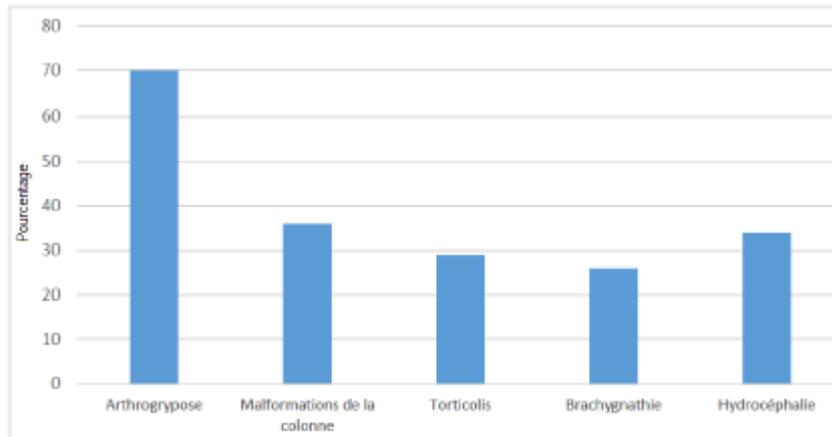
De l'arthrogrypose, hydranencéphalie, raccourcissement des tendons du jarret, torticolis, torsions du sternum, déformations de la mâchoire et de la tête sont aussi observés ce sont un ensemble de malformations congénitales connu sous le nom de syndrome arthrogrypose-hydranencéphalie.

Le système nerveux semble aussi être atteint chez un nouveau-né lors d'infections in utero par le SBV, des lésions au niveau système nerveux central (SNC) et des troubles neurologiques ont aussi été rapportés, caractérisé par un état apathique une cécité, de l'hypertonie une incapacité à se tenir debout, un strabisme ventrolatéral ainsi qu'une hyperreflexie.

Certains veaux atteints peuvent paraître "normaux", sans signes apparents, ou présenter une malformation du crâne, des problèmes de coordinations (paralysie flasque, ataxie, mouvements exagérés) des troubles sensoriel ou neurovégétatifs comme une production de larmes élevée, ceci dit la plus part du temps ils peuvent se tenir debout malgré l'atteinte par le SBV (GARIGLIANY MM., 2012).

Selon une étude expérimentale, l'atteinte des brebis gestantes par le virus asiatique Akabane, donne naissance à des agneaux qui seraient atteints par les mêmes types de déformations. (PARSONSON I.M., 1977), Ceci démontre que les lésions et les signes cliniques associés à l'infection SBV seraient assez similaires lors d'infection par le virus Akabane chez les ruminants domestiques.

Il a été mis en évidence, dans quelques élevages de vaches (WERNIKE K. C. F.-B., 2014) et de brebis (VAN DEN BROM R, 2012) que lors de gestations gémellaires, les anomalies de développement ne sont pas systématique, un seul des nouveau-né serait atteint de malformation congénitale, alors que l'autre serait sain, ou pouvait présenter un retard de croissance.



**Figure 6** Fréquence d'observations des différentes malformations dans les élevages bovins (D'après Gache et al.,2014 ; Desmarais, 2015).



**Figure 7** Arthrogrypose et léger torticolis chez un agneau atteint d'SBV congénital (Desfontaines, octobre 2013, cote d'Or.)

### 3. Troubles de la reproduction :

Une des conséquences les plus importante de l'atteinte par le SBV est l'apparition de dystocies qui sont dues aux malformations chez les nouveau-nés infectés, de mortinatalité en effet il a été démontré que certains veaux qui apparaissaient normaux après la naissance mourraient quelques semaines qui suivait leur naissance sans raison apparente, mais là plus part du temps cette mort était due à des troubles neurologiques comme l'opisthotonos. Dans certains cas des avortements sont observée suite aux infections qui surgissent pendant une période bien déterminé particulière de la gestation. (VAN DEN BROM R, 2012)

Certaines vaches affectée par le SBV présenteraient une augmentation du nombre de repeat breeders et de mortalité embryonnaire précoces à 60 jours de gestation, (DOMINGUEZ, 2014) selon une étude effectuée par (STEINRIGL A, 2014) qui a démontré que la présence du génome viral dans le liquide allantoïdien serait la principal cause.

### 2.3.2 Diagnostic post mortem

#### 1. Macroscopique:

Diverses atteintes ont été décrites chez le nouveau-né et le fœtus provoquant des lésions au niveau du système nerveux central, les muscles squelettiques et le squelette axial, ces lésions peuvent être observé de façon synchrone (HERDER V., 2012) (SEEHUSEN F., 2014).

Selon une étude basée sur des cas au Pays-Bas (102 agneaux et 204 veaux) (Peperkamp, 2015) les données observées sont :

A l'examen post mortem, L'arthrogrypose qui est souvent associé a des signes d'hypoplasie musculaire est très caractéristiques par l'atteinte de SBV (HERDER V., 2012) causant des malformations assez importante et hideuse du fœtus, très caractéristique, ces lésions sont présentes chez 97% des ovins et 96% des bovins atteint, chez + de 95% des cas atteint, ont les 4 membres touchées mais la déformation peut se limiter aux 2 membres antérieur ou au 2 membres postérieurs.

Mais aussi les malformations de la colonne vertébrales sont fréquentes chez 82% des ovins, 86% des bovins, sont apparentes que dans les cas extrêmes de l'atteinte, de la lordose, et de la scoliose accompagné de cyphose importante de la colonne, ainsi qu'une torticolis( ovins 24%, bovins 76%) associé à un brachygnathisme au niveau de la mandibule sont les signes typique d'un fœtus atteint de SBV (HERDER V H. F., 2013).

Pour ce qui est du système nerveux centrale, les principales lésions observées sont au niveau du cerveau (ovins ; 83%, bovins : 53%) de l'hydrocéphalie, l'hydranencéphalie et de la Porencéphalie sont les plus dominant en plus de la lissencephalie et de la microcéphalie . (Peperkamp, 2015)

Une hypoplasie cérébelleuse et de la mycromyélite qui sont parfois associés à une inflammation non suppurative conduisant à une dégénérescence neuronale et a une nécrose.



**Figure 8 :** Infection congénitale du fœtus par SBV. (a) et (b) Le même fœtus présentant une arthrogrypose sévère, un torticollis, une brachygnathie et une hypoplasie des muscles squelettiques. (c) fœtus provenant d'un second agneau présentant une scoliose avec une torsion et une flexion des membres antérieurs. Sanchez Miguel ; DAFM, Ireland.



**Figure 9 :** Fœtus bovin atteint par SBV, présentant une sévère arthrogrypose des 4 membres, un torticollis, un brachygnathie inférieure hypoplasie du muscle squelettique. Image du Dr. John Mee, Teagasc, Ireland.

## 2. Histologique :

SBV se réplique dans les cellules nerveuses causant des lésions inflammatoires ou dégénératives importante dans le système nerveux central. Ces lésions peuvent être soit inflammatoires, soit dégénératives.

### a) Lésions inflammatoires :

Elles sont plus fréquente chez les petits ruminants que chez les bovins tout en considérant que le délai entre l'infection et la mise bas chez les ovins est de 3 mois et que chez les bovins est de 5 mois environ ce délais permet la résolution de l'inflammation et à la clearance du virus donc les signes inflammatoires ne seront plus visible chez le veau lors de la naissance ou de l'avortement (HERDER V H. F., 2013).

Cependant l'inflammation du système nerveux n'est pas systématique chez les fœtus nouveau-nés infectés par le SBV. Selon une étude menée par (HERDER V H. F., 2013) sur 82 fœtus et nouveau-nés malformés infectés naturellement par le SBV confirmé par PCR, seulement 15 des cas présentaient des cellules inflammatoires dans le cerveau et dans la moelle épinière.

Une encéphalite relativement diffuse est observée, elle est caractérisée par une infiltration cellulaire (lymphocytes T type CD3 positif, et lymphocytes B CD 79 alpha positif et les macrophages) perivasculaire de la matière blanche et grise du cerveau et de la moelle épinière (HERDER V H. F., 2013).

Une diminution de la quantité de cellules hématopoïétiques peut être observée dans la moelle osseuse, elle est due à l'atteinte des organes du système lymphoïde, cette atteinte peut être visible sur les nodules lymphatiques le thymus ou la rate (HERDER V., 2012).

Les tissus musculo-squelettiques ne présentent que des modifications histologiques, qui sont secondaires aux lésions nerveuses.

Certains tissus et organes tel que les vaisseaux cardiaques, le cœur, le foie, la vessie, les ovaires, les testicules, les nerfs périphériques, le petit et gros intestin ne présentent pas de lésions histologiques significatives (HERDER V., 2012).

#### **b) Lésions dégénératives :**

Les lésions dégénératives qui sont souvent mises en évidence sont la nécrose du parenchyme neuronal, et la présence d'œdèmes et de pores multiples dans l'encéphale, avec parfois présence d'hémorragies.

Il a aussi été mis en évidence par coloration (Von-Kossa et de perles) des dépôts d'hémosidérines et une minéralisation.

#### **c) Lésions de la moelle épinière :**

Dans la moelle épinière il a été observé l'apparition de lésions telles que la micromyélite associée à une réduction bilatérale sévère de la substance grise et une réduction de la circonférence de la substance blanche. Cette lésion est concomitante à une diminution du diamètre de la moelle épinière.

Il a aussi été observé un élargissement du sillon ventral par un tissu fibreux riche en collagène (HERDER V H. F., 2013).

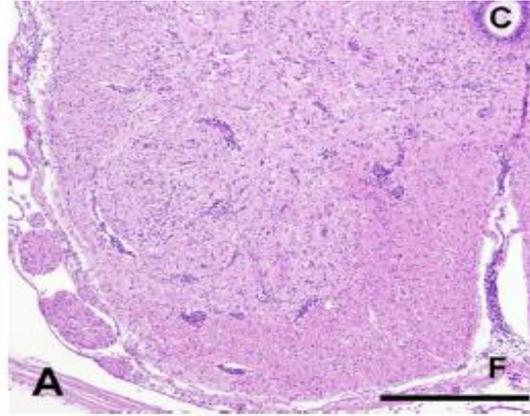


Figure 6 : Histopathologie de la moelle épinière d'un mouton infecté par le SBV. Infiltrats multifocaux lymphocytaires des méninges, des espaces perivasculaires et de La matière grise et blanche (HERDER V H. F., 2013).

#### d) Lésions vasculaires et pertes tissulaires :

La minéralisation est un signe de nécrose et de destruction tissulaire provoquée par le SBV, elle est mise en évidence par la coloration de Von Kossa.

Le dépôt d'hémosidérines serait la conséquence des hémorragies anciennes.

Ce sont des lésions représentatives de troubles vasculaires, elles sont retrouvées dans les zones de perte tissulaire du système nerveux central.

Au niveau des neurones une perte de densité axonale et due à une démyélinisation qui provoquerait l'apparition d'amas de macrophages dans le cytoplasme cellulaire, ces lésions sont absente au niveau du mésencéphale et de l'hippocampe, ces zones-là sont siège d'inflammation.

Cette axonopathie est secondaires à la destruction tissulaire, et n'est donc pas directement reliée à l'inflammation (VARELA M., 2013).

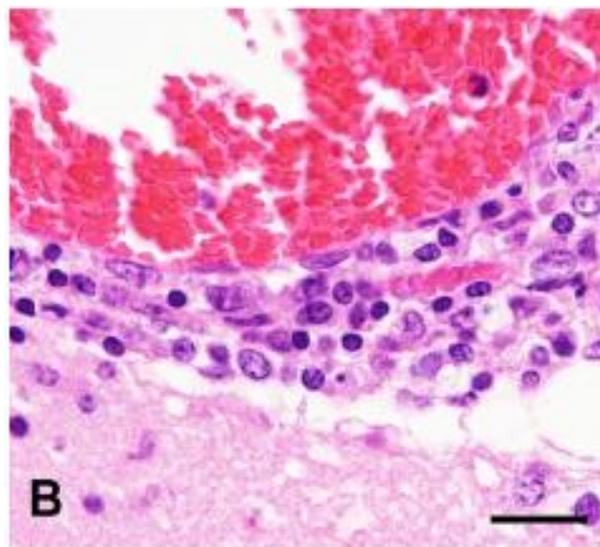


Figure 7 : Infiltrats perivasculaires modérés caractérisés par la présence de lymphocyte Et de macrophages dans le cerveau d'un mouton infecté (échelle : barre=20 pm) (HERDER V H. F., 2013).

### 2.3.3 Diagnostic différentiel

Etant donné l'important polymorphisme du virus SBV, et l'atteinte de plusieurs organes, il est difficile d'établir un diagnostic différentiel avec les autres maladies, il sera par conséquent nécessaire de faire une anamnèse commémorative et de relever les signes cliniques de manière précise tout en considérant l'épidémiologie de chacun des agents listés afin de déterminer l'agent pathogène responsable.

Tableau 1: Diagnostic différentiel de SBV chez les bovidés (d'après (FCO-Info,2009 ; Ganter et al.,2014 ; Desfontaines,2013))

Symptômes	Etiologie	Maladie
<b>Syndromes fébrile associé à des troubles digestifs</b>	Parasites	-Strongyloses -Coccidiose -Babesiose
	Virus	-Orbivirus (BTV-8/FCO) -BVD -Virus du serogroupe Simbu -Herpesvirus (IBR) -Maladie hémorragique épizootique
	Bactéries	-Fièvre charbonneuse -Salmonellose -Anaplasmose
	Maladies métaboliques	-Acidose ruminale
	Intoxications	-Fougère aigle -Glands -Mercuriale
<b>Avortements</b>	Parasites	-Neoporose -Toxoplasmose
	Virus	-Orbivirus (BTV-8/FCO) -BVD -IBR et autres herpesvirus -Fièvre de la vallée du Rift

	Bactéries	-Brucellose -Chlamydiose -Listériose -Fièvre Q
	Champignons	-Aspergillose
	Alimentation	-Carence en vit A -Phytoestrogènes -Mycotoxines
	Iatrogène	-Prostaglandines -Corticoïdes
	Autres	-Traumatisme
<b>Syndrome arthrogrypose-hydranencéphalie à la naissance.</b>	Parasites	-Toxoplasmose -Neosporose
	Carence	-Carence en cuivre ou en manganèse pendant la gestation
	virus	-Orbivirus(BTV-8) -Pestivirus (BVD) -Virus du serogroupe Simbu (Akabane,Aino,Shamonda,Cache Valley , Main Drain,San Angelo, La Crosse, fièvre de la valley du Rift) -Virus de Wesselborn(flavivirus)
	Intoxications	-Grande ciguë(Conium maculatum) -Nicotiana spp. -Lupin
	Génétique	-Race Suffolk : syndrome "spider lamb" -Race charolaise : syndrome arthrogrypose-fente palatine -Race corriedale (anomalie autosomal récessive)
	Iatrogène	-Vaccin vivant atténué BTV -Benzimidazoles(parbendazole, cambendazole,oxfenazole,netobimine)

### 2.3.4 Diagnostic biologique

#### 2.3.4.1 Tests indirects :

Plusieurs tests permettent l'identification des anticorps contre le SBV, à partir d'échantillons de sérum. Pour comprendre le fonctionnement de chacun des tests sérologiques il est indispensable de comprendre la réaction immunitaire des individus sensible au virus. Les anticorps anti-SBV ont pour cible la glycoprotéine Gc qui est exposée sur la surface du virion.

Une étude menée par (WERNIKE K. E. M., 2013) sur l'inoculation du virus chez des bovins naïve a permis de détecter des anticorps SBV au bout de 14-21 jours post-inoculation. Ces anticorps ont un rôle de protection contre les infections ultérieures mais la durée de celle-ci reste inconnue, cependant elle permettrait de prévenir contre la multiplication du virus durant environ huit semaines (WERNIKE K. E. M., 2013).

Mais d'après des études mené par (ELBERS AR., 2014) les bovins infectée en milieu naturel, vont développer des anticorps qui persisteront au minimum durant deux ans.

Une réponse immunitaire a aussi été dictée chez le fœtus. Le placenta des ruminants est synepithliochoriale cette caractéristique permet de bloquer tout passage et transmission d'anticorps de la mère en gestation au fœtus. Le système immunitaire du fœtus se développent à partir des 41eme jours jusqu'au t 175eme jours de gestation chez le veau, et du 20eme jour jusqu'a 50 jours chez les petits ruminants, durant cette période il est possible d'avoir une réaction immunitaire et avoir une réponse en anticorps contre une infection virale dont il peut en résulter une encéphalite. Donc l'apparition d'une réponse immunitaire fœtale dépend du stade de maturation et développement du système immunitaire (rate thymus).

En 2012, Van Maanen a pu détecter la présence d'anticorps anti-SBV dans 90% des 348 agneaux, et 58% des 111 veaux, ayant des malformations congénitales de type artrogrypose.

#### a) *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA):*

Le test ELISA est une méthode rapide, permet de tester un grand nombre d'échantillons dans un même laps de temps. Cette méthode est plus rapide que la seroneutralisation virale.

Les test disponibles étaient indirect, un test basé sur un antigène recombinant de la nucléoprotéine N du SBV (BRÉARD E., 2013). Et un autre test basé sur l'ensemble du virus. Puis un test ELISA de compétition a été commercialisé (ID Screen® Schmallenberg virus Compétition Multi-species, IDvet Laboratoires, Montpellier, France).

Plusieurs kits produits par le Laboratoire de Santee Animale de l'ANSES de maison Alfort sont disponibles, ils peuvent être utilisé sur les bovins, ovins et caprins ;

ID Screen® Schmallenberg virus Indirect (sensibilité 98.8 %, spécificité 98,8 %) (BRÉARD E., 2013)

ID Screen® Schmallenberg virus Competition Multi-species.

En plus des échantillons sérologiques des échantillons de laits peuvent aussi être soumis à ces tests ELISA à l'inverse du test de neutralisation virale, les échantillons de lait sont prélevés soit au niveau du tank ce qui permet d'évaluer l'exposition des bovins laitiers dans les fermes (BALMER S., 2014) (JOHNSON A., 2014) (TARLINTON R., 2013) , soit à l'échelle des individus pour l'identification des vaches qui ont été exposées au virus SBV (DALY J.M., 2015). Ce test est commercialisé sous le nom : ID Screen® Schmallenberg virus Milk Indirect.

**b) Immunofluorescence indirect:**

Ces tests peuvent être réalisés sur des plaques qui contiennent des cellules BHK-21 infectées par le SBV (clone BRS5) en tant que matrice d'antigènes, même si cette technique serait la moins sensible à la détection d'anticorps SBV (BRÉARD E., 2013).

**c) Séroneutralisation virale (VNT) :**

Cette méthode est considérée comme la méthode de référence (le gold standard) permet la détection d'anticorps anti-SBV.

Ces tests reposent sur des méthodes de quantification, avec plusieurs protocoles de neutralisation du virus qui ont été décrits (BRÉARD E., 2013) (MANSFIELD K.L., 2013), ils sont basés sur la capacité de neutralisation du virus par les anticorps en empêchant ainsi l'apparition d'effets cytopathiques que le SBV provoque sur les cellules VERO ou BHK.

Un test de neutralisation a été établi par (BRÉARD E., 2013) à partir d'un isolat de SBV prélevé sur un tissu cérébral et ensuite cultivé durant cinq jours sur des cellules VERO fig 28

Cette méthode n'est pas spécifique et est réalisée sur des échantillons prélevés sur tous types d'animaux et d'espèces, le fait qu'elle donne des résultats quantitatifs permet de faire un suivi d'évolution de titres viraux en temps réel pour un individu donné.

**2.3.4.2 Test directs :**

**a. RT-qPCR :**

Ce protocole a été mis en place en même temps que la découverte du virus (HOFFMANN A.R., 2012).

Il repose sur l'utilisation du test SBV-S3 qui cible le segment S (BILK S., 2012) du virus c'est le test le plus sensible, contrairement au test SBV-M1 qui cible le segment M et qui est plus spécifique à l'ARN viral (FISCHER M., 2013b).

Le génome viral peut être détecté dans des échantillons de sang ou de sérum, il a été démontré que la virémie chez les agneaux durait plus longtemps que chez les bovins (CLAINE F., 2013).

Chez les nouveau-nés mal formés ou les fœtus l'ARN viral est prélevée du tronc cérébral ou du système nerveux central, car l'ARN viral est plus susceptible d'être détectée à ces endroits-là, même si elle se retrouve aussi dans le cordon ombilical ou les fluides placentaire (BILK S., 2012) (DE REGGE N., 2013).

Cependant en 2011-2012 une étude aux Pays-Bas sur 348 agneaux atteints d'hydranencéphalie et d'arthrogrypose a démontré que l'ARN n'a été retrouvé que sur 40% des cas alors que les anticorps anti-SBV ont été détectés chez 90% des cas, par conséquent le diagnostic de l'infection par test sérologique serait plus fiable que le diagnostic par détection génomique chez les nouveau-nés malformés et les fœtus (DE REGGE N., 2013).

**b. Isolement du virus sur culture cellulaire :**

Cette technique permet de détecter le virus infectieux, elle est réalisée sur plusieurs types de cellules : les cellules BHK-21 (cellules de reins du bébé hamster) les cellules NK (cellules larvaires du culicoides variipennis), (HOFFMANN A.R., 2012) (VAN DER POEL WH., 2014) suite à l'inoculation sous cutané du virus chez les animaux testés et à l'observation de perte de poids et la détection d'ARN dans le sang ou le sérum et/ou à la mort de ces individus ses signes permettent d'identifier le pouvoir infectieux du virus (WERNIKE K., 2012) (PONSART C., 2014).

**c. Isolement du virus par hybridation in-situ (ISH) :**

L'ISH est une technique permettant de mettre en évidence le SBV dans des coupes tissulaires, le protocole de cette méthode repose sur la fixation d'échantillon de tissus sur du formol et l'enveloppement dans de la paraffine à l'aide d'une sonde détectant une partie du segment S (HAHN K., 2013).

Les cellules positives dans le système nerveux des jeunes ruminants qui sont infectées vont apparaître sous forme de groupements de neurones repartis au hasard dans le cervelet, le bulbe rachidien, le tronc cérébral et la moelle épinière (HAHN K., 2013).

## 2.4 Prévention et mesures de lutte

Les mesures de lutte contre le SBV reposent surtout sur l'acquisition d'une immunité précoce contre le virus et la protection contre les moucheron vecteurs.

### **2.4.1 La lutte contre le vecteur :**

La lutte contre le culicoïde est réalisée de différentes façons, par lutte écologique, chimique et mécanique.

Toutes ces méthodes sont efficaces en étant associées.

#### **1. La lutte écologique :**

Cette technique permet de limiter la prolifération des vecteurs en éliminant les gîtes larvaires, en réduisant les sources d'humidité (assèchement des points d'eau).

L'utilisation de piège à insectes, et surtout veiller à avoir une bonne gestion de la fumière qui constitue l'habitat larvaires (HELMER C., 2013).

#### **2. La lutte chimique :**

Cette méthode consiste à appliquer des insecticides sur les animaux et à l'utilisation de répulsifs naturel et à la pulvérisation de traitements insecticides dans l'environnement, l'application de cette méthode est à privilégier en période estivale quand l'activité du culicoïde est maximale, et surtout lors de la fenêtre de sensibilité maximale des femelles gestantes susceptibles d'être piqué (HELMER C., 2013).

Les insecticides les plus employés sont les organophosphorés et les pyréthrinoïdes. Les pyréthrinoïdes sont des insecticides de contact qui pénètrent à travers la cuticule des insectes et agit sur le système nerveux, ils diffusent très peu à travers la peau des ruminant et ne s'accumule pas dans le tissu, faiblement toxique.

#### **3. La lutte mécanique :**

Cette technique vise à prendre des mesures qui diminuent les interactions entre l'hôte et les vecteurs, en isolant les animaux des moucheron lors de leurs activités maximale (qui est durant le crépuscule et l'aube) en les enfermant dans les bâtiments. Cette méthode permet de diminuer les piqûres des moucheron et donc un moyen de protection même si elle reste difficilement réalisable sur terrain (C, 2016).

### 2.4.2 La vaccination :

SBV est une maladie qui a un grand impact économique, le premier objectif de la vaccination est de protéger les femelles en gestation afin d'éviter tout passage transplacentaire du virus vers le fœtus, et donc protéger le fœtus d'une infection.

Pour cela il est recommandé de vacciner la femelles 3 semaines à un mois avant la reproduction pour permettre une production d'anti corps neutralisants a des valeurs optimales lors de la parturition.

Les études effectuées jusqu'à présent n'ont pas démontré une transmission vénérienne, cependant l'apparition génome viral dans la semence de taureau indique qu'il est conseillé de vacciner le male reproducteurs (PROMED-MAIL, 2013).

Chez les ovins les vaccins contre le SBV ne sont pas encore disponible, il semblerait que chez cette espèce là l'immunité naturelle protégerait la brebis gestante contre une réinfection. Il est nécessaire de déplacer les femelles naïve vers des régions ou le virus est connu pour circuler avant la période de reproduction même si le vaccin reste la méthode de protection la plus fiable (RODRÍGUEZ-PRieto V., 2014).

La France est le 2eme pays ou le vaccin a été autorisée après le Royaume-Unis (AMM du 21 mai 2013), en effet l'Agence National du Médicament Vétérinaire (ANMV –Anses) a accordé deux AMM circonstances exceptionnelles (AMM du 29 juillet 2013 bovins et ovins) pour les vaccins Bovilis® SBV (MSD Santé Animale) et SBVVAX®(Merial)

Pour l'instant aucun vaccin n'est disponible avec AMM chèvres.

Ces vaccins inactivés ont été produits à partir de lignée cellulaire de reins de singes (MA-104) et de reins de bébé hamsters (BHK-21) dont les adjuvants principaux sont l'hydroxyde de saponine et de l'aluminium., selon les deux fabricants une seule injection permet la réduction de la virémie chez les ovins. Une primo vaccination en deux injection avec un intervalle de 4 semaines permettrait de prévenir l'apparition d'une virémie chez les bovins et les ovins, car l'immunité est acquise à partir de la 3eme semaine après la primo-vaccination, sa durée reste inconnu.

Certaines études sont sur la fabrication de vaccins vivant atténué, il été démontré que ce type de vaccin serait plus intéressant car il permet une meilleure protection que le vaccin inactivée (KRAATZ F., 2015), ce vaccin présente deux avantages il protégerait les individus tout en brisant la chaine de transmission du virus, cette approche tactique pourrait être bénéfique dans la réduction de la propagation du virus même si ce vaccin ne concernerait que les bovins (BESSELL P.R., 2014).

## **I. Dérroulement général de l'étude**

### **1. Origine et objectifs de l'étude :**

Le SBV est reconnu dans les troupeaux bovins et ovins comme étant une maladie vectorielle à très fort impact économique, du fait des pertes de production et des avortements qu'il engendre. Cependant, pour les équidés, les tests effectués n'ont démontré aucune preuve d'une possible sensibilité. Seule une étude effectuée en Iran a démontré la présence d'anticorps anti-SBV pour 5% de l'échantillon analysé. De ce fait, pour cette espèce, nous ne savons donc pas si les juments infectées par le virus présentent des produits d'avortement similaires à ceux observés chez les ruminants domestiques. Le fait que des anticorps anti-SBV aient été retrouvés chez cette espèce permet simplement d'arriver à la conclusion que celle-ci y est réceptive.

Afin de connaître le statut sanitaire de cette maladie abortive et de confirmer la présence de ce virus sur les territoires algériens, ainsi que de prouver la sensibilité des chevaux à ce virus, une étude de la prévalence a été menée dans la Wilaya d'Alger.

Un accord a été donc conclu entre des praticiens vétérinaires, des éleveurs de chevaux et des propriétaires de centres équestres afin de collecter des prélèvements sur le terrain qui ont été par la suite analysés et dont les résultats ont fourni la matière de ce master.

Le choix de la région d'Alger a été établi du fait que le climat de cette région soit favorable à la multiplication du vecteur culicoïde (humidité, chaleur en été et fortes précipitations en automne), de la présence de points d'eau (lacs, marécages etc.) et d'élevages de chevaux ainsi que de centres équestres importants des chevaux de l'étranger qui ont pu être en contact avec le virus.

### **2. Présentation de la problématique de recherche :**

Lors du lancement de cette étude en automne 2019 et au début de l'hiver 2020, il s'agissait d'une exploration visant à faire le sondage du SBV dans la population équine de la région de l'algérois. Les problématiques qui se sont posés sont les suivants :

#### **a) *Le virus du SBV circule-t-il dans la population équine de la Wilaya d'Alger ?***

Au lancement de l'étude, il n'y avait aucune donnée sur la présence clinique du virus de SBV chez les animaux domestiques et spécialement les ruminants en Algérie car aucun avortant spécifique au virus n'a été signalé. Seul quelques études ont prouvé la présence d'anti corps anti-SBV chez des bovins. Or, pour la population équine aucune étude n'a prouvé la présence des anticorps spécifiques au SBV. On peut donc se demander si les chevaux de cette région sont réellement sensibles à cette maladie et s'ils ont été réellement exposés au virus.

#### **b) *Quels sont les facteurs de risque du SBV ?***

L'analyse des échantillons a révélé que les anticorps anti-SBV sont effectivement présents chez quelques chevaux de la Wilaya d'Alger. Cette information a permis de se poser la question sur les facteurs de risque afin d'évaluer et d'atténuer la maladie.

### **3. Schéma de l'étude et les caractéristiques des sujets de l'échantillon :**

#### **a) Schéma général de l'étude :**

L'étude sur le terrain a eu comme objectif d'évaluer la présence du virus dans les environs d'Alger pendant les saisons de séroprévalence contre le virus de Schmallenberg. Ces saisons sont l'automne et du début de l'hiver car le vecteur a connu une multiplication maximale tout au long du printemps et de l'été, ce qui a augmenté les prises de repas sanguins sur les chevaux et de ce fait la transmission du virus à l'hôte équin.

Cette étude s'est déroulée en trois étapes différentes qui sont le prélèvement d'échantillons sanguin dans différents endroits de la wilaya, l'analyse de ces derniers par un test Elisa et enfin l'interprétation des résultats selon différents facteurs de risque.

#### **b) Définition de la population étudiée :**

Sur le terrain, l'unité d'étude était l'ensemble de la wilaya d'Alger et spécialement les zones non loin des points d'eau. La population ciblée était la population de chevaux de la wilaya préférentiellement les chevaux d'élevage en semi-stabulation qui sortent en journée et ne rentrent qu'après le coucher du soleil car ils sont le plus exposés aux piqûres de moustiques, ainsi que les chevaux d'importation présents dans les centres équestres.

## **II. Matériel et méthode**

L'étude expérimentale peut être déclinée en deux étapes distinctes. L'étude de terrain avec enquête épidémiologique et entretien avec différents éleveurs, responsables de centres équestres et vétérinaires praticiens afin de relever le maximum d'information pour l'enquête. La seconde étape quant à elle correspond à l'analyse en laboratoire et l'interprétation des résultats.

### **1. Réalisation d'un questionnaire :**

Un questionnaire a été élaboré dans le but d'avoir le maximum d'informations épidémiologiques sur le cheval lui-même ainsi que des données collectives sur l'habitat des chevaux. Les questions posées sont les suivantes :

- Les caractéristiques de la zone étudiée : L'humidité de la région, son climat etc ;
- La présence de points d'eau et de zones herbeuses ;
- La date du prélèvement/ saison ;

- Le (s) propriétaire(s)/ l'éleveur/le responsable du centre équestre ;
- Le(s) vétérinaire(s) soignant ;
- Les caractéristiques physiques du cheval (Nom, sexe, âge, race, robe, provenance) ;
- Les caractéristiques sanitaires du cheval (état général avant la prélèvement, vaccination, vermifugation, antécédents médicaux, animal gestant ou non) ;
- L'habitat du cheval : boxe, écuries, présence d'autres espèces animales dans le même bâtiment que les chevaux, la stabulation des chevaux et s'ils ont accès aux points d'eau ;
- L'état de propreté des écuries et des boxes ;
- L'activité du cheval (cheval de loisir, de course ou de compétition, cheval de centre équestre), les déplacements éventuels en zones humides lors de concours ou de compétitions ;
- La présence du vecteur.

Toutes ces données ont été rentrées dans un fichier Excel afin de les utiliser lors de l'étude des facteurs à risque.

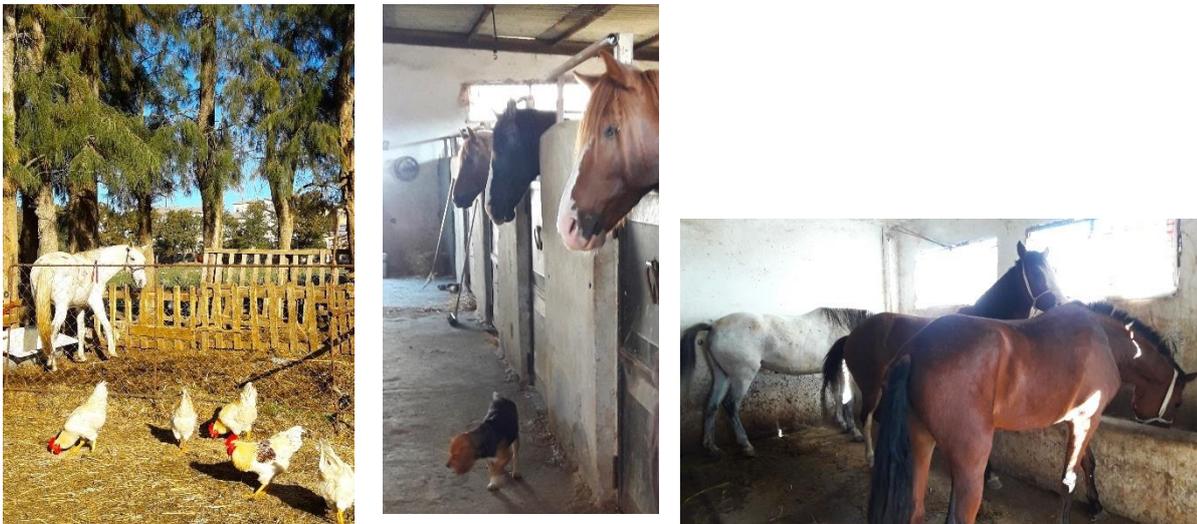
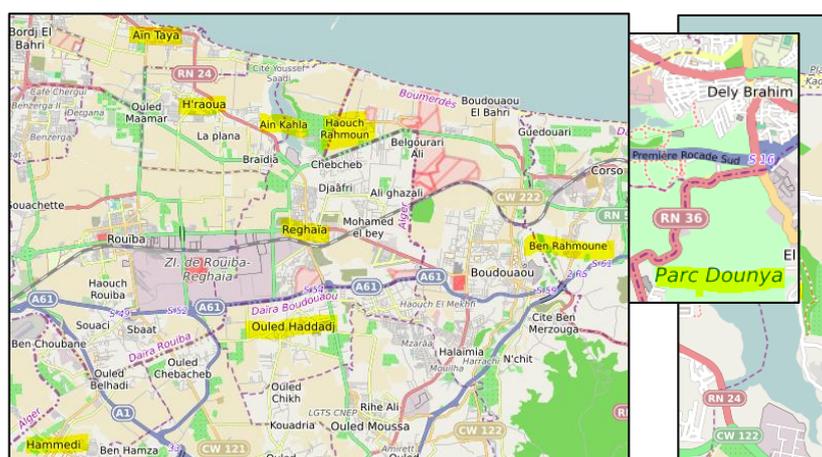


Figure 8 : anamnèse et état des lieux.

## 2. Délimitation des zones :

L'étude a été effectuée dans différentes régions d'Alger dont trois centres équestres : le centre équestre de Ouled Fayet, le centre équestre de Bouchaoui et celui des Grands Vents. Ainsi que chez des particuliers. La région d'Alger a été divisée en deux (02) zones différentes qui sont la région Est d'Alger et la région de l'Ouest d'Alger (voir figure 1 et 2). Le choix de ces régions est basé sur la présence de points d'eaux et d'un fort taux d'humidité.

**Figure 9** Région Est (avec agrandissement sur le lac de Reghaia)



*Figure 10* Région Ouest

### 3. Réalisation de prélèvements sanguins :

#### 3.1 Matériel nécessaire :

- Une glacière contenant des poches à glace ;
- Des compresses stériles ou du coton ;
- De l'alcool à 95% ;
- Un porte-aiguilles vacutainer ou un adaptateur ;
- Des aiguilles à vacutainer ;
- Des tubes secs de type vacutainer ;
- Porte-tubes.



*Figure 11* Matériel utilisé pour le prélèvement sanguin

#### 3.2 Méthode de prélèvement :

- La contention du cheval se fait à l'aide d'un licol, en présence du propriétaire. Or, lorsque le cheval ne coopère pas, on aura recours au tord-nez ;
- La compresse stérile ou le morceau de coton sera grandement imbibé d'alcool puis passé au niveau de la gouttière jugulaire en regard du site de ponction ;

- On effectue une compression avec le pouce au niveau du sillon jugulaire afin de faire ressurgir la veine jugulaire, qui sera ponctionnée au niveau du tiers supérieur, à l'aide d'un adaptateur muni d'aiguille-vacutainer ;
- La peau est piquée au niveau de la veine. Le biseau de l'aiguille vers l'extérieur, par un angle de 40° en direction de la tête par rapport à la veine, une fois entrée, l'aiguille sera redressée et insérée tout au long de la veine ;
- Le tube sec sera alors inséré de l'autre côté de l'aiguille afin de collecter de sang ;
- Une compression sera alors exercée durant quelques secondes au niveau du site de ponction pour que l'hémostase ait lieu ;
- Un numéro spécifique correspondant à la fiche technique de chaque cheval sera inscrit sur chaque tube au feutre indélébile ;



*Figure 12 Prise de sang au niveau de la veine jugulaire du cheval.*

- Le sang collecté sera placé dans un porte-tubes à l'intérieur de la glacière afin de conserver les tubes à une température la plus basse possible puis de les faire parvenir rapidement vers le laboratoire ;
- Une fois au laboratoire, les tubes seront centrifugés à une vitesse de 3000 tours/min durant 10 min afin de séparer la phase aqueuse qui correspond au sérum du culot.



**Figure 13** Acheminement des prélèvements au laboratoire afin de collecter le sérum

Le sérum sera par la suite collecté à l'aide d'une micropipette puis sera placé dans des microtubesEppendorf qui seront conservés au congélateur (voir figure 4).



**Figure 14** Prélèvement du sérum par une micropipette après centrifugation puis congélation dans des microtubesEppendorf.

#### **4. Analyse sérologique en laboratoire : La technique Elisa :**

Tous les sérums seront testés par la méthode Elisa qui est une technique simple et rapide (1h30 pour le kit Elisa de compétition Idvet).

##### **4.1 Composant du kit :**

Le kit est composé de :

- Microplaques sensibilisées avec l'antigène anti-SBV purifié ;
- Conjugué concentré (10X) ;
- Contrôle positif ;
- Contrôle négatif ;
- Tampon de dilution 2 ;
- Solution de lavage concentrée (20X) ;

- Solution de révélation (TMB) ;
- Solution d'arrêt (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M).



*Figure 15 composants du kit Elisa.*

➤ **Matériel utilisé au laboratoire :**

- Micropipette ;
- Embouts jetables pour micropipettes ;
- Tubes à essai ou des plaques non revêtues d'antigènes ;
- Spectrophotomètre ;
- Eau déminéralisée ou distillée ;
- Papier essuie-tout ;
- Récipient gradué ;
- Un flacon de lavage.

➤ **La technique Elisa :**

C'est une technique immuno-enzymatique permettant la mise en évidence de la présence d'anticorps anti-SBV dans le sérum des équidés. Le kit Idvet utilisé permet la détection des anticorps IgM et IgG spécifiques au virus de Schmallenberg et dirigés contre sa nucléoprotéine NP.

Le fournisseur fournit dans le kit des contrôles positifs et négatifs ainsi que des plaques contenant la nucléoprotéine où seront déposés les sérums à tester et les puits seront incubés 45 minutes à 37°C.

Après 3 lavages successifs et le dépôt d'un conjugué prêt à l'emploi, la plaque sera incubée à température ambiante durant 30 minutes. A la suite de cette incubation, la plaque sera rincée puis révélée avec 100µL de substrat pour chaque puit puis placée dans le noir à température ambiante pendant 15 minutes. La réaction sera ensuite stoppée par ajout de 100µL de solution d'arrêt.

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps présents dans le sérum. En effet, lors d'absence d'anticorps, la coloration apparaîtra bleuâtre puis redeviendra jaunâtre après blocage. Mais en présence d'anticorps il n'y aura aucune coloration.

On effectue pour finir une lecture de la densité optique sur une onde de 450 nm.



**Figure 16** Distribution de la solution d'arrêt (modification de couleur du bleu au jaune dans les cupules) ; Plaque avec la solution d'arrêt prête pour la lecture (plaque terminée)



**Figure 17** Lecture au spectrophotomètre /Lecteur ELISA.

➤ Validation du test :

La validation se fait si les critères décrits ci-dessous sont réunis :

- La valeur moyenne de densité optique (DO) des contrôles négatifs (DOCN) est supérieure à 0.700 (70%).  $DOCN > 0.700$
- Le rapport de la valeur moyenne de densité optique (DO) des contrôles positifs (DOCP) sur la valeur moyenne de densité optique des contrôles négatifs est inférieur à 0.300 (30%).  $DOCP/DOCN < 0.300$ .

- Le coefficient de variation des contrôles négatifs doit être inférieur à 10 %. Si l'un de ces critères n'est pas respecté, les sérums doivent être re-testés.

➤ **Interprétation**

La moyenne doit être calculée des valeurs de DO des 2 contrôles négatifs (DO-CN) et des 2 contrôles positifs (DO-CP). A l'aide de ces deux valeurs, le pourcentage de négativité est calculé pour chaque échantillon selon la formule suivante :

Pour chaque sérum à tester, il faudra calculer le pourcentage S/N (S/N %) :

$$(S/N \%) = DO \text{ sérum} / DO_{CN} * 100$$

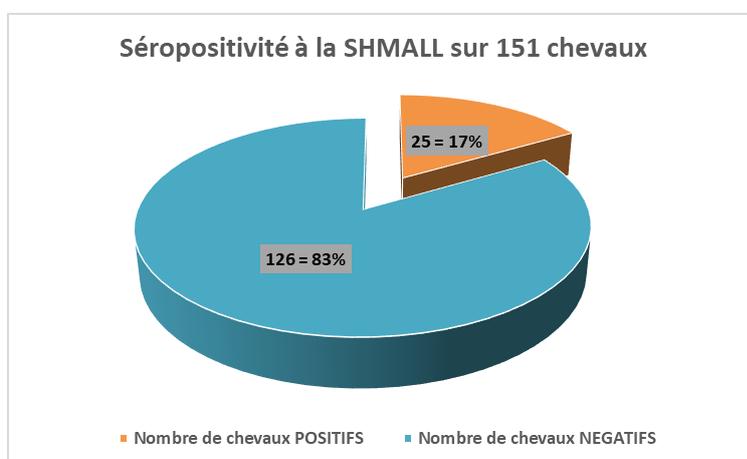
Résultat	Statut
$S/N \% \leq 40$	Positif
$40 < S/N \% \leq 50$	Douteux

### III. Résultats obtenu dans le cadre de l'étude du SBV et discussion :

Les résultats sont obtenus après lecture au spectrophotomètre afin de déterminer le nombre de séropositifs au SBV ainsi que le nombre de négatifs. Ces résultats sont par la suite insérés dans un fichier Excel afin d'étudier les prévalences selon la région étudiée (région Est et région Ouest) ainsi que la prévalence propre à chaque individu (âge, sexe).

#### 1. Séroprévalence générale :

Un total de 151 sérums a été analysé, 25 d'entre eux sont séropositifs au test ELISA compétition, cela représente un taux de prévalence d'environ 16.55% Ces résultats sont obtenus après application du logiciel Excel.



Il faut noter que le kit ELISA utilisé présente une forte sensibilité pour les anticorps anti-SBV tout en évitant l'apparition de faux-positifs par fixation non spécifique d'anticorps sur les protéines virales. Ce sont les IgG qui sont mis en évidence du fait qu'ils peuvent persister de

longues années chez l'individu. Cependant, ce kit ne permet pas de connaître ni le moment précis du contact avec le virus ni la quantité d'anticorps présents dans le sérum de l'animal.

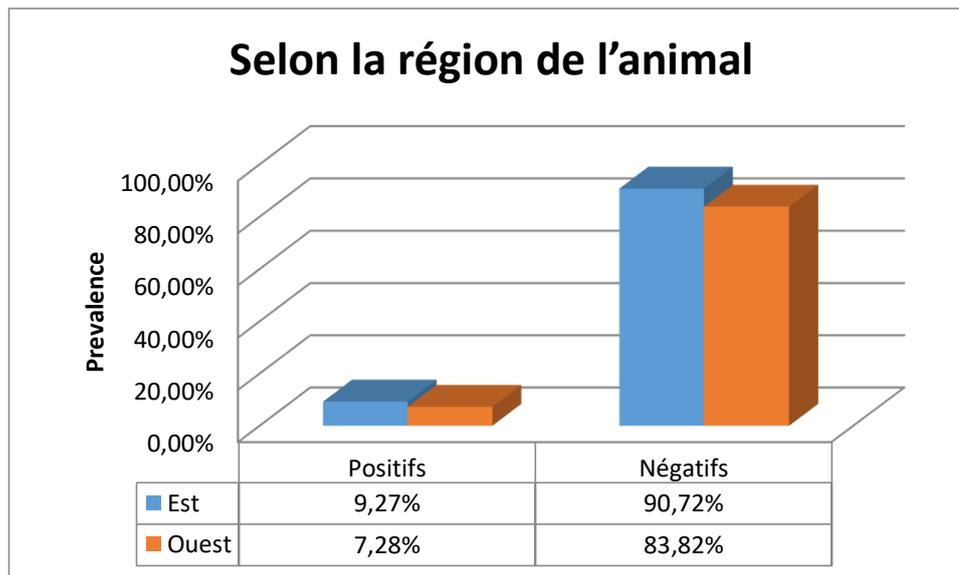
Le résultat de notre étude a montré une séroprévalence de 16.5% beaucoup plus élevée par rapport à la seule étude effectuée chez l'espèce équine en Iran, où Rasekh et al. (2018) avaient retrouvés un taux d'infection de 5% sur un total de 200 chevaux (Rasekh et al., 2018). Cette forte prévalence de la maladie suggère une forte circulation virale du virus Schmallerberg dans la wilaya d'Alger.

## 2. Prévalence de SBV selon la région étudiée :

Les échantillons ont été prélevés dans deux zones de la wilaya d'Alger qui sont :

- **La zone Est d'Alger** : Boudouaou Marine, Ben Rahmoune, Ouled Heddadj, Hammedi, Reghaia, Haouch Rahmoune, Ain Kahla, H'raoua et Ain Taya ;
- **La zone ouest d'Alger** : Ouled Fayet, Bouchaoui et Delly Ibrahim.

Les résultats de la séroprévalence selon les régions diffèrent selon que les chevaux soient de l'Est d'Alger ou de l'Ouest. En effet nous avons constaté que sur l'ensemble de la population équine prélevée, 9.27% (14/151) présentaient des anticorps anti-Virus Schmallerberg dans la région Est et 72.84% (11/151) dans la région Ouest.



Les deux zones (Est et Ouest) semblent être infectées de façon similaire, puisqu'il n'y a presque pas de différence dans la positivité des chevaux atteints. Il faut dire que les deux zones bénéficient d'un climat relativement humide, due principalement à la présence des deux lacs, celui de Reghaia à l'Est et celui de Parc Dounia à l'Ouest.

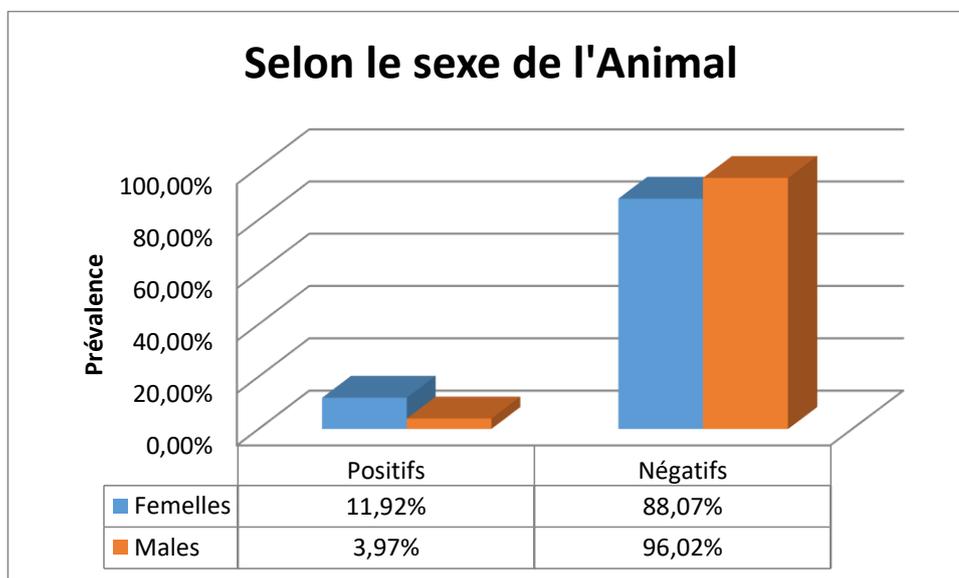
La présence des Lacs augmente le risque de contamination des chevaux par le Virus Schmallerberg, puisque ce dernier se transmet par voie vectorielle, plus particulièrement par le

moustique (Culex et Aedes) (Rasmussen et al., 2012), dont l'eau est le milieu favorable à la prolifération de ces derniers.

### 3. Etude des facteurs de risque individuels :

#### ➤ *Selon le sexe de l'animal :*

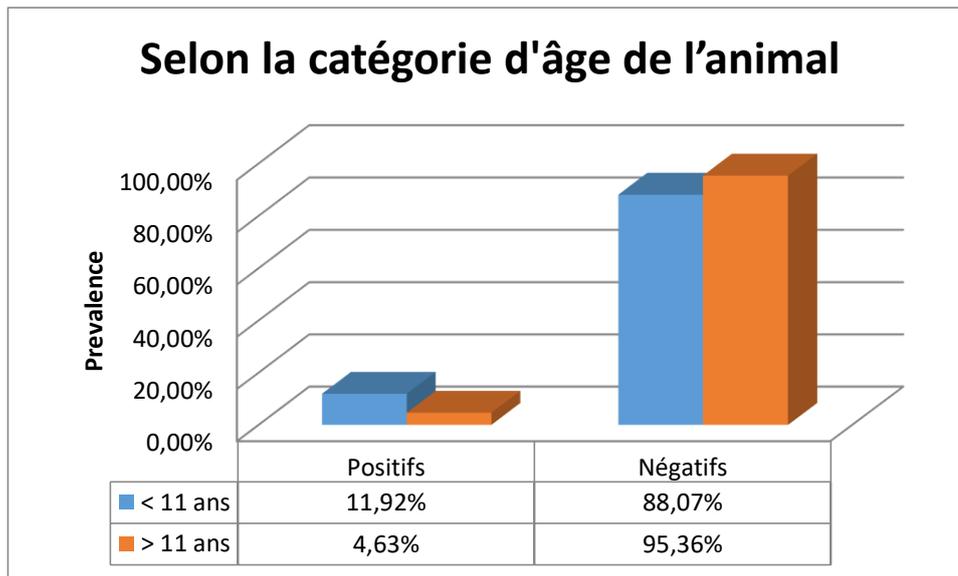
Les résultats de notre étude montrent que les femelles ont un taux d'infection assez élevé de 12.58% (19/151) par rapport à celui des males qui est de 3.97% (6/151).



Pour expliquer ces résultats, il semble que le SBV dans cette étude soit sélectif vis-à-vis des sexes. Les femelles semblent contracter le virus beaucoup plus que les males. L'immunosuppression due à la gestation et la lactation peut augmenter la susceptibilité des chevaux à l'infection par le virus Schmallenberg. Egalement, le fait que c'est un virus abortif et qu'il est plus présent dans la chaîne ganglionnaire de tout l'appareil génital pourrait expliquer cette haute infection chez les femelles.

#### ➤ *Selon l'âge de l'animal :*

Dans cette étude, les chevaux sont repartis en 2 catégories d'âge. Les chevaux de moins de 11 ans et ceux de plus de 11 ans d'âge.



Selon nos résultats, il semblerait que dans cette étude l'âge soit un facteur prédisposant à une infection au SBV. Car les chevaux de moins de 11 ans sont les plus sujets à développer l'infection et à avoir un taux d'anticorps important dans le sang. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que les jeunes sont plus actifs que les adultes et sont plus utilisés dans diverses activités sportives et de loisir, et par conséquent plus exposés aux piqûres d'insectes.

#### **Conclusion et recommandations :**

En conclusion ce mémoire de Master, notre étude a montré l'importance des études épidémiologiques sur le virus Schmallenberg chez les équidés, puisqu'elle a mis en évidence une circulation assez importante de ce virus dans la wilaya d'Alger. Une séroprévalence d'environ 17% a été observée, chez la population équine relativement jeune de moins de 11 ans avec presque 12% des chevaux affectés et une atteinte des femelles plus significative que les mâles.

Les raisons de l'émergence du SBV restent inconnues. Aucun des virus les plus proches du SBV que sont Shamonda, Sathuperi, Douglas, Akabane, Aino, Peaton, ou encore Sango ne sévit en Algérie, ou du moins aucune étude n'a été retrouvée. Bien qu'identifiés dans certaines régions du globe, ces virus semblent toutefois capables d'émerger à distance de leur aire de répartition enzootique.

Bien que ce virus soit de découverte récente, il y a peu de doute que son origine remonte à de nombreuses années et qu'il pourrait avoir co-évolué avec d'autres virus proches. La distribution actuelle des foyers de SBV témoigne d'emblée d'une large diffusion du virus. Celui-ci s'est probablement propagé de façon plus rapide. Il est possible que le brusque changement d'écosystème qu'il a connu lui ait conféré les conditions requises pour rencontrer des populations naïves et denses, afin d'exprimer sa pathogénicité et permettre une large propagation.

Des mesures sanitaires doivent être prises pour limiter la propagation de la maladie aux zones non endémiques en tenant compte des facteurs de risque associés à la maladie. Le rôle des réservoirs doit être pris en considération dans les programmes de lutte contre les maladies abortives. Quoique dans notre étude de faibles séroprévalence ont été rapporté chez équidés, cet aspect doit plus investiguer dans le futur avec un échantillon plus large.

## Références

- A. R. W. Elbers, R. M. (2013, juillet 24). *Schmallenberg Virus in Culicoides Biting Midges in the Netherlands in 2012*. Récupéré sur Wiley online library:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.12128>
- Áine B. Collins, M. L. (2019). *Schmallenberg virus: a systematic international literature review (2011-2019) from an Irish perspective*. Récupéré sur Animal and Bioscience Research Department (BMS): <https://doi.org/10.1186/s13620-019-0147-3>
- Ana A fonso, J. C. (2014, mars 11). *The Schmallenberg virus epidemic in Europe—2011–2013*. Récupéré sur Science directe:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587714000828?via%3Dihub>
- Ana Afonso, J. C. (2014, mars 11). *The Schmallenberg virus epidemic in Europe—2011–2013*. Récupéré sur science direct:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587714000828?via%3Dihub>
- APHA. *Disease surveillance in England and Wales, December 2016*. (2016, décembre). Récupéré sur British Medical Journal Publishing Group: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28082698>
- BALENGHIEN T., D. J.-R. (2012). Vecteurs du virus de la fièvre catarrhale ovine : suivi des populations de culicoides en 2011 en France. *Bulletin Épidémiologique, Santé Animale, Alimentation, Spécial MRE, Bilan 2011*, 54, 35-40.
- Balenghien, T. G.-R.-L. (2010). La surveillance des Culicoides en France. 2.
- Barnabas King, T. O. (2015, juillet 25). *Seroprevalence of Schmallenberg virus in the United Kingdom and the Republic of Ireland: 2011-2013*. Récupéré sur science direct:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113515002874>
- Beer M., C. F. (2012, 10 10). '*Schmallenberg virus*' – a novel orthobunyavirus emerging. Récupéré sur Cambridge University: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/schmallenberg-virus-a-novel-orthobunyavirus-emerging-in-europe/CB20495076034FE309A1CCB181469266>
- BOSHRA H.Y., C. D. (2017). DNA vaccination regimes against Schmallenberg virus infection in IFNAR-/- mice suggest two targets for immunization. *Antiviral Res*, 141, 107–115.
- Calixte, B. (2019-2020). *Contribution à la biologie du virus de Schmallenberg chez les ruminants*. Récupéré sur <http://hdl.handle.net/2268/244587>
- CIFUENTES-MUNOZ N, S.-Q. N. (2014). Hantavirus Gn and Gc Envelope Glycoproteins. *Key Structural Units for Virus Cell Entry and Virus Assembly viruses*, 6, 1801–1822.
- COUPEAU D, B. C. (2019). Host-dependence of in vitro reassortment dynamics among Simbuviruses related to Schmallenberg virus. *Emerging Microbes & Infections*.
- COUPEAU D, C. F. (2013). In vivo and in vitro identification of a hypervariable region in Schmallenberg virus. *J. Gen. Virol*, 94, 1168–1174.
- DESMECHT D., G. M.-M. (2010-2012). Detection of antibodies against Schmallenberg virus in wild boars, Belgium.

- Doceul V, W. K. (2017). Schmallenberg Virus. In *Emerging and Re-Emerging Infectious Diseases of Livestock*, J. Bayry, ed.
- DOMINGUEZ M., H. P. (2012). Preliminary estimate of Schmallenberg virus infection impact in sheep flocks – France. *Veterinary Record*, 171, 426.2-426.
- DUCOMBLE T., W. H. (2012). Lack of evidence for Schmallenberg virus infection in highly exposed persons, Germany, 2012. *Emerg. Infect. Dis*, 18, 1333–1335.
- EFSA. (2014). Schmallenberg virus: State of the Art. 12(5):3681, 54 pp.
- Fieke M. Molenaar, S. A. (2015, aout 14). *Exposure of Asian elephants and other exotic ungulates to Schmallenberg virus*. Récupéré sur PLOS ONE: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0135532>
- Fischer, M. H. (2013). A mutation “hot spot” in the Schmallenberg virus M segment. *J. Gen. Virol*, 94, 1161–1167.
- FORRESTER N, C. L. (2014). Arboviral Bottlenecks and Challenges to Maintaining Diversity and Fitness during Mosquito Transmission. *Viruses*, 6, 3991–4004.
- GACHE K., D. M. (2013). Schmallenberg virus: a seroprevalence survey in cattle and sheep, France, winter 2011-2012. *Vet. Rec*, 173, 141.
- Garigliany M, B. C. (2012). *Schmallenberg virus: A new Shamonda/*. Récupéré sur antiviral resarch: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.05.014>
- GARIGLIANY M.-M., D. D. (2013). No serologic evidence for emerging Schmallenberg virus infection in dogs (*Canis domesticus*). *Vector Borne Zoonotic Dis*, 13, 830–833.
- GOLLER K.V, H. D. (2012). Schmallenberg virus as possible ancestor of Shamonda virus. *Emerging Infect. Dis*, 18, 1644–1646.
- GONZALEZ M., L. S. (2013). A survey of Culicoides developmental sites on a farm in northern Spain, with a brief review of immature habitats of European species. *Vet. Parasitol*, 191, 81–93.
- HOFFMAN B., S. C. (2013). First detection of Schmallenberg virus RNA in bovine semen, Germany, 2012. *Vet. Microbiol*, 167, 289–295.
- HOFFMANN A.R, W. C.-B. (2012). Identification of the target cells and sequence of infection during experimental infection of ovine fetuses with Cache Valley virus. *J. Virol*, 86, 4793– 4800.
- Hoffmann Bernd., S. M. (2011). *Novel Orthobunyavirus in Cattle*. Récupéré sur Centers for Disease Control and Prevention: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1803.111905>
- HOFMANN M.A, M. M. (2015). Genetic stability of Schmallenberg virus in vivo during an epidemic, and in vitro, when passaged in the highly susceptible porcine SK-6 cell line. *Vet microbiol*, 176, 97–108.
- JACK C, A. O. (2012). Evidence of seroconversion to SBV in camelids. *Veterinary Record*, 170: 603.
- Knipe D M, H. P. (2013). *Fields virology*. (Philadelphia: Wolters Kluwer/ Lippincott Williams & Wilkins).
- KOCH H.G., A. R. (1979). Attraction of *Culicoides Furens* and *C. Hollensis* (Diptera: Ceratopogonidae) to Animal Hosts in a Salt Marsh Habitat. *Med Entomol*, 15, 494–499.
- LALOY E., B. E.-J. (2017). Fetopathic effects of experimental Schmallenberg virus infection in pregnant goats. *Vet. Microbiol*, 211, 141–149.

- Lasse Dam Rasmussen, B. K. (2012, juillet). *Culicoids as Vectors of Schmallenberg Virus*. Récupéré sur the Centers for Disease Control and Prevention: [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/18/7/12-0385\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/18/7/12-0385_article)
- LASSEN S.B., N. S. (2012). Identity and diversity of blood meal hosts of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae: Culicoides Latreille) in Denmark. *Parasit Vectors*, 5, 143.
- M.W, S. (1971). Adult Flight Activities of some British Culicoides Species. *Journal of Medical Entomology*, 8, (5), 605-609.
- Magdalena Larska, M. K. (2013, aout 16). *First detection of Schmallenberg virus in elk (Alces alces) indicating infection of wildlife in Białowieża National Park in Poland*. Récupéré sur Science direct: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023313003882>
- MARTINELLE L., P. A. (2015). Experimental Infection of Sheep at 45 and 60 Days of Gestation with Schmallenberg Virus Readily Led to Placental Colonization without Causing Congenital Malformations. *PLoS ONE*, 10, e0139375.
- MEROC E., P. A. (2013). Large-scale cross-sectional serological survey of Schmallenberg virus in Belgian cattle at the end of the first vector season. *Transbound Emerg Dis*, 60, 4–8.
- MEROC E., R. F. (2014). Distribution of Schmallenberg virus and seroprevalence in Belgian sheep and goats. *Transbound Emerg Dis*, 61, 425–431.
- MOLENAAR F.M., L. R. (2015). Exposure of Asian Elephants and Other Exotic Ungulates to Schmallenberg Virus. *PLoS ONE*, 10, e0135532.
- MOUCHANTAT S., W. K. (2015). A broad spectrum screening of Schmallenberg virus antibodies in wildlife animals in Germany. *Vet. Res*, 46, 99.
- PERRIN Y., J. F.-R.-R. (2012). Surveillance et contrôle des Culicoides vecteurs de la fièvre catarrhale du mouton en France. *Centre National d'Expertise sur les Vecteurs, rapport sur l'analyse du cadre actuel de gestion et propositions d'amélioration*, 4-31.
- Plyusnin A, E. R. (2011). *Bunyaviridae: molecular and cellular biology*. (Norfolk,UK: Caister Academic Press).
- PONSART C., P. N. (2014). Evidence of excretion of Schmallenberg virus in bull semen. *Vet. Res*, 45, 37.
- POSKIN A., M. L. (2014). Dose-dependent effect of experimental Schmallenberg virus infection in sheep. *Vet. J*, 201, 419–422.
- R.L, N. (1965). Carbon Dioxide as an Attractant For Culicoides. *J. Med Entomol*, 2, 56–57.
- RABOISSON Didier, W.-S. A. (2015). Impact du virus de Schmallenberg au sein de plusieurs systemes d'élevage en France. *Buletin des GTV*, 102.
- RASEKH M., S. A. (2018, Janvier). *Detection of Schmallenberg virus antibody in equine population of Northern and Northeast of Iran*. Récupéré sur Veterinary World, EISSN: 2231-0916: [www.veterinaryworld.org/Vol.11/January-2018/7.pdf](http://www.veterinaryworld.org/Vol.11/January-2018/7.pdf)
- REUSKEN C, V. D.-J. (2012). Lack of evidence for zoonotic transmission of Schmallenberg virus. *Emerg. Infect. Dis*, 18, 1746–1754.
- SAILLEAU C., B. C. (2013). Schmallenberg virus infection in dogs, France, 2012. *Emerging Infect. Dis*, 19, 1896–1898.

- SCHULZ C., W. K. (2014). Infectious Schmallerberg Virus from Bovine Semen, Germany. *Emerg. Infect. Dis*, 20, 337–339.
- SCHULZ Claudia, B. M. (2015, aout 27). *Schmallerberg virus infection in South American camelids: Field and experimental investigations*. Récupéré sur Veterinary Microbiology: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.08.024>
- Scott Jones, L. E. (2019). *Schmallerberg virus neutralising antibody*. Récupéré sur BMC Veterinary Research: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2139-7>
- Steinrigl A., S. P. (2014, mars 19). *Rapid spread and association of Schmallerberg virus with ruminant abortions and foetal death in Austria in 2012/2013*. Récupéré sur ScienceDirect: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587714001019>
- Tarlinton R, D. J. (2012). The challenge of Schmallerberg virus emergence in Europe. *Vet. J.* 194, 10–18.
- TARLINTON R., D. J. (2012). The challenge of Schmallerberg virus emergence in Europe. *Vet.J*, 194, 10–18.
- TILSTON-LUNEL N.L, S. X. (2017). The Potential for.
- VAN DEN BROM R., L. S.-P. (2012). Epizootic of ovine congenital malformations associated with Schmallerberg virus infection. *Tijdschr. Diergeneeskd*, 137,106–111.
- VARELA M., S. E. (2013). Schmallerberg virus pathogenesis, tropism and interaction with the innate immune system of the host. *PLoS Pathog*, 9, e1003133.
- WENSMAN J.J., B. G. (2013). Presence of antibodies to Schmallerberg virus in a dog in Sweden. *J. Clin. Microbiol*, 51, 2802–2803.
- WERNIKE K, B. M. (2019). Misinterpretation of Schmallerberg virus sequence variations: the sample material makes the difference. *Virus Genes*.
- WERNIKE K., B. A. (2012). Schmallerberg virus infection of adult type I interferon receptor knock-out mice. *PLoS One*, 7:e40380.
- WERNIKE K., B. E. (2016). Effective interference between Simbu serogroup orthobunyaviruses in mammalian cells. *Vet. Microbiol*, 196, 23–26.
- Wernike K., C. F.-B.-B. (2014, mars 24). *Schmallerberg virus—Two years of experiences*. Récupéré sur sciencedirect: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587714001160?via%3Dihub>
- WERNIKE K., E. M. (2013). Oral exposure, reinfection and cellular immunity to Schmallerberg virus in cattle. *Vet Microbiol*, 165:155–159.
- YANASE T, K. T. (2012). Genetic reassortment between Sathuperi and Shamonda viruses of the genus Orthobunyavirus in nature: implications for their genetic relationship to Schmallerberg virus. *Archives of Virology*, 157, 1611–1616.
- ZIMMER J.-Y., H. É. (2014a). Synthèse bibliographique : l'écologie larvaire des culicoïdes (Diptera : Ceratopogonidae). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 12.
- ZIMMER J.-Y., V. F. (2015). Orientation behaviour of *Culicoides obsoletus* (Diptera: Ceratopogonidae), a relevant virus vector in northern Europe, toward host-associated odorant cues. *Vet. Parasitol*, 211, 274–282.



