

République Algérienne Démocratique
et Populaire

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magister

Option : immunologie animale

Thème :

*Approche séro-épidémiologique des avortements d'étiologie virale
(BHV1, BHV4 et BVDV) dans des élevages bovins de l'Ouest et du
Nord-Ouest de la wilaya de Sétif*

Présenté par : MENADI Salah Eddine

Les membres du jury :

	Nom &Prénom	Grade	Institution
Président	Khelef .D	Professeur	ENSV Alger
Promoteur	Ghalmi .F	MCA	ENSV Alger
Co-Promoteur	Azzag .N	MCA	ENSV Alger
Examineur 1	Kaidi .R	Professeur	ISV Blida
Examineur 2	Ait Oudhia .KH	Professeur	ENSV Alger
Examineur 3	Boukhors .K.T	Professeur	ENSV Alger

Année universitaire : 2016/2017

REMERCIEMENTS

Au seuil de ce mémoire de Magister, qu'il nous soit permis d'adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce travail, particulièrement :

A ma promotrice Dr Ghalmi Farida, je lui exprime mes vifs remerciements pour toutes les informations qu'elle nous a données, ses efforts, sa disponibilité, ses précieux conseils, ses qualités humaines et surtout sa gentillesse.

Je tiens aussi à exprimer mes remerciements les plus sincères à ma Co-promotrice Dr Azzag Naouel pour sa générosité et ses précieux conseils dans l'accomplissement de ce travail.

Mes remerciements et hommage au :

Pr Khelef Djamel de nous faire l'honneur de présider le jury.

Pr Kaïdi Rachid Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury.

Pr Ait Oudhia Khatima Qui a accepté de juger ce travail.

Pr Boukhors Karima Thamina pour l'honneur qu'elle nous fait d'examiner ce travail.

A tout le personnel de la bibliothèque.

A tous mes enseignants depuis ma scolarisation primaire

Dédicace

Au nom de Dieu le tout puissant et le très miséricordieux par la grâce duquel j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à :

Ceux auxquels je dois ma réussite. Aux personnes les plus chères dans ce monde, à mes parents, pour leur amour, leur dévouement et leur soutien tout au long de ces longues années d'étude. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude, je ne les ai jamais assez remerciés.

Que Dieu me les préserve « inshallah ».

A mes très chers frères et sœurs :

A toute la famille : Menadi.

A tous mes amis d'enfance, de la jeunesse, de la résidence universitaire Bouraoui Amar, et de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

A tous les vétérinaire praticiens qui m'ont aidé.

A tous mes collègues de travail

Résumé

L'avortement au sein d'une exploitation occasionne des pertes économiques substantielles. Dans cette étude, nous avons fait le point sur les principaux virus abortifs dans des élevages bovins situés à l'Ouest et au Nord-Ouest de la wilaya de Sétif, durant la période allant de septembre 2014 à juin 2015.

Dans un premier temps, nous avons estimé le taux d'avortement qui était de 29,33% (88/300) (IC 95% 24.2% -34.5%) ainsi que quelques facteurs de risque influençant négativement le maintien de la gestation chez la vache. Les facteurs tels la commune, la taille du troupeau, le mode de reproduction, la présence de petits ruminants dans la ferme, la pratique du pâturage en commun des bovins, la mise en quarantaine des animaux nouvellement acquis et la source de la vache se sont révélés significativement associés à la survenue des avortements chez les vaches ($p < 0,05$).

Ensuite, nous nous sommes intéressés à l'étude de la séroprévalence vis-à-vis du BHV1, BVDV, et du BHV4, aux facteurs de risque impliqués, ainsi que de l'association de ces derniers aux avortements observés chez les vaches dans la région. Pour ce faire, un total de 184 prélèvements sanguins de vaches a été effectué et analysé en utilisant le kit ELISA de la trousse avortement (BHV1, BVDV, BHV4). Les résultats ont montré que 30.43 %, 29.89% et 14.13% des sérums étaient positifs aux BHV1, BVDV et BHV4 respectivement. L'analyse des facteurs de risque susceptibles d'influencer la séroprévalence vis-à-vis du BHV1 a montré l'effet de la commune, du mode d'élevage semi-intensif, du pâturage commun des troupeaux, de la monte naturelle, de la présence de petits ruminants dans la ferme, de la source des bovins et du statut sanitaire vis-à-vis du BVDV. Par ailleurs, cette étude a montré une corrélation positive entre l'infection par le BVDV et l'élevage mixte avec les petits ruminants, la race, ainsi que la séropositivité vis-à-vis du BHV1. Aucun facteur pouvant influencer la séropositivité vis-à-vis du BHV4 chez le bovin n'a été mis en évidence.

L'étude cas-témoin réalisée pour vérifier si le BHV1, BHV4 et/ou le BVDV étaient impliqués dans la survenue des avortements chez les vaches a montré une association significative entre le fait d'avoir des anticorps anti-BVDV chez la vache et le statut de la ferme ($p=0.005$, OR=3,26 IC95% 1,42-7,49). Une association positive a été trouvée entre les avortements et la séropositivité au BHV1 ($p= 0.004$, OR=2.63 IC 95% 1.37-5.04), au BVDV ($p=0.002$, OR=2.81 IC 95% 1.46-5.42) et à la coïnfection BHV1-BVDV ($p=0.02$, OR=3.44 IC 95% 1.18-10). Ainsi, 25.35% et 26.34% de tous les avortements enregistrés dans notre étude ont été attribués au BHV1 et au BVDV respectivement.

Au vu de tous ces résultats obtenus, nous pouvons conclure que le BHV1 et le BVDV devraient figurer systématiquement dans le diagnostic différentiel des avortements en Algérie.

Mot clés : vache, avortement, BHV1, BVDV, BHV4, séroprévalence, ELISA, facteurs de risque, Sétif

Abstract

Abortion at a farm causes substantial economic losses.

In this study, we reported on the main abortive virus in cattle farms in the West and Northwest of the wilaya of Setif during the period from September 2014 to June 2015.

Initially, we estimated that the abortion rate was 29,33% (IC 95% 24.2% -34.5%) and some risk factors influencing negatively the maintenance of pregnancy in cows in farms in the West and North West the wilaya of Setif. The various factors analyzed indicate that Location (Province), herd size, way of reproduction, the presence of small ruminants in the farm, the practice of common grazing cattle, isolation of newly acquired animals and the source of the cow are significantly associated with the occurrence of abortions in cows.

Next, we were interested in the study of seroprevalence BHV1, BVDV, and BHV4, the study of risk factors, and their possible association with abortions observed in cows in the area. For this, a total of 184 blood samples from cows has been performed and analyzed using the ELISA kit of abortion (BHV1, BVDV, BHV4). The results showed that 30.43%, 29.89% and 14.13% of the sera were positive for BHV1, BVDV and BHV4 respectively. Analysis of risk factors that may influence the seroprevalence of BHV1 showed the influence of : the semi-intensive Management type, the common grazing herds, the natural service, the presence of small ruminant the farm, the source of cattle and the health status to BVDV. Furthermore, this study showed a positive correlation between infection with BVDV and mixed farming with small ruminants, breed, and the health status to BHV1. No factor can influence the seroprevalence against the bovine herpesvirus 4 in cattle has been highlighted.

The case-control study to check if the BHV1, BHV4 and /or BVDV were involved in the occurrence of abortions in cows showed a significant association between having anti-BVDV antibodies in cow and farm status ($p = 0.005$, OR = 3.26 95% CI 1.42 to 7.49). A positive association was found between abortions and seropositivity for BHV1 ($p= 0.004$, OR=2.63 IC 95% 1.37-5.04), BVDV ($p=0.002$, OR=2.81 IC 95% 1.46-5.42) and coinfection BHV1-BVDV ($p=0.02$, OR=3.44 IC 95% 1.18-10). Thus, 25.35% and 26.34% of all abortions registered in our study were attributed to BHV1 and BVDV respectively.

In view of these results, we can conclude that the BHV1 and BVDV should be included systematically in the differential diagnosis of abortions in Algeria.

Keywords: cow, abortion, BHV1, BVD, BHV4, seroprevalence, ELISA, risk factors, Sétif

ملخص

الإجهاض في المزارع يسبب خسائر اقتصادية كبيرة. وفي هذه الدراسة ركزنا على أهم الفيروسات المجهضة في مزارع الأبقار الواقعة في غرب وشمال غرب ولاية سطيف خلال الفترة من سبتمبر 2014 إلى يونيو 2015.

في البداية قدرنا نسبة الإجهاض بـ 29.33% (300/88) (34.5%- 24.2% IC 95%) وبعض عوامل الخطر التي تؤثر سلبا في الحفاظ على الحمل لدى الأبقار في المزارع الواقعة غرب وشمال غرب ولاية سطيف. تحليل هذه العوامل تبين أن البلدية، حجم القطيع، نوع التكاثر، وجود المشتريات الصغيرة، ممارسة الرعي المشترك للقطعان، الحجز الصحي للحيوانات المكتسبة حديثا و مصدر البقرة ترتبط بشكل وطيد مع حدوث الإجهاض لدى الأبقار.

ثم نظرنا في دراسة الانتشار المصلي تجاه BHV1, BVDV و BHV4، دراسة ارتباطهم بعوامل الخطر وصلتهم الممكنة مع حالات الإجهاض التي لوحظت عند الأبقار في المنطقة. للقيام بذلك قد تم إجراء ما يقدر بـ 184 عينة دم من الأبقار و تحليلها بتقنية ELISA عدة إجهاض (BHV1, BVDV, BHV4) و أظهرت النتائج أن 30.34%، 29.89% و 14.13% من الأمصال كانت إيجابية لـ BHV1, BVDV و BHV4 على التوالي. تحليل عوامل الخطر التي قد تؤثر على انتشار BHV1 بينت تأثير كل من الموقع الجغرافي (البلدية)، طريقة التربية شبه مكثفة، الرعي المشترك للقطعان، التلقيح الطبيعي، وجود المشتريات الصغيرة، مصدر البقرة و الحالة الصحية تجاه الإسهال الفيروسي (BVD). و علاوة على ذلك، كشفت هذه الدراسة وجود علاقة إيجابية بين الإصابة بالإسهال الفيروسي البقري (BVD) و وجود المشتريات الصغيرة في المزرعة، السلالة و الحالة الصحية تجاه مرض التهاب الأنف و القصبية المعدي (IBR)، و أخيرا لم تظهر هذه الدراسة أي عامل له تأثير على الانتشار المصلي لـ BHV4.

الدراسة الوبائية حالة-شاهد لمعرفة إذا ما كان كل من BHV1, BVDV و BHV4 متسببين في حدوث الإجهاض لدى الأبقار فقد أظهرت علاقة بين وجود الأجسام المضادة تجاه BVDV لدى الأبقار ووضع المزرعة تجاه الإجهاض (حالة-شاهد) (1.42-7.49, IC95% 3.26, OR=3.26, p=0.005). وقد تم العثور أيضا على علاقة إيجابية بين الإجهاض لدى الأبقار وإيجابية الأمصال إزاء BHV1 (1.37-5.04, IC 95% 2.63, OR=2.63, p=0.004, BVDV, (p=0.002, (1.46-5.42, IC95% 2.81, OR=2.81 والعُدوى المشتركة BHV1-BVDV (1.18-10, IC 95% 3.44, OR=3.44, (p=0.02). هذا وقد نسبت 25.35% و 26.34% من جميع حالات الإجهاض في دراستنا لـ BHV1 و BVDV على التوالي.

على ضوء هذه النتائج يمكننا أن نستنتج أن BHV1 و BVDV ينبغي أن يدرجوا في التشخيص التفريقي لحالات الإجهاض البقرية في الجزائر.

الكلمات الرئيسية: بقرة، إجهاض، BHV1, BVDV, BHV4، الانتشار المصلي، ELISA، عوامل الخطر، سطيف

Sommaire
Liste des abréviations**Liste des tableaux****Liste des figures****Introduction générale.....1****Partie bibliographique****Etude bibliographique de la Diarrhée Virale Bovine/ Maladie des Muqueuses (BVD/MD).****I. Historique 4****II. Taxonomie.....4****III. Organisation générale.....7**

1. Morphologie.....7

2. Organisation du génome..... 7

3. Protéines virales..... 8

3.1. Caractéristique et fonction des protéines structurales9

3.2. Caractéristique et fonction des protéines non structurales..... 10

IV. Cycle viral..... 11**V. Propriété phisico-chimique..... 13****VI. Propriété biologique.13**

1. Notion de biotype.....13

2. Variabilité génomique.....15

3. Variabilité antigénique.....16

4. Transmission interspécifique.....17

5. Pouvoir immunogène.....18

5.1. Réponse immunitaire innée.....18

5.2. Présentation de l'antigène du BVDV.....21

5.3. Réponse immunitaire adaptative.....21

A. Réponse immunitaire a médiation cellulaire.....21

B. Réponse immunitaire a médiation humorale22

5.4. Réponse immunitaire chez le veau nouveau-né.....23

VII. Pathogenèse et expression clinique.....24

1. Infection hors gestation.....24

1.1. Pathogenèse.....24

1.2. Expression clinique.....25

A. Forme subclinique.....	25
B. Troubles digestifs.....	25
a).Diarrhée virale bovine aiguë bénigne.....	25
b).Entérite diarrhéique néonatale.....	26
C. Troubles de la reproduction.....	26
D. Troubles respiratoires.....	26
E. Troubles hémorragique.....	27
2. Infection durant la gestation.....	27
2.1. Pathogenèse.....	27
2.2. Conséquences en fonction du stade de gestation.....	28
A. Infection pendant le premier mois.....	28
B. Infection entre 1 et 5 mois.....	28
C. Infection entre 2 et 6 mois.....	29
D. Infection entre 5 et 9 mois.....	29
E. Cas particulier de l'infection entre 1 et 4 mois de gestation (40j-120j).....	29
F. Bilan des troubles observés	30
3. Maladie des muqueuses.....	31
3.1. Pathogénie de la maladie des muqueuses.....	31
3.2. Expression clinique.....	32
A. Forme aiguë de la maladie des muqueuses.....	32
B. Forme chronique de la maladie des muqueuses.....	33
VIII. Epidémiologie du syndrome BVD/MD.....	33
1. Epidémiologie descriptive.....	33
1.1. Espèces et types d'animaux concernés.....	33
1.2. Répartition géographique et fréquence de l'infection.....	33
1.3. Importance économique.....	34
2. Epidémiologie analytique.....	34
2.1. La source de virus.....	34
2.2. Mode de transmission.....	35
3. Epidémiologie synthétique.....	35
3.1. Origine de la contamination d'un élevage.....	35
3.2. Persistance de l'infection au sein de l'élevage.....	35
IX. Diagnostic du syndrome BVD/MD	36

1. Diagnostics clinique et épidémiologique.....	36
2. Diagnostic nécropsique.	36
2.1. Lésions digestifs.....	36
2.2. Lésions extradigestifs.....	36
3. Diagnostic différentiel.....	36
3.1. Les maladies digestives.....	37
A. Fièvre aphteuse	37
B. Fièvre catarrhale maligne (ou coryza gangreneux)	37
3.2. Les maladies abortives.....	37
4. Diagnostic de laboratoire.....	37
4.1. Détection du virus.....	38
A. Isolement viral en culture cellulaire.....	38
B. Détection des antigènes viraux (ELISA ag).....	39
C. Détection des acides nucléiques (la PCR par transcriptase inverse en temps réel RT-PCR ou RT-qPCR).....	40
D. Immunofluorescence ou immunohistochimie.....	41
a). Immunofluorescence.....	42
b). Le test immunoperoxydase.....	42
E. Interprétation des tests virologiques.....	43
4.2. Détection des anticorps.....	43
A. Test de séroneutralisation.....	43
B. Tests Immunoenzymatiques.....	44
a).ELISA indirecte.....	44
b).ELISA compétition	45
C. Interprétation des tests sérologique.....	46
X. Prophylaxie sanitaire et/ou médicale.....	47
1. Prophylaxie sanitaire.....	47
1.1. Identification et élimination des animaux IPI du troupeau.....	47
1.2. Prévention de l'introduction de l'infection dans le troupeau et biosécurité.....	48
2. Prophylaxie médical.....	48
2.1. Objectifs de la vaccination.....	48
2.2. Vaccination.....	49
A. Vaccins vivants modifiés.....	49

B. Vaccins inactivés.....	50
2.3. Immunité induite par la vaccination.....	50
Etude bibliographique de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR)	52
I. Historique.....	52
II. Etiologie.....	52
1. taxonomie.....	52
1.1. Infection croisée.....	53
1.2. Présentation du virion.....	54
A. Morphologie.....	54
B. Génome.....	54
C. Glycoprotéines virales.....	55
2. Propriétés physico-chimiques.....	56
3. Cycles infectieux.....	56
3.1. Cycle lytique.....	57
A. Adsorption.....	57
B. fusion et pénétration.....	57
C. Transport.....	57
D. Transcription, Réplication et Synthèse.....	58
E. Assemblage de la capside.....	59
F. libération.....	59
3.2. Cycle latent.....	60
4. Pathogénie.....	62
4.1. Infection primaire.....	62
4.2. Multiplication locale et excrétion virale.....	62
4.3. Dissémination du virus dans l'organisme hôte.....	63
A. Dissémination locale.....	63
B. Dissémination par voie sanguine.....	64
C. Dissémination par voie nerveuse.....	64
4.5. Etablissement de la latence.....	64
A. Rôle du gène LR dans la latence.....	65
4.6. Réactivation et réexcrétion.....	66
5. Pouvoir immunogène.....	67
5.1. Réponse immunitaire non spécifique.....	68
A. Interféron et cytokines.....	68

B. Polynucléaires neutrophiles.....	69
C. Macrophages.....	69
D. Cellules Natural Killer (NK).....	69
5.2. Réponse immunitaire spécifique.....	70
A. Réponse immunitaire spécifique à médiation cellulaire.....	70
B. Réponse immunitaire spécifique à médiation humorale.....	70
5.3. Echappement du virus à la réponse immunitaire.....	72
5.4. Immunité chez le fœtus et le jeune.....	73
III. Clinique.....	74
1. Forme respiratoire ou Rhinotrachéite Infectieuse Bovine.....	75
2. Forme oculaire.....	75
3. Forme génitale ou Vulvovaginite et balanoposthite.....	76
4. Avortement.....	76
5. Autres formes.....	77
5.1. Métrites après césarienne.....	77
5.2. Mammites.....	77
5.3. Septicémie des nouveaux-nés.....	78
5.4. Encéphalite	78
5.5. Atteinte podale.....	78
IV. Epidémiologie.....	79
1. Epidémiologie descriptive.....	79
1.2. Répartition géographique et fréquence de l'infection.....	79
1.2. Importance économique.....	79
2. Epidémiologie analytique.....	80
2.1. La source de virus.....	80
2.2. Modes de transmission de l'IBR.....	80
A. Transmission directe.....	80
B. Transmission indirecte.....	81
2.3. Facteurs favorisant de l'infection par BVH1 des troupeaux.....	81
3. Epidémiologie synthétique.....	82
3.1. Origine de la contamination d'un élevage.....	82
3.2. Maintien de l'infection.....	82
V. Diagnostic de l'IBR.....	82
1. Diagnostic direct.....	83

1.1. Réalisation des prélèvements.....	83
1.2. Recherche de virion.....	83
A. Isolement viral sur cultures cellulaires.....	83
B. Microscopie électronique.....	84
1.3 Recherche des antigènes viraux.....	84
1.4. Recherche de l'ADN viral.....	84
2. Diagnostic indirecte.....	85
2.1. Réalisation des prélèvements.....	85
2.2. Recherche d'anticorps.....	85
A. Test de séro-neutralisation.....	85
B. La technique ELISA (enzyme linked immunosorbent assay).....	85
C. Autres tests sérologiques	86
VI. Prophylaxie.....	86
1. Prophylaxie sanitaire.....	86
2. Prophylaxie médicale.....	87
2.1. Objectif de la vaccination.....	87
2.2. Vaccination.....	87
A. Vaccin vivant ou atténué.....	87
B. Vaccin inactivé.....	88
C. Vaccin sous-unitaire.....	88
D. Vaccin recombinant.....	88
E. Vaccin délété ou marqués.....	89
Etude bibliographique de L'herpèsvirus bovin de type 4 (BHV4)	90
I. Historique.....	90
II. Etiologie.....	90
1. taxonomie.....	90
2. Présentation du virion.....	90
3. Réaction croisé.....	92
4. Cycle infectieux.....	92
A. Cycle lytique.....	93
B. Cycle latent.....	94
III. Pathogénie de l'infection virale.....	95
1. Infection primaire.....	95
2. Etablissement de la latence.....	96

3. Réactivation virale et réexcrétion.....	96
IV. Pouvoir immunogène.....	97
V. Signes cliniques associés au BHV4 chez les bovins.....	98
VI. Epidémiologie.....	98
1. Epidémiologie descriptive.....	98
1.1. Espèces sensibles.....	98
1.2. Répartition géographique.....	99
2. Epidémiologie analytique.....	99
2.1. La source de virus.....	99
2.2. Mode de transmission.....	99
A. Voie horizontale.....	99
B. Voie verticale.....	100
3. Epidémiologie synthétique.....	100
3.1. Maintien de l'infection.....	100
VII. Diagnostic Du BHV4.....	100
1. Diagnostic de laboratoire.....	101
1.1. Diagnostic indirect.....	101
1.2. Diagnostic direct.....	101
VIII. Prophylaxie.....	102
1. Prophylaxie sanitaire.....	102
2. Prophylaxie médicale.....	103
Partie expérimentale	
I. Problématique et objectifs de l'étude.....	105
II. Matériel et méthode.....	107
1. Description de la région d'étude.....	107
1.1. Situation géographique.....	107
1.2. Caractères Agropédoclimatiques.....	107
1.2.1. Relief.....	107
1.2.2. Climat.....	108
1.3. Production animale dans la région d'étude.....	110
1.4. Description du mode d'élevage bovin.....	110
2. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique.....	110
2.1. Mode d'échantillonnage.....	110
2.1.1. Enquête épidémiologique descriptive sur les avortements.....	110

2.1.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis du BHV1, BVDV, BHV4.....	111
2.1.2. Étude épidémiologique de type cas-témoin.....	112
3. Nature et préparation des prélèvements.....	112
4. Analyses sérologiques.....	113
4.1. La technique ELISA Indirect BHV1, BHV4 et BVDV.....	113
5. Analyses statistiques.....	114
5.1. Enquête séroépidémiologique de l'infection par les virus BHV1, BVDV et BHV4...	114
5.2. Enquête épidémiologique sur l'avortement.....	115
5.3. Enquête épidémiologique Cas-témoin.....	115
5.3.1. Odds ratio (OR).....	115
5.3.2. Fraction attribuable chez les exposés ou fraction étiologique de risque.....	115
5.3.3. Fraction attribuable dans la population ou fraction étiologique de risque dans la population.....	116
II. Résultats.....	117
1. Enquête épidémiologique sur les avortements.....	117
1.1. Prévalence des avortements.....	117
1.2. Étude des facteurs de risque liés aux avortements chez la vache.....	117
2. Étude séroépidémiologique de l'infection par les virus BHV1, BVDV et BHV4.....	121
2.1. Étude de la séroprévalence des infections et coïnfections par les virus BHV1, BHV4 et BVDV.....	121
2.1.1. Taux de séroprévalence des infections par les virus BHV1, BVDV et BHV4...	121
2.1.2. Étude de la séroprévalence des coïnfections par les virus BHV1, BHV4 et BVDV.....	123
2.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des infections et coïnfections par les virus BHV1-BHV4-BVDV.....	123
2.2.1. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BHV1.....	123
2.2.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BVDV.....	125
2.2.3. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BHV4.....	125
2.2.4. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des coïnfections par les virus BHV1-BHV4-BVDV.....	129
3. Étude épidémiologique de type cas-témoin.....	133
3.1. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition le BHV1.....	133
3.1.1. Séroprévalence du BHV1 en fonction du statut des fermes.....	133
3.1.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation.....	135

3.1.3. Étude cas-témoin au niveau individuel.....	135
3.2. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition le BVDV.....	136
3.2.1. Séroprévalence du BVDV en fonction du statut des fermes.....	136
3.2.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation.....	137
3.2.3. Étude cas-témoin au niveau individuel.....	137
3.3. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition le BHV4.....	138
3.3.1. Séroprévalence du BHV4 en fonction du statut des fermes.....	138
3.3.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation.....	139
3.3.3. Étude cas-témoin au niveau des individus.....	140
4. Étude cas-témoin entre avortement chez la vache et exposition aux agents abortifs étudiés.....	140
4.1. Étude de l'association entre la séropositivité au BHV1 et l'avortement des vaches.....	140
4.2. Étude de l'association entre la séropositivité au BVDV et l'avortement chez la vache.....	142
4.3. Étude de l'association entre la séropositivité au BHV4 et l'avortement chez la vache.....	143
4.4. Étude de l'association entre la coïnfection (par deux ou trois virus) et l'avortement chez la vache.....	144
III. Discussion.....	146
1. Enquête épidémiologique sur les avortements bovins.....	146
1.1. Prévalence des avortements.....	146
1.2. Étude des facteurs de risque liés aux avortements chez la vache.....	146
2. Étude séroépidémiologique de l'infection par les virus BHV1, BVDV et BHV4.....	149
2.1. Étude de la séroprévalence des infections et coïnfections par les virus BHV1, BHV4 et BVDV.....	149
2.1.1. Séroprévalence du BHV1.....	149
2.1.2. Séroprévalence du BVDV.....	150
2.1.3. Séroprévalence du BHV4.....	151
2.1.4. Séroprévalence des coïnfections.....	151
2.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des infections et coïnfections par les virus BHV1-BHV4-BVDV.....	152
2.2.1. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BHV1.....	152
2.2.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BVDV.....	154
2.2.3. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BHV4.....	155
2.2.4. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des coïnfections par les virus BHV1-BHV4-BVDV.....	156

2.2.4.1. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence de la coïnfection BHV1-BVDV.....	156
2.2.4.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence de la coïnfection BHV1-BHV4.....	157
2.2.4.3. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des coïnfections BVDV-BHV4 et BHV1-BVDV-BHV4.....	158
3. Étude épidémiologique de type cas-témoin.....	158
4. Étude cas-témoin entre avortement chez la vache et exposition aux agents abortifs étudiés.....	159
4.1. Étude de l'association entre la séropositivité au BHV1 et l'avortement des vaches.....	159
4.2. Étude de l'association entre la séropositivité vis-à-vis du BVDV et l'avortement de la vache.....	160
4.3. Étude de l'association entre la séropositivité au BHV4 et l'avortement chez la vache.....	160
4.4. Étude de l'association entre la séropositivité vis-à-vis du de la coïnfection double BHV1-BVDV et l'avortement.....	161
4.5. Étude de l'association entre la séropositivité vis-à-vis de la coïnfection double BHV1-BHV4, BVDV-BHV4, la coïnfection triple BHV1- BVDV-BHV4 et l'avortement de la vache.....	162
IV. Conclusion, Recommandations et Perspectives.....	163
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

Ac:	Anticorps
ADCC:	cytoxicité cellulaire dépendante d'anticorps
ADN :	acide désoxyribonucléique
Ag:	Antigène
ALHV-1:	Alcelaphine herpesvirus 1
ARN:	acide ribonucléique
BD:	Border Disease
BDV :	virus de la maladie des Frontières
BHV1 :	bovine herpesvirus de type 1
BHV4 :	bovine herpesvirus de type 4
BICPO:	bovine infected cell protein O
BVD-MD :	Diarrhée Virale Bovine - Maladie des Muqueuses
BVDV :	virus de la diarrhée virale bovine
CapHV:	Caprine Herpesvirus
CerHV:	Cerf Herpesvirus
CSF :	Peste Porcine Classique ou Classical Swine Fever
CSFV :	virus de la peste porcine classique
CD :	cluster of différenciation
CMH :	complexe major d'histocompatibilité
CP :	cytopathogène
CMS :	cellule mononucléée sanguine
CPA :	cellule présentatrice d'antigène
Da:	Dalton
E :	enveloppe
ELISA :	Enzym Linked Immuno-Sorbent Assay
Fc:	fragment cristallisable
g :	glycoprotéine
GDD :	guanine désaminase
GDS :	groupement de défense sanitaire
h :	heure
HCV :	Hépatite C Virus
IA :	insémination artificielle

IBR :	rhinotrachéite infectieuse bovine
ICAM :	Intercellular Adhesion Molecule
IFN:	interféron
IL :	interleukine
INF :	interféron
IPB :	balanoposthite pustuleuse infectieuse
IPI :	Infecté Permanent Immunotolérant
IPV:	vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse
IRES:	Internal Ribosomal Entry Site
IRF:	Interferon regulatory factor
IV :	isolement viral
Kb :	kilobase
kDal :	kilodalton
ORF:	Open Reading Frame
LR :	latency related
LUR :	région longue unique codante
MDBK :	Madin-Darby Bovine Kidney
nCP :	non cytopathogène
NK :	naturel killer
nm :	nanometer
N pro :	proteinase amino-terminale
NS :	non structurale
NTP :	nucleotide triphosphate
PAMP :	pathogen-associated molecular patterns
PCR :	Polymerase Chain Reaction
Ph :	potentiel hydrogène
Poly A :	polyAdénine
PNN :	polynucléaire neutrophiles
PRR :	pattern recognition receptors
Rt- PCR :	Real-time PCR
RT PCR :	Reverse transcriptase Polymerase Chain Reaction
SN :	séroneutralisation
SNC :	système nerveux centrale

SNLC : SeroNegative Latent Carriers

TLR : Toll-like receptor

TNF : tumor necrosis factor

UTR : UnTranslated Region

Liste des tableaux

Tableau 1 : principales différences entre ces deux types de biotypes (d'après Roux, 2009).....	15
Tableau 2 : interprétation des tests virologiques (d'après Brock,1995).....	43
Tableau 3 : interprétation des tests sérologiques (Chase et al. 2003).....	47
Tableau 4 : prévalence de BHV1 à travers le monde (synthese personnelle).....	79
Tableau 5 : Répartition des vaches prélevées par exploitation et par commune.....	111
Tableau 6 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'avortement chez les vaches étudiées.....	119
Tableau 7 : taux de séroprévalence vis-à-vis des principales causes virales d'avortement étudiées.....	121
Tableau 8 : Séroprévalence des coïnfections et mono infections par les 3 agents viraux étudiés.....	123
Tableau 9 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition aux virus BHV1-BHV4-BVDV.....	126,127,128
Tableau 10 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une coïnfection double ou triple.....	130,131,132
Tableau 11 : Caractéristiques des fermes.....	133
Tableau 12 : Séroprévalence du BHV1 en fonction du statut des fermes.....	134
Tableau 13 : Séroprévalence vis-à-vis du BHV1 chez les animaux par type de ferme.....	134
Tableau 14 : Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation avec comme facteur d'exposition la séropositivité au BHV1.....	135
Tableau 15 : Étude cas-témoin au niveau individuel avec comme facteur d'exposition la séropositivité au BHV1.....	136
Tableau 16 : Séroprévalence du BVDV en fonction du statut des fermes.....	136
Tableau 17 : Séroprévalence des animaux vis-à-vis du BVDV par type de ferme.....	137
Tableau 18 : Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation avec comme facteur d'exposition le BVDV.....	137
Tableau 19 : Cas-témoin au niveau individuel avec comme facteur d'exposition le BVDV ..	138
Tableau 20 : Séropositivité vis-à-vis du BHV4 en fonction du statut des fermes.....	138
Tableau 21 : Séroprévalence des animaux vis-à-vis du BHV4 par type de ferme.....	139
Tableau 22 : Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation avec comme facteur d'exposition le BHV4.....	139

Tableau 23 : Étude cas-témoin au niveau individuel avec comme facteur d'exposition le BHV4.....	140
Tableau 24 : association entre la séropositivité au BHV1 et l'avortement chez la vache.....	141
Tableau 25 : association entre la séropositivité au BVDV et l'avortement chez la vache...	142
Tableau 26 : Association entre la séropositivité vis-à-vis du BHV4 et l'avortement de la vache.....	144
Tableau 27 : association entre les coïnfections et l'avortement chez les vaches.....	145

Liste des figures

Figure 1 : Phylogénèse et classification des <i>Pestivirus</i> (56 isolats, 5'NT, Npro, E2) (Liu et al., 2009).....	6
Figure 2 : Organisation structurale d'un pestivirus (D'après Sellal, 2004).....	7
Figure 3 : Composition du génome des Pestivirus d'après Schweizer et Peterhans 2014.....	8
Figure 4 : Représentation schématique simplifiée du cycle de multiplication du BVDV (d'après Dehan ,2001).....	12
Figure 5 : Réactivité d'anticorps monoclonaux anti-pestivirus contre différentes souches de Pestivirus (Cay et al. 1989).....	17
Figure 6 : production de l'INF par les cellules immunitaire lors d'infection par le BVDV (d'après Peterhans et Schweizer,2013).....	19
Figure 7 : L'interaction des virus du BVDV avec la cellule hôte d'après peterhans et al 2006.....	20
Figure 8 : les conséquences de l'infection par le BVDV durant la gestation (Schweizer et Peterhans 2014).....	27
Figure 9 : conséquences immunitaires de l'infection pendant la gestation (Grooms, 2009).....	30
Figure 10 ; Bilan des troubles observés (Grooms, 2009).....	31
Figure 11 : pathogénie de la maladie des muqueuses (Brownlie, 1990).....	32
Figure 12 : Schématisation de l'ELISA de capture (Schrijver et Kramps,1998).....	39
Figure 13 : Schématisation de l'ELISA indirect (Schrijver et Kramps,1998).....	45
Figure 14 : Schématisation de l'ELISA de compétition (Schrijver et Kramps,1998).....	45
Figure 15 : Structure du virus BHV1 (Thiry et al., 2006).....	54
Figure 16 : organisation génomique de BHV1 (Thiry et al., 2006).....	55
Figure 17 : genes intervenant dans le cycle répliatif des herpesvirus d'après (Bandel, 2007).58	
Figure 18 : cycle lytique de herpesvirus d'après Flint et al.,2000.....	60

Figure 19: cycle latente de herpesvirus d'après Flint et al.,2000.....	61
Figure 20 : description d'une primo-infection par BHV1 jusqu'à l'établissement de l'état latent (thiry et al.,1999).....	63
Figure 21 : Conséquences de la réactivation du BHV1 (Thiry et al.,1999).....	67
Figure 22 : Organisation de la réponse immunitaire face à une infection par BHV1 (Babiuk et al., 1996).....	67
Figure 23 : Réponse immunitaire de l'organisme face à une infection par le BHV1 (Denis et al., 1994).....	68
Figure 24 : Cinétique de production d'anticorps en cas d'infection par le BHV1 et de réactivation. (Guy et Potgieter., 1985).....	72
Figure 25 : Structure du virion des herpesvirus (Racaniello et al., 2013).....	92
Figure 26 : Devenir des cellules infectées par les gammaherpèsvirus (Ackermann, 2006).....	93
Figure 27 : Pathogénie de l'infection par le BHV4, (Chevanne, 2014).....	95
Figure 28 : Carte représentative de la wilaya de Sétif (Mouffok, 2007).....	106
Figure 29 : Carte des reliefs de la wilaya de Sétif (Mouffok, 2007).....	107
Figure 30 : les régions échantillonnées de la wilaya de Sétif.....	108
Figure 31 : schéma représente le kit ELISA trivalent de (BHV1, BHV4 et BVDV).....	113
Figure 32 : Variation de la prévalence d'avortement en fonction de la commune (A), la taille du troupeau (B), le mode de reproduction (C), la présence ou l'absence de petits ruminants dans la ferme (D) et l'isolement ou non des animaux nouvellement acquis (E).....	120
Figure 33 : Variation de la prévalence d'avortement en fonction de la pratique de pâturage commun des troupeaux (A) et la source de la vache (B).....	121
Figure 34 : Fréquence des coïnfections et mono-infections par les 3 agents viraux.....	122

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

L'avortement chez les bovins est généralement défini comme une perte du fœtus entre environ 42 et 260 jours. Les gestations interrompues avant 42 jours sont généralement appelées mortalités embryonnaires, alors qu'un veau qui est mort entre 260 jours et à terme est considéré comme un veau mort-né (Bicknell et al., 1994., Yildirim et al., 2011).

Les avortements peuvent avoir des causes variées : traumatiques, toxiques, endocriniennes et infectieuses.

En Algérie, l'analyse systématique, imposée et financée par l'état, est principalement celle de la brucellose. En outre, malgré, les pertes directes et indirectes occasionnées par l'avortement chez les bovins, très peu d'études ont été réalisées à l'échelle nationale qui permet de mettre en évidence l'origine de l'avortement.

De nombreuses études réalisées en dehors du continent africain ont montré que la BVD/MD et l'IBR sont deux des plus communes causes virales d'avortement chez les bovins (Smith., 1990), avec des taux d'avortement pouvant atteindre 25 à 60 % dans un troupeau (Youngquist et al., 2007). Le rôle du BHV4 dans les avortements bovins est un sujet d'étude d'actualité bien qu'il ne soit pas bien documenté (Morán et al., 2015).

Le syndrome Diarrhée Virale Bovine – Maladie des Muqueuses, également connu sous le nom de BVD/MD (Bovine Viral Diarrhea / Mucosal Disease), correspond à un ensemble complexe de manifestations subcliniques à cliniques aiguës, dues à des pestivirus (Groom et al., 2009). L'importance de cette pathologie tient d'abord à sa très large répartition mondiale, sa forte contagiosité chez les bovins ainsi qu'à son impact économique considérable notamment du aux infections prénatales (Bennett et Ijpelaar, 2005). Cette maladie atteint principalement les bovins, cependant, elle a été décrite chez de nombreuses autres espèces animales domestiques et sauvages.

Les manifestations cliniques de l'infection sont variées et dépendent notamment de l'état physiologique de l'animal lors de l'infection. L'infection postnatale entraîne le plus souvent une forme bénigne de la maladie, avec quelques symptômes digestifs transitoires et une immunodépression temporaire pouvant favoriser le développement de diarrhées et d'infections respiratoires, surtout chez les jeunes (Brock, 2004). En revanche, une infection transplacentaire

pourra provoquer des avortements, des malformations congénitales ou la naissance de veaux à virémie persistante et immunotolérants. Ces veaux sont la première source du virus au sein des élevages car ils sont excréteurs permanents (Brock, 2004). De plus, ces veaux Infectés Permanent Immunotolérants (IPI) peuvent contracter la maladie des muqueuses, pouvant être souvent mortelle.

L'Herpèsvirus bovin 1 (BHV1) a attiré l'attention mondiale depuis qu'il a été décrit comme une cause de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) chez les bovins laitiers en Californie, en 1953 (Yates, 1982). Après son émergence apparente aux Etats-Unis, l'IBR a été diagnostiquée dans le monde entier (Straub, 1975). Au début des années 1950, l'infection par le BHV1 s'est traduite par une vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse (IPV) chez les vaches et une balanoposthite pustuleuse infectieuse (IPB) chez les taureaux. Le virus est maintenant reconnu pour provoquer une série d'autres signes cliniques chez les bovins, y compris l'avortement, la stérilité, la conjonctivite, l'encéphalite, la mammite, l'entérite et la dermatite (Straub, 2001). Cependant, les foyers cliniques sont rares.

L'Herpèsvirus bovin 4 (BHV4) est un virus de découverte récente et de répartition mondiale. Il a été principalement détecté chez les bovins, mais a également été identifié chez d'autres espèces, y compris les non-ruminants, domestiques et sauvages (Egyed et al., 1997 ; Dewals et al., 2006).

La connaissance des caractéristiques du BHV4 et de sa pathogénie dans l'organisme animal, plus particulièrement bovin, reste incomplète, tout comme sa réelle prévalence et son impact économique. Sur le plan clinique, jusqu'à l'heure actuelle, le BHV4 n'est pas reconnu comme agent causal d'une entité spécifique de la maladie et a été isolé dans une variété de cas cliniques et sur des animaux apparemment sains (Donofrio et al., 2000 ; Bilge-Dagalp et al., 2012). Dans la plupart du temps, il a été associé à des infections de l'appareil génital chez les bovins, en particulier pendant la période postpartum (Chastant-Maillard, 2015). Son rôle en tant que pathogène secondaire, en association avec d'autres agents est de plus en plus documenté (Morán et al., 2015).

Cette thèse comporte deux grandes parties :

Dans une première partie, nous présentons l'état actuel des connaissances concernant le BHV1, le BHV4 et le BVDV en s'attardant sur leur étude virologique, immunologique, et pathogénique. Nous développerons ensuite les caractéristiques cliniques et épidémiologiques ainsi que les outils diagnostiques et les différentes méthodes de lutte qui existent actuellement.

Dans une deuxième partie nous présenterons les résultats :

- i) d'une enquête épidémiologique sur les avortements,
- ii) d'une étude sur la séroprévalence des infections et coïnfections par le BHV1, le BHV4 et le BVDV dans la région étudiée.
- iii) de l'étude des facteurs de risque associés à la séroprévalence des 3 agents viraux et aux coïnfections existantes.
- iv) de l'étude épidémiologique de type cas témoin pour vérifier un lien causal entre les infections par les 3 agents viraux et la présence d'avortement dans les exploitations étudiées.
- v) de l'étude épidémiologique de type cas-témoin pour étudier l'association entre l'exposition aux infections et coïnfections par les 3 agents viraux sélectionnés et l'avortement chez les vaches étudiées.

PARIE BIBLIOGRAPHIQUE

Etude bibliographique de la diarrhée virale bovine- maladie des muqueuses (BVD/MD)

I. Historique

La connaissance du syndrome BVD/MD a demandé de nombreuses décennies : en 1946, Olafson et ses collaborateurs ont décrit pour la première fois dans le cadre d'une maladie épidémique touchant les bovins adultes et provoquant une gastro-entérite contagieuse révélée par une diarrhée aiguë bénigne assimilée à une « grippe intestinale » (Olafson et al., 1946), ils la décrivent de diarrhée virale bovine. Une année plus tard en 1947, ils reproduisent expérimentalement la maladie et mettent en évidence le virus (Olafson et al., 1947).

En 1953, Ramsey et ses collaborateurs ont de nouveau isolé le virus, cette fois-ci dans le cadre d'une maladie sporadique extrêmement sévère touchant les jeunes bovins, létale dans 100 % des cas, et provoquant l'apparition d'ulcères sur tous les épithéliums pavimenteux malpighiens (Ramsey et al., 1953). Ils la décrivent ainsi Maladie des Muqueuses.

Ce n'est qu'en 1961 et pour la première fois, Gillespie et ses collaborateurs démontrèrent une parenté antigénique entre les virus responsables de ces deux entités cliniques (Gillespie et al., 1961). En 1963, les deux entités ont été regroupées au sein du « complexe Diarrhée Virale Bovine / Maladie des Muqueuses », ou complexe BVD / MD (Pritchard, 1963).

En 1973, la relation pathogénique entre les deux affections a été introduite par Liess (Liess et al., 1974).

En 1984-1985, Brownlie et Bolin introduisent la notion d'animal infecté permanent (IPI) et reproduisent expérimentalement la maladie des muqueuses (Brownlie, 1984 ; Bolin, 1985 ; Boulanger, 1990).

Entre 1985 et 1987, Renard et ses collaborateurs ont caractérisé antigéniquement le virus grâce à l'obtention d'anticorps monoclonaux et au niveau moléculaire du génome viral (Renard et al., 1988).

II. Taxonomie

Les Pestivirus appartiennent à la famille des Flaviviridae, cette dernière comprend un grand nombre de virus qui infectent les humains et les animaux (Collett et al., 1988 ; John et Neill, 2013). Classés auparavant dans la famille des Togaviridae, les Pestivirus s'en distinguent par

l'absence d'ARN subgénomique et d'une queue polyadénylée à leur extrémité 3', ainsi que par leur organisation génomique (Thibault et Crevat, 1993). Cette famille comprend trois genres flavivirus, pestivirus et hépacivirus.

Le genre flavivirus regroupe entre autres les virus de la Fièvre Jaune, de la Dengue, de l'Encéphalite Japonaise et du West Nile.

Le genre hépacivirus regroupe plusieurs virus dont le virus de l'hépatite C.

Enfin, le genre pestivirus regroupe trois virus qui sont des pathogènes majeurs des animaux : le BVDV, le BDV et le CSFV (Chappuis, 1999 ; Becher et Thiel, 2011 ; king et al., 2012).

Le BVDV est le virus responsable du complexe « diarrhée virale bovine / maladie des muqueuses », appelé Bovine Viral Diarrhea Virus, le BVDV a été divisé en deux génotypes soit le génotype 1 incluant les souches classiques de BVDV et le génotype 2 regroupant les souches émergentes dans la dernière épidémie aux USA et au Canada (Ridpath et al., 1994; Harpin et al., 1999 ; Giangaspero et Harasawa, 2008).

-Le BDV est le virus de la Border Disease.

-Le CSFV est le virus de la Peste Porcine Classique ou Classical Swine Fever.

-Une dernière espèce de pestivirus (pestivirus de la girafe). Elle a été mise en évidence chez des girafes en 1969 (Liu et al., 2009 ; king et al., 2012).

Initialement, la classification des pestivirus reposait sur l'espèce chez laquelle le virus était isolé. Ainsi, les hôtes reconnus du CSFV sont les suidés, ceux du BVDV sont les bovins et ceux du BDV sont les caprins et ovins. La capacité des pestivirus à franchir la barrière d'espèce et les résultats des analyses phylogénétiques ont par la suite permis de moduler cette classification. En 2009, Liu et al. (2009) ont proposé une classification phylogénétique plus précise des pestivirus sur base d'analyses comparatives des séquences codant 5'UTR, NPro et E2 (Figure 1) qui décrit 56 isolats viraux. En plus des groupes précités dans la figure 1, il existerait trois groupes de pestivirus non classifiés :

- Le 1^{er} groupe comprend des pestivirus isolés de bovins ou de sérums bovins utilisés pour les cultures cellulaires : D32/00_Hobi Brazil (Schirmer et al., 2004), CH_Kaho/cont South America (Stalder et al., 2005), et TH/04_Khonkaen Thailand (BVDV-3) (Ståhl et al., 2007).

Ces pestivirus sont génétiquement proches du BVDV1 et BVDV2. C'est pour cela qu'il est appelé BVDV-3.

- Le 2^{ème} groupe comprend des pestivirus isolés d'antilopes aux Etats-Unis (Antelope) (Vilcek et al., 2005), et de porcs en Australie (Bungowannah) (Kirkland et al., 2007).
- Le 3^{ème} groupe comprend des souches Tunisiennes isolées sur des ovins (TSV), qui ne rentrent pas dans la sous espèce du BDV. Ces pestivirus sont en effet proches génétiquement du CSFV (Thabti et al., 2005).

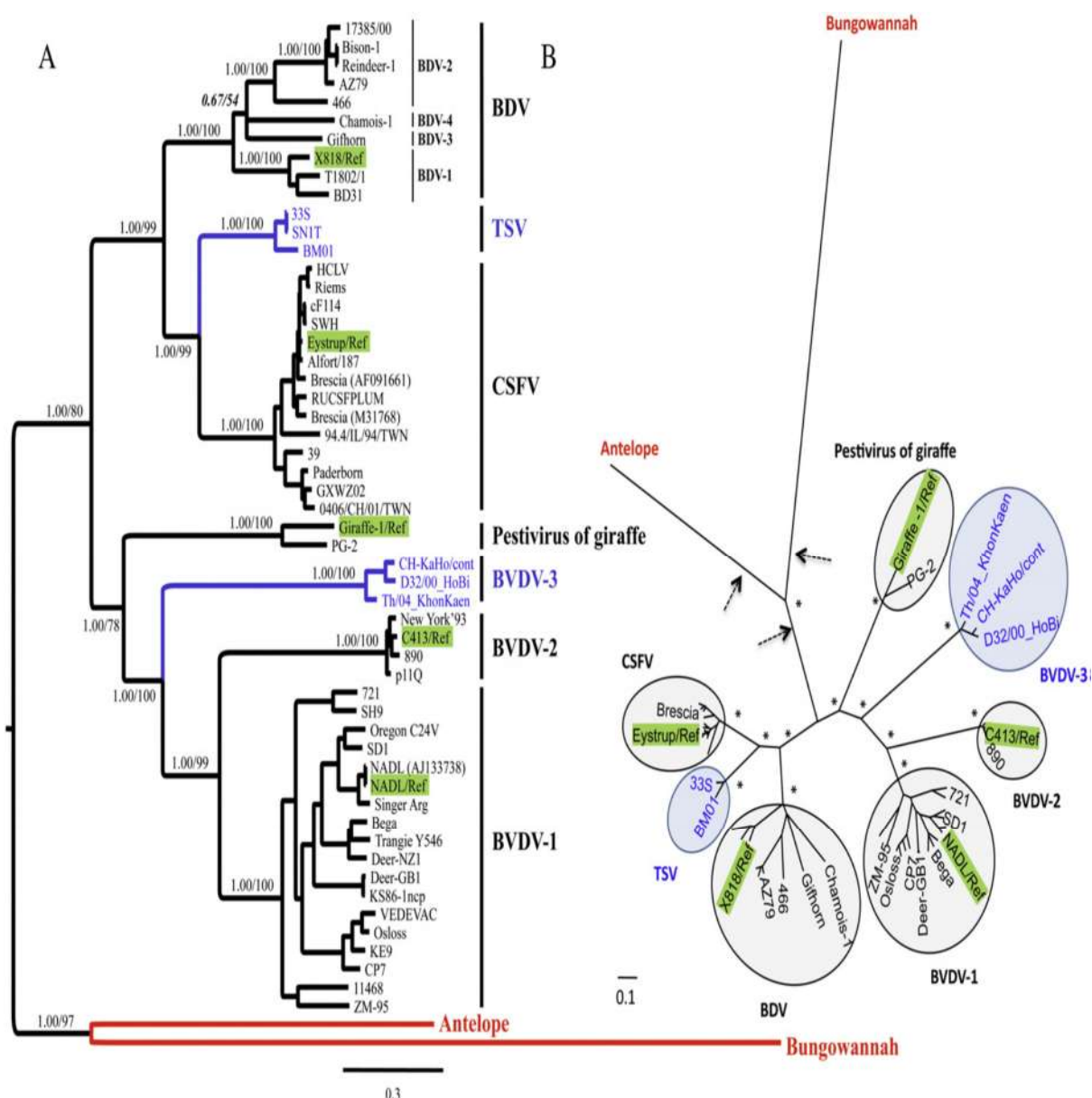


Figure 1 : Phylogénèse et classification des Pestivirus (56 isolats, 5'NT, Npro, E2) (Liu et al., 2009).

III. Organisation générale

1. Morphologie

Les flavivirus ont une taille comprise entre 40 et 60 nm. Ils sont sphériques, enveloppés et possèdent une nucléocapside icosaédrique, symétriques (Gardiner et al., 1972 ; Moennig et Plagemann, 1992 ; Goyal et Ridpath, 2005). La capsid est composée de la protéine C, contient le génome et entourée d'une bicouche lipidique (figure 2) (Moennig et Plagemann, 1992).

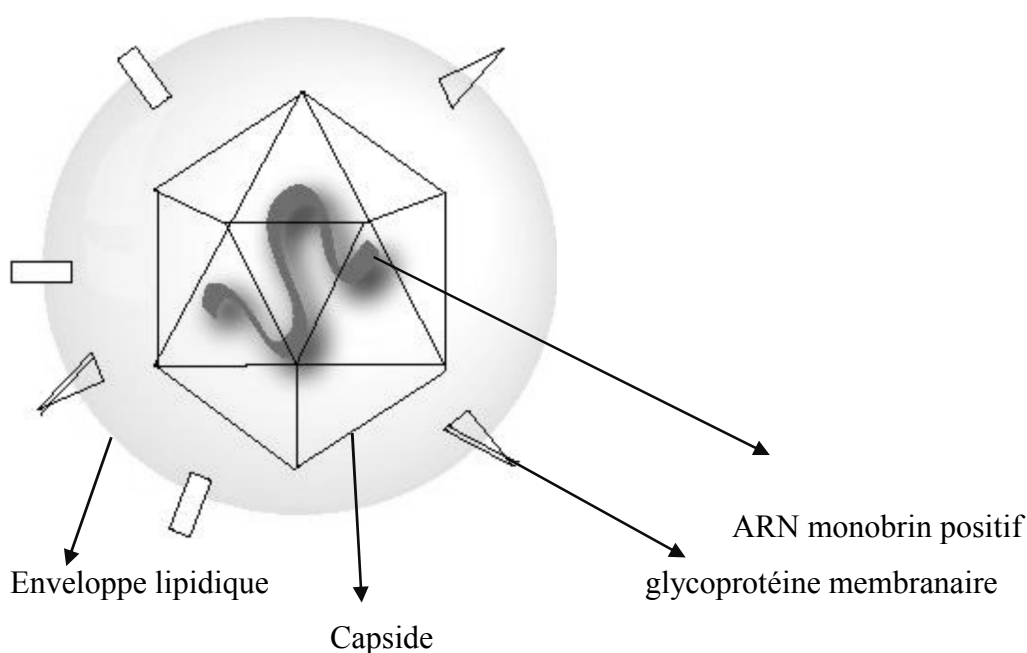


Figure 2 : Organisation structurale d'un pestivirus (d'après Sellal, 2004).

2. Organisation du Génome

Le génome est composé d'un unique fragment d'ARN monocaténaire, de polarité positive, d'environ 12 à 13 kb de long (Vilcek et Nettleton, 2006). Il possède une coiffe en 5' mais pas de poly A en 3' (John et Neill, 2013), il est composé d'un seul long cadre de lecture ouvert (open reading frame ou ORF) encadré par des régions 5' UTR et 3' UTR non transcrites (ou UTR pour UnTranslated Region) et se terminant par une queue poly C, ce ORF codent pour une polyprotéine de près de 4000 acides aminés (Jeffrey et Wells, 1989 ; Vantsis et al., 1990). Du côté 5' UTR, l'ORF code quatre protéines structurales, obtenues à partir d'une polyprotéine clivée en plusieurs protéines virales. La partie restante de l'ORF, du côté 3'-UTR, code les

protéines non structurales. le reste de l'ORF (75% du génome complet) représenterait des régions non codantes (Figure 3) (Nettleton et Entrican, 1995, Vilcek et al., 1997).

Les régions non codantes UTR jouent un rôle crucial dans le cycle viral des Pestivirus en se repliant pour former des structures secondaires et interagir ensuite avec des protéines virales et cellulaires pour réguler la réplication de l'ARN, la transcription ainsi que la traduction de l'ORF (Pestova et Hellen, 1999 ; Moes et Wirth, 2007). Le 5' UTR se replie pour former des structures secondaires nommée IRES (Internal Ribosomal Entry Site), reconnues par des protéines cellulaires traductionnelles qui orientent le ribosome pour se lier au bon codon AUG de l'ORF et d'initier la traduction des protéines (Yu et al., 2000 ; Isken et al., 2004). Il a été révélé également que d'importants signaux qui seraient impliqués lors de la réplication de l'ARN viral sont situés dans la région 3'UTR du BVDV (Deng et Brock, 1993 ; Isken et al., 2004).

La séquence 5'UTR Nucléotidique est hautement conservée entre tous les membres du genre Pestivirus, ainsi étant utile pour la caractérisation d'espèces ou de génotypes (Giangaspero et Harasawa, 2004).

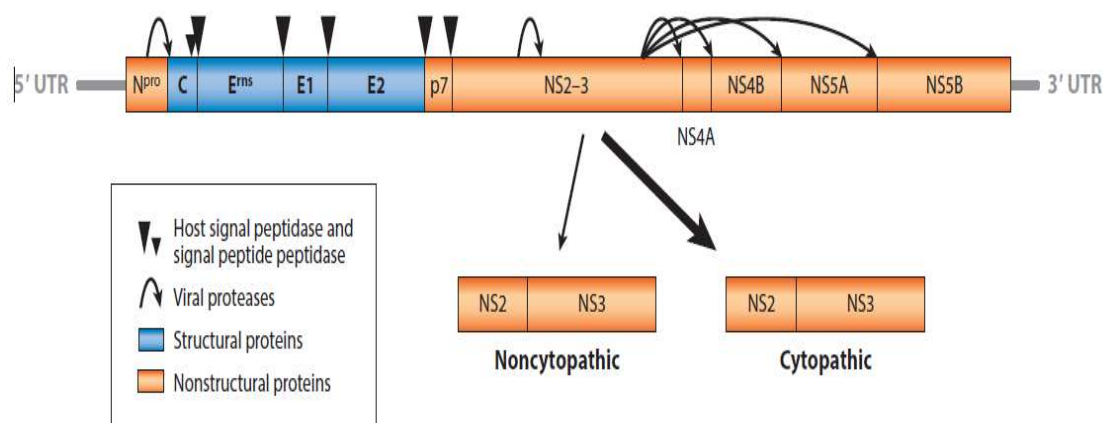


Figure 3 : Composition du génome des *Pestivirus* (d'après Schweizer et Peterhans, 2014).

3. Protéines virales

L'expression des gènes se traduit par la synthèse d'une polyprotéine. Celle-ci sera ensuite clivée par des enzymes virales et cellulaires permettant ainsi la production des protéines virales matures (figure 3) (Collett et al., 1988 ; Rümenapf et Thiel, 2008). Cette polyprotéine est codée

de l'ordre de NH₂-Npro-capside-Erns-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4a-NS4b-NS5a-NS5b-COOH (Collett et al., 1988).

La première protéine de la phase de lecture est la protéine Npro (ou p20). C'est une autoprotéase, qui consiste à cliver le premier site entre Npro et la protéine de la capsid C. Elle est spécifique du genre *Pestivirus* et ne se retrouve pas chez les autres flavivirus (Rumenapf et Thiel, 2008). A l'exception de Npro, la première région codante de l'ORF code pour les protéines structurales, ou les protéines qui font partie intégrante de la particule virale. Il s'agit notamment de la capsid et les glycoprotéines d'enveloppe Erns, E1 et E2. Les protéines E1 et E2 sont insérées dans la membrane par l'intermédiaire de tronçons de résidus d'acides aminés hydrophobes. La protéine Erns n'est pas insérée directement dans la membrane, mais plutôt elle a un domaine C-terminal unique qui interagit avec la membrane extérieure par une fixation faible, où elle peut être sécrétée dans la matrice extracellulaire (Fetzer et al., 2005).

3.1. Caractéristique et fonction des protéines structurales

La protéine C est le principal constituant de la capsid, qui participe à la protection du génome viral (Rumenapf et al., 1993 ; Murray et al., 2008). La protéine de capsid ne se replie pas en une structure complexe plus élevée, mais apparaît plutôt comme une structure simple en interagissant avec l'ARN génomique par de résidus des acides aminés chargés (Murray et al., 2008).

Les protéines virales structurales de l'enveloppe (E0 ou Erns, E1 et E2) qui constituent des cibles de choix pour les anticorps protecteurs contre le virus, en particulier E0 et E2. La protéine Erns est une protéine homodimère fortement glycosylée, il est associée à la fois à la particule virale et sécrétée sous forme soluble par les cellules infectées (Weiland et al., 1999 ; Rumenapf et al., 2003). De ce fait, elle est considérée comme indicateur de l'infection virale (Schweizer et Peterhans., 2013). Elle induit aussi la production des anticorps neutralisants (Weiland et al., 1992), cette protéine possède aussi une activité RNase, qui est active dans la dégradation de l'ARN simple brin et double-brin (Windisch et al., 1996 ; Hausmann et al., 2004), Cette fonction peut limiter la réponse immunitaire innée de l'hôte contre l'ARN double brin (Matzener et al., 2009).

La glycoprotéine E2 est transmembranaire. Elle est présente sous forme des homodimères (E2-E2) ou des hétérodimères (E2-E1) (Lazar et al., 2003). Cette glycoprotéine est à l'origine de la variabilité antigénique des pestivirus. Elle est impliquée dans l'attachement et la pénétration dans les cellules de l'hôte (Liang et al., 2003). La glycoprotéine E2 joue un rôle primordial dans le phénomène d'inhibition de la surinfection. En effet, l'incubation des cellules avec une glycoprotéine E2 recombinante avant ou pendant une infection par une souche cytopathique de BVD inhibe la pénétration du virus (Lee et al., 2005). Finalement, E2 est une glycoprotéine immunodominante qui induit une forte réponse en anticorps neutralisants lors d'infection ou de vaccination (Deregt, 1998 ; Plante et al., 2005).

3.2. Caractéristiques et fonction des protéines non structurales

Les deux tiers du génome viral (dans la partie 3') codent pour huit protéines dites non structurales : protéines Npro, P7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B.

La protéine Npro en plus de son action protéasique qui lui permet de se cliver de la polyprotéine, il a été montré *in vivo* que cette protéine est capable de bloquer la production d'interféron par l'orientation à la dégradation protéosomale de l'IRF-3, ce dernier est un important inducteur de la production d'interféron dans les cellules infectées par un virus (Chen et al., 2007 ; Szymanski et al., 2009).

La protéine p7 semble avoir un rôle dans la maturation glycoprotéique et/ou dans la morphologie du virus (Elbers et al., 1996). Il a été démontré qu'elle est nécessaire à la production de virus infectieux, par la formation des canaux ioniques membranaires permettant le passage du virus d'une cellule à une autre, mais pas pour la réplication de l'ARN, (Griffin, 2004).

Les protéines NS2 et NS3 sont synthétisées immédiatement après la protéine p7. Ces protéines se trouvent principalement non clivées NS2/3 dans les cellules infectées par des virus non cytopathogène et principalement clivé comme NS2 et NS3 dans les cellules infectées par des virus cytopathogènes (figure 3) (Lackner et al., 2004). Ce clivage est réalisé par une activité protéasique qui a été découverte récemment sur la protéine NS2 (Guo et al., 2011). La protéine NS2 contient également deux peptides signaux internes qui sont nécessaires pour la translocation de la protéine dans le réticulum endoplasmique (Guo et al., 2011).

La protéine NS3 présente deux activités enzymatiques distinctes. Le N-terminale contient un domaine de serine protéase qui est responsable du clivage des sites 6, 7, 8, 9 et 10 permettant ainsi la production des protéines non structurales NS4a, NS4b, NS5a et NS5b (figure 3) (Tautz et al., 2000 ; Lee et al., 2005). L'extrémité C-terminale de la protéine NS3 contient un domaine d'hélicase en déroulant l'ARN pour permettre la réplication et la transcription d'avoir lieu (Warrener et al., 1995 ; Grassmann et al., 1999 ; Gu et al., 2000).

la protéine NS4a agit comme cofacteur pour la serine NS3 protéase et la protéine NS4b est associée avec NS4a et NS5a au complexe de réplication d'ARN (Weiskirche et al., 2009). En effet, Grassmann et ses collaborateurs ont montré que lors de mutations d'une de ces protéines, la réplication ne peut pas s'effectuer correctement (Grassmann et al., 2001).

Les protéines NS5a et NS5b sont codées à l'extrémité C-terminale de la polyprotéine de BVDV et peuvent être présente dans les cellules infectées sous forme non clivées NS5a-NS5b ou séparées (Li et al., 2001 ; Weiskirche et al., 2009). NS5b est une ARN polymérase dépendante. Elle contient tous les motifs fonctionnels caractéristiques de l'ARN polymérase virale (Zhong et al., 1998 ; lai et al., 1999).

IV. Cycle viral

Le cycle viral de BVDV comme tout virus à ARN positif est cytoplasmique. La réplication et la transcription sont dues à une polymérase virale. La traduction est assurée par la machinerie cellulaire, ce cycle passe par plusieurs étapes (figure 4).

-Attachement, pénétration et décapsidation

La fixation de la particule virale à la surface cellulaire se produit probablement en deux étapes : d'abord, la particule virale se lie par la glycoprotéine d'enveloppe Erns d'une manière non spécifique à la glycosaminoglycane de surface cellulaire suivie de la liaison spécifique de E2 à son récepteur CD46 membranaire (récepteur régulateur de complément) (Maurer et al., 2004 ; Krey et al., 2006). Après l'attachement, le virus pénètre dans une cellule par endocytose via les vésicules à clathrine (type de vésicules d'endocytose) où l'abaissement du pH favorise la fusion des deux membranes et la pénétration de l'ARN dans le cytosol (Lecot et al., 2005 ; Krey et al., 2005).

-Traduction du génome viral et réplication

Les virus à ARN de polarité positive ont un génome qui possède les signaux requis pour être traduit directement par les ribosomes de la cellule hôte et la fixation de ribosomes à l'IRES situé à l'extrémité 5'UTR initie la traduction de l'ARN indépendant de coiffe 5'. La polyprotéine ainsi produite est ensuite clivée par des protéases cellulaires et virales en protéines structurales et non structurales. La réplication du génome est assurée par une polymérase virale qui recopie l'ARN génomique (+) en ARN anti-génomique (-) et ensuite recopie cet ARN anti-génomique en ARN génomique. Cet ARN sera ensuite encapsidé dans les nouveaux virions (figure 4) (Hamers et al., 2001).

-Assemblage et libération

Suite à l'encapsidation, la nucléocapside est entourée par une membrane phospholipidique décorée de glycoprotéines virales qui formera un virion immature. Les glycoprotéines virales subiront ensuite une maturation et une glycosylation au cours de leur transfert vers l'espace extracellulaire dans des vésicules d'exocytose. Les virus enveloppés sont libérés des cellules infectées par bourgeonnement (Dehan, 2001 ; Ridpath, 2010).

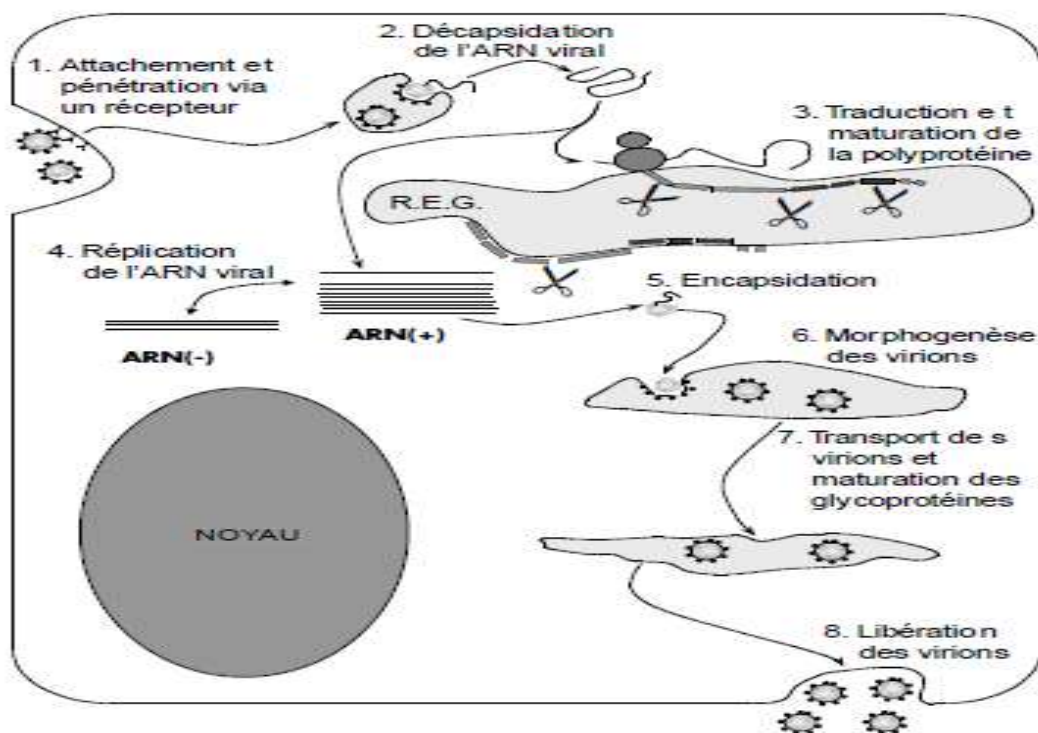


Figure 4 : Représentation schématique simplifiée du cycle de multiplication du BVDV (d'après Dehan, 2001).

V. Propriété physico-chimique

Le BVDV bien qu'enveloppé est relativement résistant puisqu'il persiste jusqu'à 10 j dans le fumier, 6 j à 4°C dans les tissus infectés (Vaast, 1986). Il est très sensible aux détergents usuels, cette sensibilité est due à la structure lipidique de leur enveloppe (Gardiner et al., 1972), à la dessiccation et aux ultra-violets (Chappuis, 1993).

Il est rapidement inactivé par la chaleur à une température supérieure à 56°C (Vaast, 1986). En revanche, il peut rester virulent après 6 jours à 4°C, dans les tissus infectés par exemple. Il n'est pas détruit par la congélation pendant plusieurs mois, le risque persiste donc lors d'insémination artificielle (Gardiner et Barlow, 1972), mais cela permet de conserver les virus, afin de différer les analyses de laboratoire.

Le pH « idéal » est de 7,4 mais le virus est relativement stable entre 5,7 et 9,3. Au-dessus de 9,3 la dégradation est rapide (Liess, 1990).

VI. Propriété biologique

1. Notion de biotype

Il existe deux biotypes du virus BVD qui correspondent à l'effet du virus sur des cultures cellulaires. Le virus provoque soit un effet cytopathogène qui induit l'apparition de lésions lytiques on parle alors de biotype cytopathogène (CP), soit aucun effet cytopathique n'est observé sur les cultures cellulaires infectées dans ce cas on parle de biotype non cytopathogène (nCP) (Ridpath et al., 1994 ; Nettleton et Entrican, 1995 ; Neill, 2013).

Sur le plan moléculaire, une souche de biotype nCP est caractérisée par la présence de la protéine NS2-3, d'un poids moléculaire de 125 kDa. En revanche, le biotype CP dérive du biotype nCP par clivage de la protéine NS2-3 en deux protéines de plus petite taille (NS2 et NS3) (Hamers et al., 2001). Le clivage de la protéine NS2-3 est lié à de multiples phénomènes génétiques qui comprennent la recombinaison et la duplication génomique (Nettleton et Entrican, 1995), l'insertion de séquences d'ARNm cellulaires (Ridpath et al., 1994 ; Quadros et al., 2006) et les mutations ponctuelles (Kummerer et al., 2000). Toutes ces modifications entraînent pour les souches CP une augmentation significative de l'expression de la protéine NS3 qui induit une destruction des cellules par mécanisme d'apoptose (Peterhans et al., 2010). Dans les cellules, la production de NS3 est contrôlée par des produits d'expression de gènes

cellulaires, notamment le gène *Jiv* (J domain protein interacting with viral protein) qui agit comme un cofacteur essentiel de clivage NS2-3 dans des cellules infectées par le biotype nCP. Mais, la quantité très limitée de *Jiv* cellulaire aboutit à une faible expression de NS3 pour les souches nCP (Rinck et al., 2001 ; Lackner et al., 2005 ; Neill, 2013).

Plusieurs caractéristiques permettent de différencier les biotypes cytopathogènes et non cytopathogènes.

Sur le plan épidémiologique, le biotype nCP est le biotype circulant, prédominant dans les populations de bétail, alors que le biotype CP n'est que sporadique (Nettleton et Entrican, 1995). La majorité biotypes isolés sont nCP sauf ceux isolés à partir des animaux atteints de la maladie des muqueuses (Hamers et al., 2001). Il est transmis de manière horizontale et verticale, contrairement au biotype CP qui est transmis uniquement de façon horizontale et ne passe pas la barrière placentaire (Grooms et al., 2009). Donc le biotype nCP est le seul responsable des infections transplacentaires : avortements, malformations congénitales et formation de veaux infectés permanents immunotolérants (IPI) (Brownlie et al., 1989 ; Grooms et al., 2009). En revanche, un veau qui héberge le biotype nCP surinfecté ultérieurement par le biotype CP, une maladie des muqueuses rapidement mortelle est provoquée. Cette surinfection peut être extérieure mais elle provient généralement d'une mutation de la souche nCP déjà présente chez l'animal IPI.

D'un point de vue clinique, le biotype nCP est le seul responsable de la manifestation clinique de la maladie BVD (Douart, 2000).

Au niveau du tropisme cellulaire, chez l'animal vivant, le biotype nCP possède un tropisme beaucoup plus large au sein de l'organisme à savoir les leucocytes, les organes lymphoïdes et l'arbre respiratoire. Alors que le biotype CP à un tropisme relativement plus étroit pour le tube digestif (Pastoret et al., 1997 ; Hamers et al. 2001).

Au niveau de la cinétique des anticorps lors d'inoculations expérimentales, pour le biotype nCP, il est classique avec apparition des anticorps au bout de quelques jours et atteint le plateau en 3 semaines. En revanche, pour le biotype CP, les titres en anticorps sont faibles et tardifs (Masanaue, 2008).

Le tableau 1 résume les principales différences entre ces deux types de biotypes (Roux, 2009).

Le tableau 1 : Principales différences entre ces deux types de biotypes (d'après Roux, 2009).

Biotype	nCP	CP
Transmission horizontale	+++	+
Transmission verticale	+++	-
Clinique	Signe très variable	Signes minimales
Réponse humorale (Anticorps neutralisants)	Apparition précoce (14j) Titre très élevés Persistance longue	Apparition tardive (25 j) Titre faible Persistance courte
Distribution tissulaire	large	Réduite
Virémie	Fréquente	Rare

2. Variabilité génomique

Le BVDV, comme les autres Pestivirus, et plus globalement comme les autres virus à ARN, se caractérise par une importante variabilité génétique considérable car ils sont soumis à de nombreuses mutations ponctuelles et des recombinaisons et ne possèdent pas de mécanismes de correction (Le Dréan et al., 2010). Cette diversité est nettement marquée pour les protéines structurales (C, Erns, E1, E2) alors qu'elle est très faible pour la protéine non structurale NS3 (Kummerer et al., 2000 ; Becher et al., 2003).

-Mutations et Recombinaisons

Une mutation apparaît à chaque cycle de réplication dans le génome d'un virion (Drake et Holland, 1999), ce qui peut conduire à plusieurs millions de mutations par jour au pic de l'infection (Figlerowicz et al., 2003). Ils sont dus majoritairement à des mutations de type erreur d'incorporation de base par l'ARN polymérase et l'absence d'exonucléase. Cette dernière est une enzyme de réparation des erreurs de la polymérase RNA-dépendante pendant la réplication et la transcription (Becher et al., 2003 ; Strong et al., 2010). La majorité de ces mutations concernent la partie du génome qui code pour la protéine E2. Ce qui permet au virus de s'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte.

En ce qui concerne les recombinaisons, il a été montré que le BVDV peut intégrer des morceaux d'ARN originaires d'autres virus ou de la cellule hôte, ce qui leur permet de changer le biotype (Donis et Dubovi, 1987 ; Le Dréan et al., 2010).

Cette variabilité est à l'origine de réassortiment de nouveau génotypes et sous génotypes. Actuellement, il existe au sein du BVDV deux génotypes (BVDV-1 et BVDV-2) (Ridpath et al., 1994). Ces deux génotypes sont très proches sur le plan génomique (Vilcek et al., 2004). Pour chaque génotype, seize sous-types pour le BVDV-1 (de **a** à **p**) et quatre génotypes pour BVDV2 (de **a** à **d**) ont été identifiés (Pelletier, 2007 ; Giansgaspero et al., 2008 ; Xue et al., 2010). Les génotypes **1** et **2** sont présents dans les mêmes proportions aux Etats-Unis et au Canada. En revanche, le génotype 1 est largement majoritaire en Europe (Cranwell et al., 2005). Les souches virales responsables des manifestations de type de syndrome hémorragique décrites en Amérique du Nord appartiendraient au génotype **2**, alors qu'en Europe les sources responsables des tableaux cliniques classiques appartiendraient au génotype **1** (Drew et al., 2002 ; Cranwell et al., 2005).

3. Variabilité antigénique

Il existe une forte parenté antigénique entre les Pestivirus. Darbyshire a été le premier à remarquer la proximité antigénique entre le virus de la peste porcine classique et le BVDV lors de réactions croisées sur des gels de diffusion (Darbyshire, 1960). Par la suite, Cay et al ont étudié les réactions croisées entre anticorps monoclonaux des différentes souches de pestivirus (Cay et al. 1989). Cette étude a montré que les anticorps monoclonaux anti HCV (hépatite C virus) réagissaient uniquement avec les souches de HCV. La moitié des anticorps monoclonaux anti BVDV réagissaient avec les souches BVDV et BDV. Enfin, l'autre moitié des anticorps monoclonaux anti BVDV et les anticorps monoclonaux anti BDV, réagissaient avec toutes les souches HCV, BVDV et BDV (Figure 5) (Cay et al., 1989). Il existe donc des réactions croisées entre les anticorps anti-BVDV et anti-BDV. Ces deux espèces de pestivirus semblent être proches sur le plan antigénique. Le HCV semble être éloigné antigéniquement des deux autres espèces. De nombreuses réactions croisées ont été démontrées par différents tests tels le test de neutralisation, le test de fixation du complément et l'immunofluorescence indirecte (Paton et al., 1995). De plus, les virus BVD, BDV et CSFV sont très proches et 67% de similarité ont été trouvées entre le BVDV et le CSFV (Donis, 1995), ce qui prouve que ces trois virus sont des

mutants de spectre d'hôtes (Douart, 2000). L'adaptation après transmission à différents hôtes ainsi que l'échappement à différents systèmes immunitaires augmentent la diversité de ces pestivirus (Simon et al., 1994).

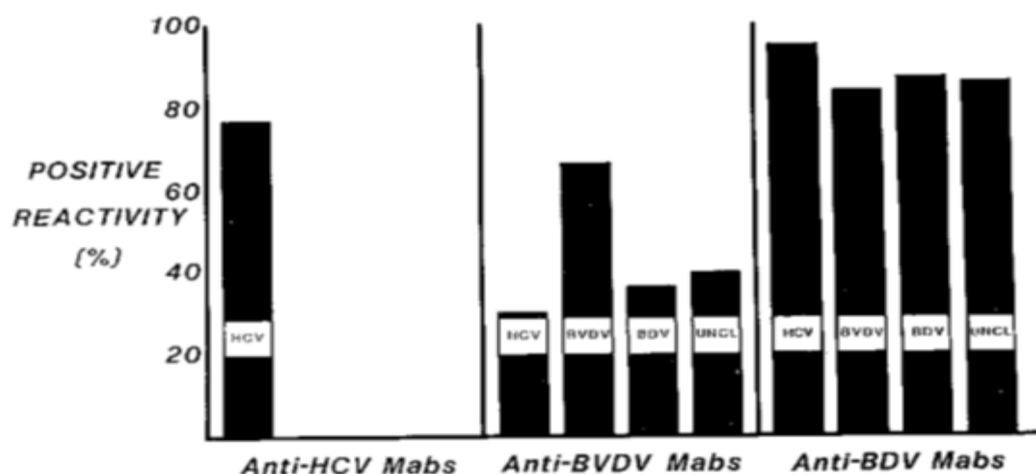


Figure 5 : Réactivité d'anticorps monoclonaux anti-pestivirus contre différentes souches de Pestivirus (Cay et al., 1989).

Il existe aussi une diversité antigénique entre les différents sous génotypes de BVDV-1. Bachofen et al ont montré que le sérum dirigé contre le BVDV-1k neutralise de manière très faible les autres sous génotypes, alors que les sérums dirigés contre les autres sous génotypes semblent être efficaces contre le BVDV-1k (Bachofen et al., 2008).

Les réactions croisées entre les différents sous génotypes de BVDV-1 sont plus importantes que les réactions croisées entre BVDV-1 et BVDV-2 (Ridpath et al., 2000). L'immunisation contre le BVDV-1 entraîne une protection croisée limitée contre le BVDV-2 (Ridpath et al., 2000). Cette protection croisée limitée a permis l'apparition d'épidémies à BVDV-2 en Amérique du Nord dans les années 1990 sur des cheptels vaccinés contre le BVDV-1 (Bachofen et al., 2008).

4. Transmission interspécifique

BVDV comme les autres Pestivirus a une spécificité d'hôte relativement faible. En effet ils peuvent passer facilement la barrière d'espèces, et l'infection par le BDV induit chez le bovin des symptômes comparables à la diarrhée virale bovine et inversement (Dean et Leyh, 1999 ; Vilcek et al., 1997). La transmission interspécifique est très fréquente, en plus des bovins, il

peut atteindre les porcins et les autres ongulés sauvages (cerfs, chevreuils, buffles, gazelle) (Lars, 1997), même l'isard (Frolich et al., 2005).

5. Pouvoir immunogène

5.1. Réponse immunitaire innée

Les virus et les autres micro-organismes produisent et contiennent des éléments qui sont communs à plusieurs agents pathogènes. Ces éléments sont appelés PAMP (pathogen-associated molecular patterns) ou motif moléculaire associé au pathogène. Ces PAMP sont reconnus par des récepteurs se trouvant sur les cellules du système immunitaire (cellules dendritiques et macrophage....), qui peuvent être cytosolique par exemple, MDA-5, RIG-I ou membranaire comme, Toll-like receptor, appelés PRR (pattern recognition receptors) ou récepteurs de reconnaissance des motifs (Janeway et Medzhitov, 2002 ; Schweizer et Peterhans, 2013). L'ARN double brin viral est un PAMP produit lors de la réplication de l'ARN, il se lie principalement au TLR (Weber et al., 2006). La liaison de l'ARN double brin au TLR déclenche une cascade de signaux qui en résulte la génération des interférons de type I (IFN- α / β) (figure 6), ces dernières n'exercent pas directement des effets antiviraux sur les cellules infectées, mais sont sécrétées et induisent un état antiviral dans les cellules voisines après liaison au récepteur de l'IFN de type I situé sur la membrane cellulaire (figure7) (Peterhans, 2014).

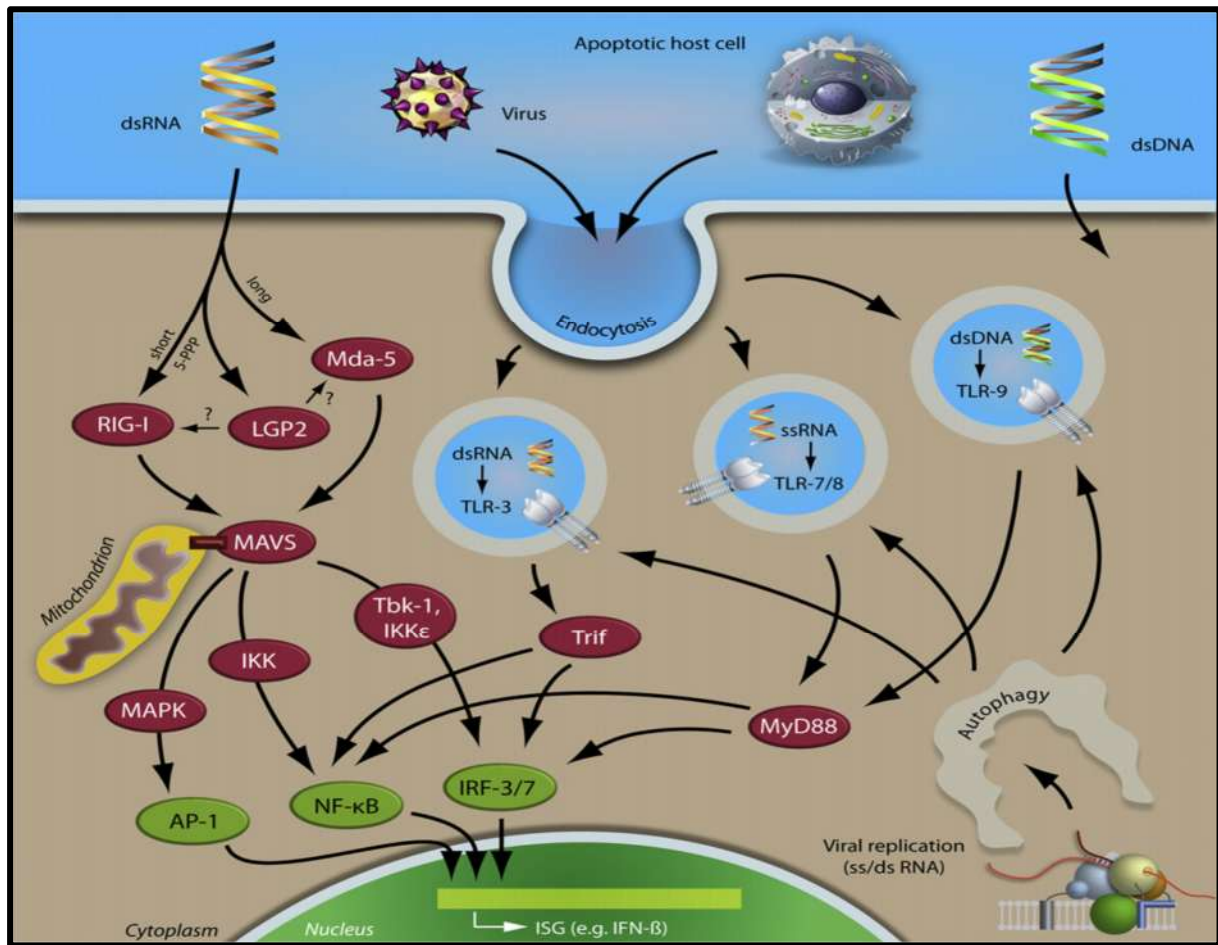


Figure 6 : production de l'INF par les cellules immunitaires lors de l'infection par le BVDV (d'après Peterhans et Schweizer, 2013).

Le BVDV est en grande partie résistant à l'activité de l'IFN sans bloquer l'établissement d'un état antiviral qui est protectrice contre les autres virus, comme le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) ou le virus de l'encéphalomyocardite (EMCV) (figure 7.C) (Schweizer et al., 2006). Cet effet antiviral dû à l'interféron de type I n'a été observé que sur les animaux infectés de façon transitoire quel que soit le biotype infectant.

Le fœtus infecté par le biotype CP conduit à la production de l'IFN qui empêche probablement la mise en place d'une infection persistante par ce virus (Charleston et al., 2001). En revanche, l'infection fœtale par le biotype nCP n'induit pas la production de l'IFN (Charleston et al., 2002 ; Baigent et al., 2002), ce qui contribue à la persistance virale et l'établissement de l'immunotolérance envers le BVDV chez le veau plus tard (Peterhans et al., 2010). En outre

Peek et al, ont constaté lors d'un traitement prolongé des animaux IPI par de fortes doses d'IFN humain recombinant n'a pas réduit la virémie (Peek et al., 2004).

L'absence d'induction de PRR par l'ARN double brin et de la production de l'IFN chez le fœtus infecté par le biotype nCP est due principalement à deux gènes qui sont spécifiques aux Pestivirus au sein de la famille des Flaviviridae, à savoir la N-terminal autoprotéase Npro et la glycoprotéine Erns structurelle. Npro stimule la dégradation du facteur de transcription IRF-3 par le protéasome, empêchant ainsi l'activation de la transcription du gène de l'IFN- β (figure 5.A) (LaRocca et al., 2005; Hilton et al., 2006; Bauhofer et al., 2007). Erns est une protéine structurelle virale qui active la RNase dégradant l'ARN pestiviral extracellulaire et endosomique, empêchant ainsi sa reconnaissance par les récepteurs Toll-like dans des cellules infectées et même les cellules non infectées (Schneider et al., 1993; Hausmann et al., 2004) (figure 5.B).

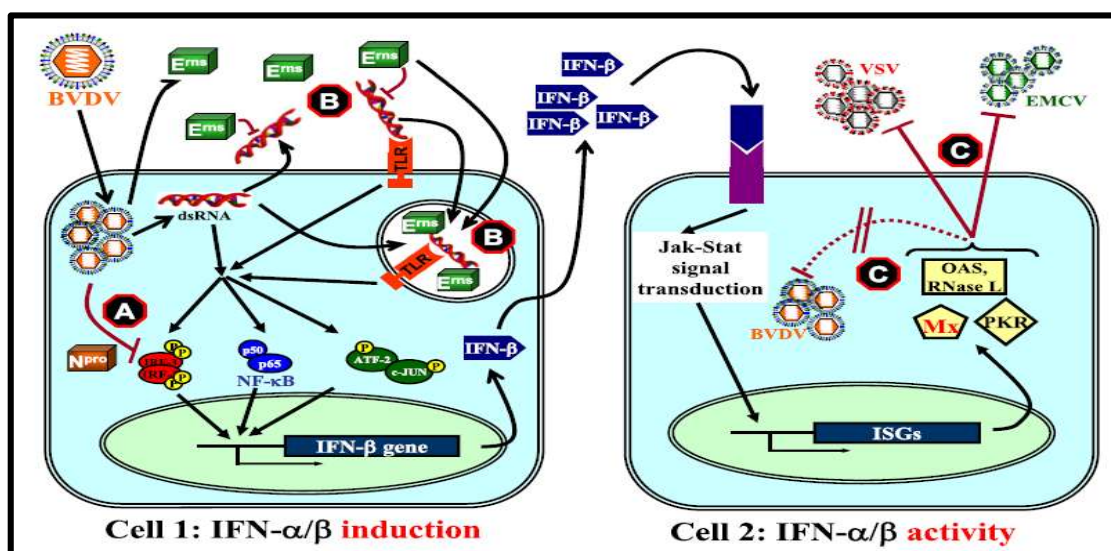


Figure 7 : L'interaction du virus du BVDV avec la cellule hôte d'après peterhans et al., 2006.

Le biotype CP produit plus d'ARN double brin que le nCP, ceci augmente le nombre de PAMP. L'hypothèse principale selon Peterhans est dans le cadre de l'infection du fœtus par le biotype CP, ces nombreux signaux dépassent les capacités de Npro et Erns à inhiber la synthèse des IFN, ce qui expliquerait que lors de la contamination par une souche nCP du fœtus, il n'y ait pas de sécrétion d'IFN (Peterhans et al., 2010).

5.2. Présentation de l'antigène du BVDV

Les cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques, les macrophages et les monocytes) sont essentielles pour l'induction et le contrôle des réponses immunitaires contre BVDV.

Les CPA sont activées d'abord par le PAMP, puis elles internalisent le virus pour qu'elles présentent les epitopes dominants par CMH de classe II aux cellules T auxiliaires, elles produisent aussi des cytokines telles que l'interleukine 12 (IL-12) et d'autres molécules stimulatrices telles que B7 pour l'activation complète des LT4 (Chase et al., 2004).

Les CPA infectées par BVDV ont réduit l'expression du récepteur Fc et C3, des récepteurs qui sont nécessaires pour l'opsonisation (Chase et al., 2004). En outre, l'infection des cellules mononucléaires par certaines souches virulentes du BVDV a baissé leur capacité à présenter l'antigène aux cellules T auxiliaires, par diminution de l'expression CMH II et de la molécule costimulatrice B7 (Glew et al., 2003). Cependant, les cellules dendritiques ne sont pas affectées dans leur capacité à présenter l'antigène à des cellules T auxiliaires ou de l'expression du marqueur de surface CMH II et B7 (Glew et al., 2003).

Les cellules dendritiques jouent un rôle important dans la réponse immunitaire primaire et dans la stimulation de la réponse immunitaire adaptative. Les cellules dendritiques après leur activation, produisent des cytokines qui font le lien entre la réponse immunitaire innée et adaptative. La réponse immunitaire cellulaire et humorale sont alors activées (Peterhans et al., 2010).

5.3. Réponse immunitaire adaptative

La réponse immunitaire adaptative contre le BVDV est à la fois humorale et cellulaire (Peterhans et al., 2010).

A. Réponse immunitaire à médiation cellulaire

Les infections par le BVDV ont un effet majeur sur les lymphocytes T circulants, thymiques et folliculaires. L'effet de l'infection du BVDV sur le nombre de lymphocytes T circulants est dépendant de la souche, il varie d'une légère lymphopénie (10-20%) à une lymphopénie sévère (50-60%) avec une souche nCP très virulente (Brodersen et Kelling, 1999). L'infection par certaines souches virulentes de biotype nCP provoque une déplétion des lymphocytes T dans le thymus, la rate, les follicules lymphoïdes et les amygdales (Brodersen et Kelling, 1999). Le rôle

des sous-populations de lymphocytes T dans la réponse à l'infection par le BVDV a été analysé par Howard et al., 1992, qui ont révélé que la déplétion des lymphocytes T CD4 a augmenté la durée de l'excrétion virale, tandis que la déplétion des lymphocytes T CD8 bovins n'ont eu aucun effet sur la durée de l'excrétion virale, ce qui démontre l'importance des lymphocytes T CD4 dans l'immunité vis-à-vis du BVDV.

Les réponses cellulaires spécifiques sont détectables 6 à 8 semaines après une infection par une souche nCP, alors qu'elles sont détectables 3 à 4 semaines après une infection par une souche CP (Brackenbury et al., 2003).

Au début de l'infection, les lymphocytes T CD4 + jouent un rôle central dans la coordination d'une réponse à médiation cellulaire et la régulation de la réponse immunitaire humorale. Ces réponses des CD4 + étaient dirigées principalement contre les protéines NS3 et E2 de BVDV (Collen et al., 2002) et à moindre degré contre la protéine de la capsid (C), la glycoprotéine Ems, la protéinase amino-terminale (Npro) et la protéine non structurale NS2-3 (Collen et al., 2002).

Le biotype CP induit préférentiellement une réponse Th1 et stimule l'immunité à médiation cellulaire, tandis que le biotype nCP a tendance à décaler la réponse immunitaire vers Th2, en abaissant de l'IFN-gamma. En effet, lors d'une infection aigue par le biotype nCP, cet abaissement d'INF- gamma pourrait inhiber la réponse à médiation cellulaire contre *Mycobacterium bovis* qui pourrait entraîner l'échec lors de l'identification à l'intradermoréaction des bovins atteints de tuberculose (Charleson et al., 2001). Les vaches infectées par le biotype nCP pendant la gestation produisent à la fois deux réponses TH1 et TH2 (Charleson et al., 2001).

Les lymphocytes T cytotoxiques (CTL) jouent un rôle très important dans la réponse immunitaire aux infections aigus par le BVDV (Howard et al., 1992). Les epitopes susceptibles des lymphocytes CD 8 sont la protéine C, Ems, E2 et NS2-3 (Chase et al., 2004).

B. Réponse immunitaire a médiation humorale

L'effet de l'infection par le BVDV sur le nombre de lymphocytes B circulants varie d'une diminution (Ellis et al., 1988), sans effet (Archambault et al., 2000), à une augmentation transitoire (Brodersen et al., 1999). Toutefois, certaines souches du BVDV très virulentes de

biotype nCP entraîne l'épuisement des lymphocytes B folliculaires et ceux des plaques de Peyer (Teichmann et al., 2000; Stoffregen et al., 2000). La protéine E2 est immunodominante dans les réactions de neutralisation et de liaisons aux récepteurs cellulaires, même si Erns contient aussi un épitope de neutralisation (Masounave, 2008).

Suite à une infection par un Pestivirus, différents anticorps sont synthétisés, les anticorps séroneutralisants sont les plus précoces. Ils apparaissent dans les deux premières semaines suivant l'infection et atteignent son plateau vers la dixième semaine. Par la suite, les anticorps fixant le complément sont présents 15 à 30 jours après l'inoculation et atteignent un plateau entre le 40^{ème} et le 80^{ème} jour pour persister au moins 3 mois. Plus tardivement, les anticorps précipitants apparaissent 30 à 40 jours après l'inoculation (Masounave, 2008). Les animaux deviennent alors séropositifs. Cette séropositivité peut persister pendant plusieurs années (Donis, 1995). Une fois la réaction immunitaire installée, les animaux résistent à de nouvelles infections par ce même virus.

Le BVDV entraîne une immunodéficience chez la plupart des animaux atteints (Al-Haddawi et al., 2007). Ceci pourrait être dû à de nombreux facteurs tels une baisse de la production de lymphocytes, une augmentation de la sécrétion de la prostaglandine E2 (Van Reeth et Adair, 2000), une diminution de l'activité microbicide, une diminution de la sécrétion d'immunoglobulines, de l'expression du complément et de la production de récepteurs Fc et de chémokines (Peterhans et al., 2003).

5.4. Réponse immunitaire chez le veau nouveau-né

La réponse immunitaire chez le veau est dictée par deux facteurs : protection par l'immunité colostrale (immunité passive) et le développement d'une immunité active. Cependant, la présence des anticorps maternels chez les jeunes interfère avec la réponse immunitaire active et les animaux ne seront plus protégés contre une infection quatre à cinq mois plus tard c'est – à-dire après la disparition des anticorps du sang des veaux (Ellis et al., 2001).

L'immunité colostrale est considérée comme efficace lorsque la qualité du colostrum est bonne. Les anticorps maternels persistent alors chez le veau jusqu'à l'âge de 6-8 mois voire 10 à 12 mois (Bolin et al., 1995). Toutefois chez les veaux IPI, les anticorps maternels sont plus rapidement éliminés (Schreiber et al., 1998 ; Thiry et al., 1999).

La demi-vie moyenne des anticorps anti-BVDV acquis passivement est d'environ 23 jours (Fulton et al., 2004). Une étude prédictive pour définir l'âge approprié pour éviter les interférences des anticorps maternels contre BVDV est estimé à 141 jours pour le BVDV de type 1 et 114 jours pour de BVDV de type 2, jusqu'à ce que les veaux deviennent séronégatifs (Munoz-Zanzi et al., 2002).

Une expérience intéressante sur l'effet de l'interférence des anticorps maternels a été réalisée. Des veaux séropositifs nourris de colostrum contenant des anticorps dirigés contre le BVDV ont été infectés à 2-5 semaines d'âge avec une souche BVDV très virulente, les veaux ont été alors protégés contre la maladie et ont développé des réponses cellulaires spécifiques mais n'ont pas développé d'anticorps neutralisants en présence d'anticorps maternels (Ridpath et al., 2003). Les veaux ont ensuite été infectés à 7-9 mois plus tard, ils ont été protégés alors contre la maladie et ont développé une mémoire immunitaire (Ridpath et al., 2003).

VII. Pathogenèse et expression clinique

L'infection par le BVDV chez les bovins induit des manifestations cliniques diverses dues au tropisme multiple du virus, ce qui résulte d'une maladie systémique. En plus, l'action immunodépressive du BVDV est à l'origine des infections secondaires par d'autres virus, bactéries et mycoplasmes (Al Haddawi et al., 2007).

La pathogenèse et les réponses cliniques de la maladie dépendent de nombreux facteurs liés au virus et à l'hôte.

- l'hôte : de son immunocompétence vis-à-vis du virus, de son âge et du stade de gestation au moment de l'infection.
- la souche virale en cause.

Dans cette partie nous allons aborder dans un premier temps l'infection hors gestation et la contamination chez le mâle puis l'infection pendant la gestation.

1. Infection hors gestation

1.1. Pathogenèse

Dans le cas d'une transmission horizontale, le virus se transmet facilement par contact et pénètre le plus souvent par voie oronasale, mais aussi par voie conjonctivale ou génitale. d'abord une phase de multiplication au niveau respiratoire et lymphoïde, suivie d'une virémie

durant laquelle le virus peut être pris en charge par les cellules mononuclées et envahir l'organisme sous forme lié, mais il peut également être présent sous forme libre (Chastant et al., 1999). La durée de cette phase est de quelques jours, puis l'agent infectieux se localise préférentiellement dans l'encéphale, le foie, la rate et les poumons (Chastant et al., 1999).

1.2. Expression clinique

A. Forme subclinique

Il s'agit de la forme la plus fréquente : 70 à 90 % des infections seraient subcliniques chez les animaux immunocompétents séronégatifs (Baker, 1995). Cette forme correspond à un syndrome fébrile modéré passant souvent inaperçu : légère hyperthermie, diminution de l'appétit, diarrhée modérée, leucopénie de courte durée, légère chute de la production laitière. Les animaux touchés vont guérir au bout de quelques jours (Schelcher et al., 1993). Cette forme est très souvent non détectée par les éleveurs d'où sa classification de subclinique (Grooms et al., 2009).

B. Troubles digestifs

Les troubles digestifs causés par le BVDV surviennent à n'importe quel âge, du nouveau-né à l'adulte (Fulton, 2008), le virus induit deux formes selon l'âge de l'animal.

a). Diarrhée virale bovine aiguë bénigne

La forme aiguë survient généralement chez les bovins de 6 à 24 mois d'âge (Grooms et al., 2009). Cette forme se manifeste par une fièvre, une anorexie, une dépression, une diarrhée avec éventuellement des ulcères buccaux et sur la langue (Deregt, 1995). En raison des effets immunosuppresseurs du virus, il est souvent associé à des infections concomitantes notamment *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Cryptosporidium* et le rotavirus (Al-Haddawi et al., 2007). Le virus endommage les épithéliums du tractus digestif en induisant des ulcères et des érosions dans l'ensemble du tractus digestif. Les plaques de Peyer intestinales peuvent être affectées à cause d'une forte affinité du virus pour les tissus lymphoïdes. Ce type d'infection apparaît sous forme d'épizootie et se caractérise par une forte morbidité et une très faible mortalité (Hessman et al., 2012).

b). Entérite diarrhéique néonatale

Le virus peut également être à l'origine de diarrhées chez le nouveau-né, touchant ponctuellement des veaux de moins de 15 jours. Dans la plupart des cas l'immunodépression provoquée par le BVDV favorisent l'action d'autres agents pathogènes, principalement des virus de type coronavirus ou rotavirus (Dufour, 1999).

C. Troubles de la reproduction

A l'échelle individuelle, Ils sont représentés par l'infertilité.

Chez le mâle, le virus est retrouvé dans la semence des individus infectés, dont la qualité est alors altérée. Il cause une diminution du volume récolté, une baisse de la motilité, une diminution de la concentration en spermatozoïdes et une augmentation de leur mortalité et de leurs anomalies. Ces conséquences ne sont pas systématiques. Il est donc possible de rencontrer un taureau infecté, sans pour qu'il y ait d'altération de la fertilité (Chastang et Maillard, 1999). Chez la femelle, l'infection hors gestation peut également provoquer de l'infertilité lorsqu'elle a lieu peu avant l'insémination. Le virus BVDV est en effet susceptible, en provoquant une inflammation des différentes parties de l'appareil génital femelle, d'entraîner des anomalies du fonctionnement ovarien (croissance folliculaire et ovulation anormales) et de perturber la fécondation (Chastang et Maillard, 1999 ; Schelcher, 2008).

A l'échelle du troupeau, il a été constaté en élevage laitier, une diminution du taux de réussite en première insémination artificielle (IA), une augmentation du nombre de vaches en retour de chaleurs décalé à cause d'une mortalité embryonnaire, une augmentation du nombre de vaches nécessitant plus de 3 IA. En élevage allaitant, une augmentation du nombre de saillies, un décalage dans la saison de la mise-bas et plus rarement une absence de saillie due au taureau (Schelcher, 2008).

D. Troubles respiratoires

Le BVDV ne serait pas un agent pathogène respiratoire direct, il entraîne peu de lésions pulmonaires lorsqu'il est seul. En revanche, il agit en synergie avec d'autres agents pathogènes responsables de pneumonies chez les bovins, comme les Pasteurelles ou BHV1 probablement à travers son effet immunodépresseur (Baker, 1987 ; Fulton et al., 2008).

E. Troubles hémorragiques

Il se traduit par des hémorragies multiples. Il est caractérisé par de l'épistaxis, une hématurie, une diarrhée hémorragique ou des bouses contenant des filets de sang, des pétéchies ou des suffusions sur toutes les séreuses et les muqueuses et des saignements persistants aux sites d'injection (Corapi et al., 1990 ; Grooms et al., 2009). Les troubles de la coagulation observés sont dus à une thrombocytopénie sévère, entraînée par une destruction périphérique massive des plaquettes par le virus (Corapi et al., 1989). Le mécanisme de l'hémorragie et de thrombopénie n'est pas entièrement comprise et la maladie est souvent mortelle (Fulton, 2013).

2. Infection durant la gestation

2.1. Pathogenèse

La pénétration initiale du virus dans l'organisme maternel s'effectue de la même façon que lors d'une infection horizontale classique chez une femelle non gravide ou un mâle. En revanche, chez une femelle en cours de gestation, la phase de virémie va entraîner une placentite et un passage viral transplacentaire, aboutissant à des conséquences variables suivant le stade de gestation (Figure 8) (Grooms et al., 2004 ; Fulton, 2008).

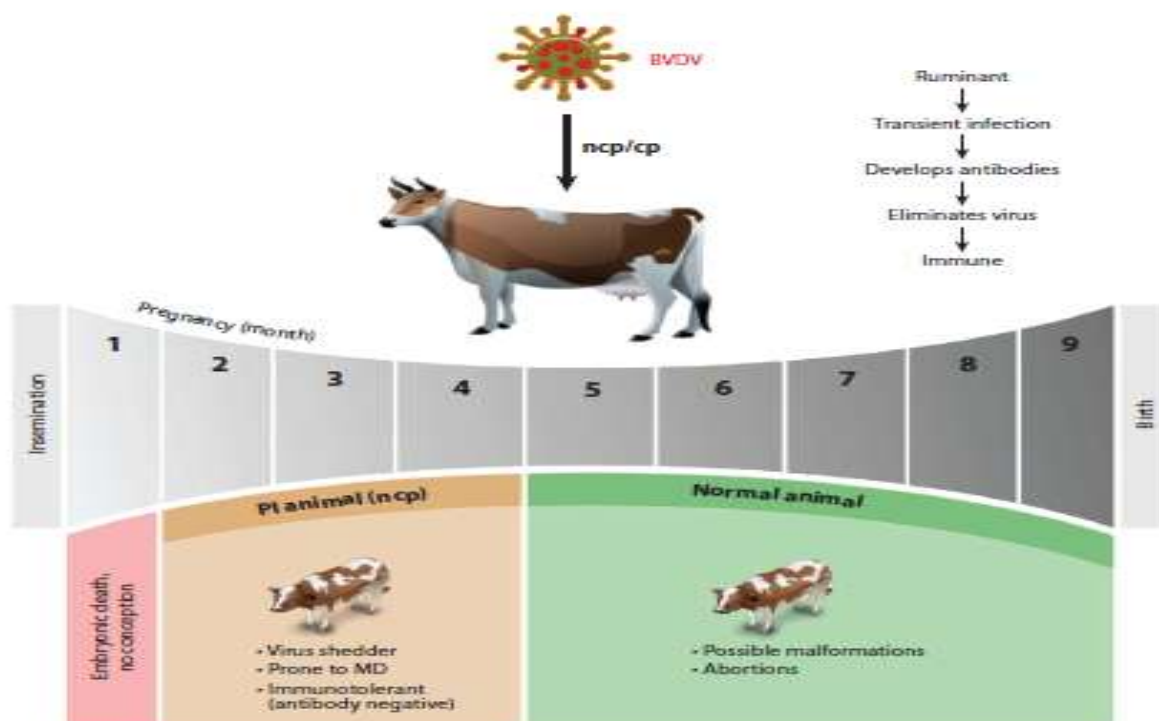


Figure 8 : les conséquences de l'infection par le BVDV durant la gestation (d'après Schweizer et Peterhans, 2014).

2.2. Conséquences en fonction du stade de gestation

A. Infection pendant le premier mois

Les conséquences cliniques immédiates sont représentées en grande majorité par de l'infécondité, pouvant être expliquée par une mortalité embryonnaire tardive (Hietala et al., 2003), par une réduction non négligeable de la fertilité, provoquée également par une augmentation du taux de mortalité embryonnaire. Il s'agit d'une conséquence majeure de l'infection par le BVDV. Si cette mort embryonnaire a lieu assez tôt c'est-à-dire avant le 16^{ème} jour de gestation, elle est qualifiée de précoce et la conséquence majeure est représentée par du repeat breeding, c'est-à-dire par des retours en chaleur répétés à intervalles réguliers d'environ 21 jours (Chastant et Maillard, 1999). Les conséquences peuvent également être retardées et n'être visibles qu'au moment de l'expulsion du veau : momifications fœtales, avortements, naissances prématurées, veaux mort-nés et malformations congénitales (Chastant et Maillard, 1999 ; Hietala, et al., 2003). Mais Moennig et Liess ont montré que le fœtus peut ne pas être infecté en raison de l'incapacité du virus à pénétrer dans la zone pellucide. En plus, les trophoblastes de bovins et ovins sécrètent IFN-tau, qui atteints son pic vers environ 20 jours de gestation. L'IFN-tau est une cytokine qui empêche la lutéolyse dans le premier stade du développement embryonnaire (Ealy et Yang, 2009). Il appartient aux IFN de type I ayant une activité antivirale, et contribuent à la résistance du fœtus à l'infection par le BVDV à ce stade précoce de la gestation (Moennig et Liess, 1995).

B. Infection entre 1 et 5 mois

L'avortement est alors la conséquence la plus courante. Les signes observés sont soit des retours en chaleur décalés par mortalité embryonnaire tardive, soit des avortements dans le cas d'infection plus tardive. Les mécanismes ne sont pas clairement explicités, mais il semble que l'action du virus concerne plus particulièrement le placenta provoquant une placentite et non le foetus lui-même (Grooms, 2004).

Chez les bovins, la nidation se déroule aux environs du 45^{ème} jour de gestation. Lors de contamination par le virus à partir du 40^{ème} ou 45^{ème} jour de gestation, la virémie de la vache peut être associée à une placentite et/ou à la contamination du fœtus (Grooms, 2009) (figure 8).

C. Infection entre 2 et 6 mois

Les malformations congénitales observées à cette période impliquent principalement le système nerveux (microcéphalie, hypoplasie cérébelleuse, hydranencéphalie, hydrocéphalie, et hypomyélinisation), les yeux (cataractes, la dégénérescence rétinienne, névrite optique, et microphthalmie), le système immunitaire (aplasie thymique) , le système tégumentaire (alopécie et hypotrichose), le système musculo-squelettique (brachygnathisme, retard de croissance et arthrogrypose) ou du système respiratoire (hypoplasie pulmonaire) (Moennig et Liess,1995 ; Baker,1995). Cet effet tératogène s'explique d'une part par la forte affinité du virus pour les cellules à multiplication rapide, d'autre part, par son action sur les endothéliums vasculaires, entraînant une hypoxie et une dégénérescence cellulaire (Hewicker et al.,1995 ; Montgomery, 2007).

D. Infection entre 5 et 9 mois

Dans cette période, le fœtus a acquis son immunocompétence et possède la capacité à reconnaître le virus BVD comme faisant partie du « non-soi » immunitaire, il développera donc des défenses immunitaires pour se défendre contre l'infection (figure 8) et pourra naître séropositif et vironégatif (Hewicker et al.,1995 ; Kelling et Topliff, 2013). Cependant, lors d'une infection quelques jours avant la mise bas, l'animal naît normal mais présentera une virémie transitoire jusqu'à l'apparition des anticorps neutralisants quelques jours après la mise bas. En quelques sortes, ce cas peut être considéré comme un cas « classique » d'infection transitoire (Hewicker et al., 1995).

E. Cas particulier de l'infection entre 1 et 4 mois de gestation (40-120 jours)

Le fœtus ne développe une réponse immunitaire qu'à partir du 120^{ème} jour de gestation environ. Si le virus contamine le fœtus entre 40 et 120 jours de gestation, ce dernier ne déclenche pas de réaction immunitaire, et le virus ne sera pas reconnu comme non-soi et sera au contraire considéré comme du soi par le fœtus. Le veau naîtra donc Infecté Permanent Immunotolérant, ou IPI (figure 9), qui ont la particularité d'être virémiques permanents, mais séronégatifs vis-à-vis du BVDV jusqu'à la buvée colostrale (Swasdipan et al., 2002). Il excrète continuellement le virus dans l'environnement et peut ainsi contaminer le reste du troupeau (Douart et Simon, 1993).

Les IPI sont des veaux chétifs, aux poils ébouriffés, une tête de taille importante par rapport au reste du corps et ayant des troubles de croissance, mais ils peuvent être tout à fait normaux, à croissance normale, ce qui rend beaucoup plus difficile leur détection clinique sur le terrain (Yamane et al., 2008).

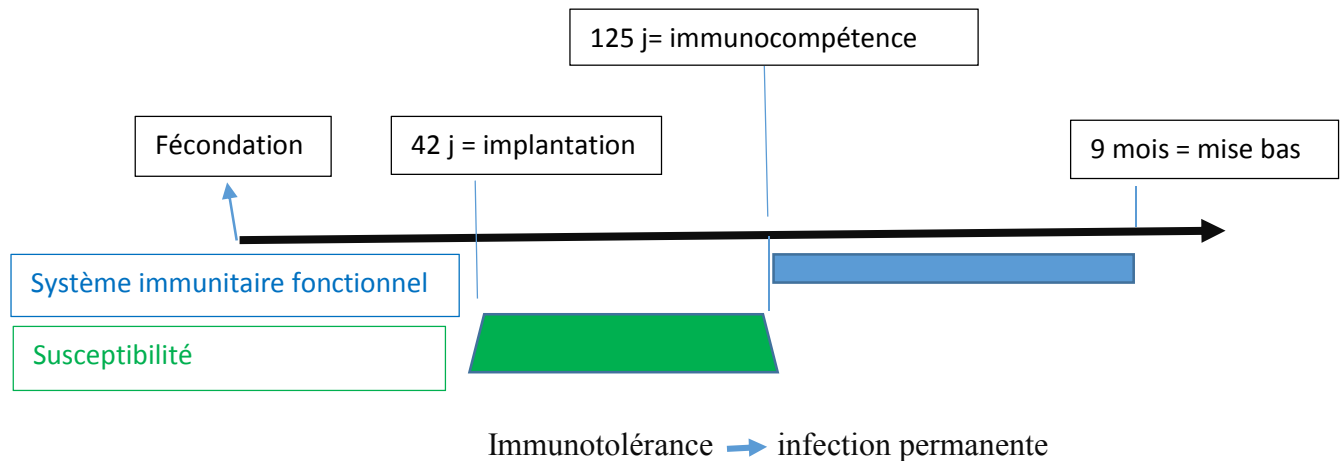


Figure 9 : conséquences immunitaires de l'infection pendant la gestation (Grooms, 2009).

F. Bilan des troubles observés (figure 10).

Si l'infection est précoce (premier mois) : mort embryonnaire

Si l'infection a lieu dans les deux premiers trimestres de la gestation, elle peut aboutir à une, deux ou trois des conséquences suivantes :

- Malformations congénitales
- Avortement
- Naissance d'un animal infecté permanent immunotolérant (IPI)

Si l'infection est tardive (dernier trimestre) : l'infection est asymptomatique.

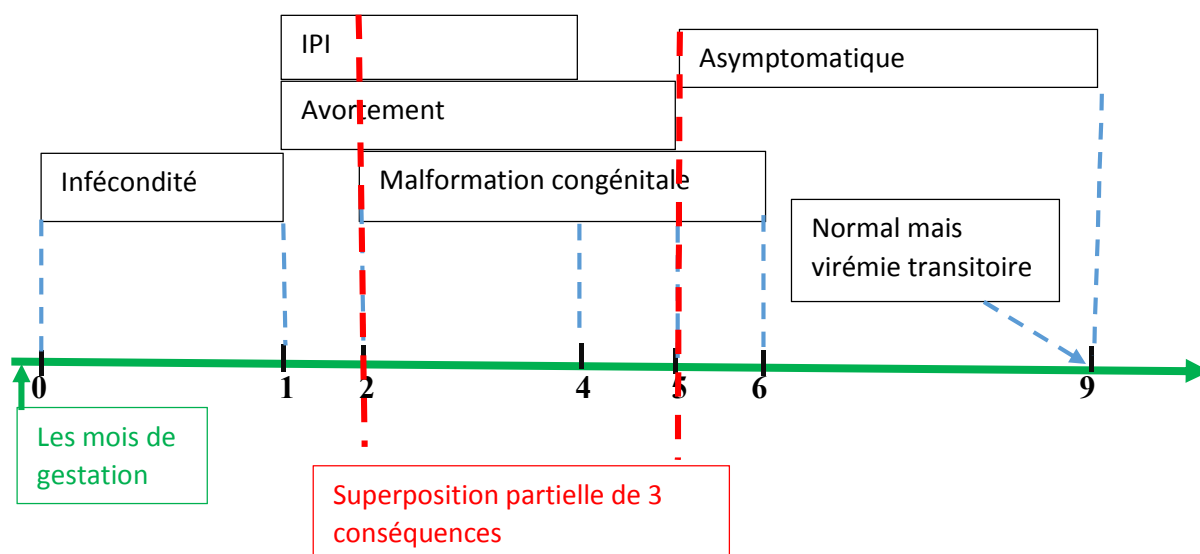


Figure 10 : Bilan des troubles observés (Grooms, 2009).

3. Maladie des muqueuses

3.1. Pathogénie de la maladie des muqueuses

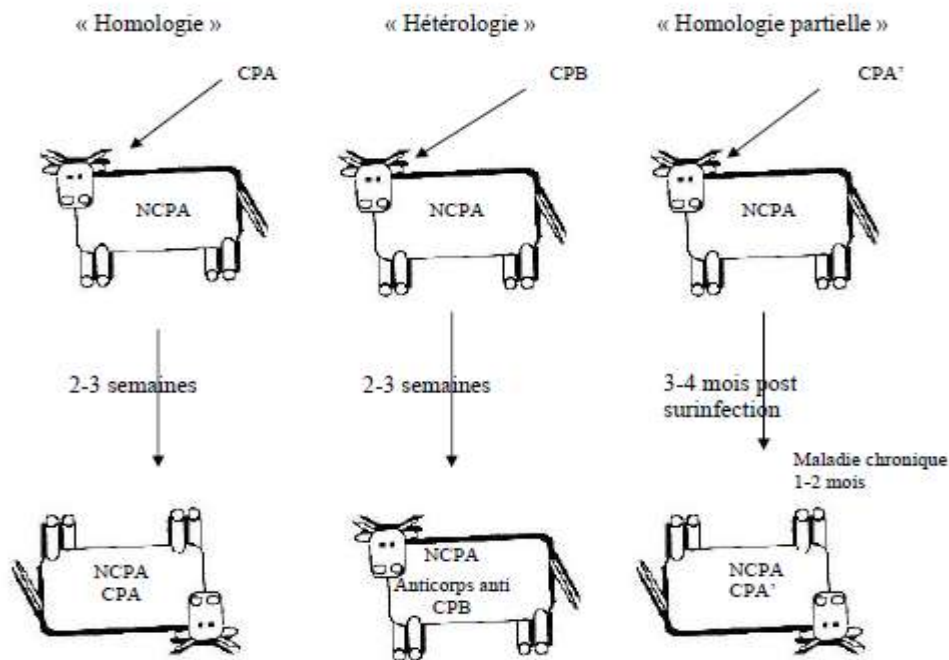
Chez les individus atteints de la maladie des muqueuses suite à une infection simultanée par les deux souches CP et nCP, la maladie se déclare à partir d'une surinfection par la souche CP, d'un individu IPI hébergeant initialement une souche nCP (Brownlie et al., 1984 ; Bolin et al., 1985).

Les conséquences cliniques dépendront du degré d'homologie entre ces deux souches (figure 11) (Brownlie, 1990 ; Pastoret, 1997).

Si les deux biotypes sont différents sur le plan antigénique, l'animal fabriquera des anticorps protecteurs contre la souche surinfectante et ne développera pas de maladie des muqueuses.

Si les deux biotypes sont homologues, l'animal immunotolérant acceptera l'intrusion virale et déclarera une maladie des muqueuses dite aiguë.

Si les deux biotypes ne diffèrent que très légèrement, on observera alors une forme chronique de la maladie des muqueuses.



Maladie de la muqueuse réponse immune forme chronique (Runting disease)

Figure 11 : pathogénie de la maladie des muqueuses (Brownlie,1990).

3.2. Expression clinique

A. Forme aiguë de la maladie des muqueuses

La forme aiguë touche les animaux IPI entre 3 semaines et 3 mois d'âge avec une évolution rapide vers la mort en 2 à 3 jours jusqu'à 2 ou 3 mois. Elle apparaît généralement de façon sporadique et son évolution est létale (Van Dreumel et al., 1998). Les symptômes sont relativement caractéristiques : En début d'évolution une légère hyperthermie peut apparaître, mais elle a généralement disparu au moment de l'apparition des principaux signes cliniques, suivie du ptyalisme, d'une démarche anormale (l'animal marche sur des œufs), d'une diarrhée pouvant être de nature très diverse : aqueuse, mucoïde, hémorragique ou avec présence de caillots sanguins (Berzal-Herranz et al., 2001 ; Schelcher, 2008). Sur le plan lésionnel, l'animal présente des ulcères fusiformes en coup d'ongles dans la cavité buccale, dans les espaces inter digités et sur l'appareil digestif. La caillette peut présenter des exulcérations hémorragiques et parfois une iléotyphlocolite (Groom et al., 2009 ; Fulton, 2013).

B. Forme chronique de la maladie des muqueuses

La forme chronique est caractérisée par une durée d'évolution plus longue de quelques semaines à quelques mois, mais sa terminaison est également fatale dans tous les cas (Van Dreumel et al., 1998). Les circonstances d'apparition sont identiques à celles de la forme aiguë (Schelcher, 2008). Les symptômes sont par contre moins spécifiques et d'intensité moindre, caractérisés par un amaigrissement, un retard de croissance, une phase de diarrhée intermittente et parfois quelques ulcères buccaux et interdigités qui guérissent puis réapparaissent (Schelcher, 2008 ; Fulton, 2013).

VIII. Epidémiologie du syndrome BVD/MD

1. Epidémiologie descriptive

1.1. Espèces et types d'animaux concernés

Généralement, ce sont les bovins les plus touchés par le syndrome BVD/MD, mais d'autres espèces animales telles que les ovins, les caprins, les porcins et les ongulés sauvages peuvent être infectés par le BVDV (brownlie, 1985). En revanche, seuls les bovins infectés permanents immunotolérants peuvent être atteints de la maladie des muqueuses (Dannacher et Moussa, 1986). Les IPI ne représentent généralement qu'un faible pourcentage de la population bovine (entre 0-2%) (Houe, 1999 ; Lindberg et al., 2006).

1.2. Répartition géographique et fréquence de l'infection

Le syndrome BVD/MD est l'une des maladies les plus cosmopolites qui existent. Il est rencontré dans tous les pays où il a été recherché (Ernst, 1984 ; Talfaha et al., 2009).

Des enquêtes sérologiques ont permis de mettre en évidence la grande prévalence de l'infection par ce virus : 31.6 % en Jordanie (Talfah et al., 2009). 31,1% en Italie (Luzzago et Frigerio, 2008), 69% en Uruguay (Guarino et Nunez ,2008) et de 50% en France (Boulanger et al 1993 ; Houe, 1999,). Aussi, même si les IPI ne représentent qu'un faible pourcentage de la population bovine (entre 0-2%), il y aurait 15% des troupeaux qui en hébergeraient aux USA, 53% au Danemark, 45% en Allemagne et entre 20 et 30% dans l'Ouest de la France (Schelcher, 1993 ; Groom, 2009).

1.3. Importance économique

L'importance de cette maladie repose essentiellement sur les conséquences zootechniques économiques qui sont liées au passage du virus (Lindberg et al., 2006). En effet, la BVD engendre des pertes économiques directes comme les mortalités des IPI, l'avortement, la baisse de production laitière, l'infertilité, et des pertes indirectes liées à l'augmentation de l'incidence d'autres maladies, due à l'immunodépression transitoire associée à l'infection (Dufour, 1999). En outre, en cas de circulation virale dans un cheptel, des contraintes zootechniques de prophylaxie sont nécessaires telles que l'isolement des animaux malades, la limitation des introductions et des sorties des animaux sont également à l'origine d'un coût supplémentaire (Stahl et Alenius, 2012).

2. Epidémiologie analytique

2.1. La source de virus

Les sources virales sont représentées à 90 % par les animaux excréteurs et à 10 % par l'environnement, du fait de la faible résistance du virus dans le milieu extérieur (Ridpath et al., 1994).

Lors de primo-infections transitoires, les animaux libèrent les virus en faible quantité durant la phase relativement courte de virémie, celle-ci se produit entre le quatrième et le dixième jour post infection (Niskanen et al., 2003).

Les animaux permanents immunotolérants (IPI) délivrant du virus de façon continue durant toute leur vie, entretenant et propageant ainsi l'infection. Ils sont considérés comme de véritables « bombes épidémiologiques » car ils peuvent apparaître en bonne santé et ils sont sérologiquement négatifs donc difficiles à dépister, mais restent excréteurs du virus toute leur vie (Houe, 1995).

Une vache IPI donnera systématiquement naissance à un veau IPI et donc entretient l'infection dans l'élevage. Un taureau IPI présente un sperme contaminé et contaminant, ce qui se traduira en général par de nombreuses mortalités embryonnaires précoces et donc une mauvaise fertilité (Ridpath et al., 1994 ; Pastoret et al., 1997).

Par ailleurs, les ovins peuvent être un réservoir de BVDV (Hurtado et al., 2003). Il a été révélé que des porcins, des caprins et d'autres ongulés réceptifs aux pestivirus sont également des réservoirs potentiels de pestivirus (Becher et al.,1999 ; Radostits, 2007).

Les sécrétions et excréments sont virulents (jetage, sperme, sang, lait, larmes, salive, urine, fèces) (Solis-Calderon, 2005). Le virus est présent en grande quantité dans les avortons, le placenta et les liquides utérins (Ridpath et al., 1994).

2.2. Mode de transmission

La voie horizontale directe représente le mode majoritaire de transmission. Elle se fait de mufler à mufler ou par le biais d'autres matières virulentes comme le sperme ou le placenta (Talafta, 2009). Les voies de contamination sont donc respiratoires, orales ou vaginales (Pastoret et al., 1997).

La voie horizontale indirecte est une transmission par l'intermédiaire de matériel contaminé tel que la pince mouchette, l'aiguille ou l'environnement souillé (Niskanen et Lindberg 2003 ; Guarino, 2008). Une transmission vectorielle animée peut également être envisagée par des insectes tels que les mouches transportant le virus sur leurs pattes (Gunn, 1993 ; Houe,1995). La voie verticale s'effectue généralement par passage trans-placentaire du virus lors de l'infection transitoire d'une femelle gravide ou chez une femelle IPI (Houe ,1995).

3. Epidémiologie synthétique

3.1. Origine de la contamination d'un élevage

La contamination d'un élevage naisseur se fait soit par achat d'animaux (achat d'animal IPI, de vache ou de génisse porteuse d'un animal IPI ou d'animal infecté transitoire), soit par voisinage (pâturage, foire ou mélange d'animaux) (Houe,1995).

3.2. Persistance de l'infection au sein de l'élevage

La persistance de l'infection par le BVDV au sein d'un élevage peut-être due à deux causes majeures. Tout d'abord, il peut s'agir de réinfection régulière du cheptel par voisinage ou par achat (Valle,1999 ; Talafta, 2009). La cause la plus fréquente reste tout de même la persistance d'un animal IPI dans le troupeau. Cet IPI contamine sans cesse ces congénères et permet la

formation de nouveaux IPI qui maintiennent eux aussi la charge virale dans l'élevage (Houe, 1999).

IX. Diagnostic du syndrome BVD/MD

1. Diagnostic clinique et épidémiologique

Le diagnostic clinique et épidémiologique reprend l'ensemble des éléments décrits dans la partie précédente. Ces éléments ne permettent pas d'établir un diagnostic de certitude. Cependant, l'observation de certains signes doit faire suspecter la maladie (baisse de fertilité, augmentation du taux de mortalité périnatale, augmentation du nombre d'avortements et de malformation congénitale). cependant dans un certain nombre de cas, l'infection d'un troupeau peut être asymptomatique (Grooms et al., 2009).

2. Diagnostic nécropsique

La maladie des muqueuses provoque des lésions relativement caractéristiques, digestives et extra-digestives.

2.1. Lésions digestives

Les lésions observables sont essentiellement de type ulcératif dans la partie antérieure du tube digestif : ulcérations superficielles « en coup d'ongle » au niveau de la bouche et du pharynx, ulcères linéaires allongés le long de l'œsophage et quelques rares ulcères sur les préestomacs. Dans la partie postérieure du tube digestif, ce sont plutôt des lésions inflammatoires avec une inflammation catarrhale plus des pétéchies au niveau de la caillette. En zone intestinale, une entérite iléo-cæco-colique et une rectite avec des micro-ulcères (Maillard, 2003).

2.2. Lésions extradigestives

Les lésions extradigestives représentées essentiellement par des ulcères de la couronne et du talon de l'onglon, des espaces interdigités, une inflammation de l'œil et une dermatite exsudative dans les régions à peau fine (Maillard, 2003).

3. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel du syndrome de la BVD/MD est complexe car c'est une maladie qui provoque de nombreux symptômes inconstants qui rappellent d'autres infections. De plus, aucun de ces symptômes n'est pathognomonique de ce syndrome.

Le diagnostic différentiel se fera avec des maladies qui provoquent des symptômes digestifs et des maladies abortives.

Les deux principaux symptômes digestifs rencontrés lors de BVD/MD sont les ulcères buccaux lors de maladie des muqueuses et de la diarrhée. L'association de ces deux symptômes se rencontre surtout dans 2 autres maladies : la fièvre aphteuse et la fièvre catarrhale maligne.

3.1. Les maladies digestives

A. Fièvre aphteuse : elle se distingue de la maladie des muqueuses par la présence de vésicules ou des aphtes, qui vont ensuite s'ulcérer. De plus, ces vésicules ne sont pas uniquement présentes dans la bouche, elles sont retrouvées aussi au niveau des espaces interdigités et sur les trayons. Elle se différencie aussi par une contagiosité extrêmement rapide ainsi qu'une forte morbidité (Petit, 2003).

B. Fièvre catarrhale maligne (ou coryza gangreneux) : à la différence de la BVD, c'est une maladie beaucoup plus rare et à la différence de la BVD, elle est toujours mortelle. Elle est caractérisée par une hypertrophie des nœuds lymphatiques provoquant une cécité, d'où son nom de « kératite bleue » (Petit, 2003).

3.2. Les maladies abortives

Lors d'avortement, de multiples causes bactériennes, virales ou parasitaires peuvent intervenir :

Bactéries : *Brucella abortus*, *Salmonella*, *Haemophilus* et *Arcanobacterium pyogenes*

Virus : BHV4, BHV1.

Protozoaires : *Trichostrongylus axei*, *Sarcocystis*

Champignons : *Aspergillus fumigatus*

Concernant les maladies abortives, seule la recherche de l'agent causal sur l'avorton permet de faire un diagnostic de certitude (Petit, 2003).

Cependant, seul le diagnostic de laboratoire avec la mise en évidence directe ou indirecte du virus permet de faire le diagnostic de certitude de la présence ou du passage du virus.

4. Diagnostic de laboratoire

Les examens de laboratoire sont un recours indispensable dans le cas de l'infection par le BVDV. Ils doivent permettre :

- de confirmer un diagnostic clinique, puisque les signes d'appel et les lésions sont multiples et peu caractéristiques.
- de détecter les animaux IPI (sérologiquement négatifs et virémiquement positifs) et/ou atteints de maladie des muqueuses.

Le diagnostic de la maladie repose sur des techniques directes de détection du virus ou indirectes de détection des anticorps anti-BVDV.

4.1. Détection du virus.

Plusieurs méthodes de détection existent :

A. Isolement viral en culture cellulaire

L'isolement viral en culture cellulaire est généralement considéré comme la méthode de référence pour le diagnostic virologique. Il s'agit de la seule méthode permettant l'identification du biotype CP (Dubovi, 2013).

Cette technique consiste à mettre en culture un échantillon sur des cellules cibles. Si cet échantillon est contaminé par le virus, le virus se développera et la mise en évidence est effectuée grâce à des techniques immunologiques (immunofluorescence, immunoperoxydase) dans la mesure où la plupart des souches circulantes sont nCP (Borck, 1995).

Les cellules utilisées pour la mise en culture sont surtout des cellules rénales ou testiculaires de fœtus bovin, les lignées cellulaires de cornets nasaux de bovin et la lignée cellulaire MDBK.

Les échantillons à tester sur les animaux vivants peuvent être préférentiellement du sang total. Peut être également recherchée dans le sperme. Cependant, le sperme complet est fortement cytotoxique et doit donc être dilué dans le milieu de culture cellulaire, en général à 1/10 au moins (Dubovi, 1990 ; Radostits, 2007).

Les échantillons à tester sur les animaux morts peuvent être préférentiellement la rate, la thyroïde, les reins, l'encéphale, les nœuds lymphatiques et les intestins. Le délai de réponse de ce test est de 6 à 8 jours si c'est positif et le double si c'est négatif (Dubovi, 1990 ; Douart et Simon, 1997).

Cette méthode de mise en évidence du virus est encore considérée comme la méthode de référence, bien que peu utilisée. Elle apparaît moins sensible que la PCR et risque de fournir des résultats faussement positifs si le virus est inactivé par des anticorps colostraux lors de prélèvement chez le jeune de moins de quatre mois. Cette technique est adaptée à la recherche des IPI mais est déconseillée pour les animaux de moins de quatre mois car les anticorps colostraux peuvent empêcher l'isolement viral (Brock et al., 1998; Zimmer et al., 2004).

L'isolement viral est une méthode très fiables mais très lourde à mettre en place (Saliki et Dubovi, 2004), son principal avantage est ouverte et permet la détection sous certaines conditions d'autres virus que le BVDV (Dubovi, 2013).

B. Détection des antigènes viraux (ELISA ag)

Les tests ELISA sont couramment employés pour détecter rapidement les antigènes viraux. Avec le développement des anticorps monoclonaux spécifiques des Pestivirus, l'ELISA de capture a été mis au point : les échantillons à tester sont déposés sur les puits d'une plaque de microtitrage tapissée d'un mélange d'anticorps monoclonaux. D'autres anticorps monoclonaux conjugués à la peroxydase assurent la capture de l'antigène viral en « sandwich » et servent d'anticorps révélateurs (Entrican et al., 1994) (figure 12) . Les antigènes recherchés sont principalement NS2-3, Erns ou E2. La quantité d'antigène viral est alors proportionnelle à la densité optique obtenue.

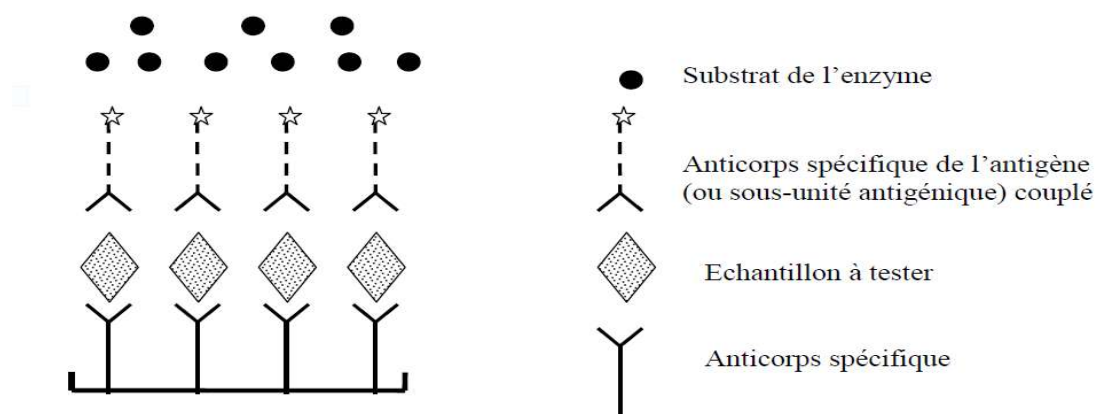


Figure 12 : Schématisation de l'ELISA de capture (Schrijver et Kramps, 1998)

Les échantillons approuvés pour le test ELISAag sont le sérum, les biopsies de la peau (encoches d'oreille) et peut également être utilisé à partir de caillots, d'extraits leucocytaires ou

encore de broyats d'organes lymphoïdes traités par un tampon lytique (Lindberg et Alenius, 1999). Les biopsies d'oreille (cartilage auriculaire) sont devenues un échantillon idéal pour détecter les animaux IPI par ELISAag pour un certain nombre de raisons. Tout d'abord, Les anticorps maternels n'interfèrent pas avec le test ELISA (Kuhne et al., 2005), donc peuvent être testés avec confiance pour les très jeunes veaux. Des prélèvements de biopsie auriculaire peut être collectés plus rapidement que ceux du sang et réalisés parallèlement avec le bouclage des oreilles lors de l'identification systématique des bovins (Kuhne et al., 2005).

La sensibilité de cette épreuve est très bonne et proche de celle de l'isolement viral pour les animaux IPI dont les titres viraux sont très élevés (Schelcher et al., 1993). Alors que chez les bovins infectés transitoires (IT) dont les titres viraux étant plus faibles, la sensibilité est médiocre. L'ELISA est plus efficace que l'isolement viral mais reste peu fiable en période néonatale lors d'utilisation de sérum comme échantillon. c'est-à-dire sur des animaux virémiques âgés de moins de quatre mois car les anticorps colostraux masquent la virémie (Simon et al., 1994).

Il s'agit donc d'une méthode d'exécution simple, rapide, peu coûteuse et pratique pour trier un grand nombre de prélèvements de sang (Houe, 2006).

C. Détection des acides nucléiques (la PCR par transcriptase inverse en temps réel RT RT-PCR ou RT-qPCR)

La PCR est l'abréviation de l'expression anglaise Polymerase Chain Reaction ou réaction en chaîne par polymérase. La technique consiste, après rétrotranscription de l'ARN viral en ADN complémentaire, à amplifier un fragment de génome présent dans un échantillon. Ensuite, les produits d'amplification sont révélés par des méthodes telles que l'électrophorèse ou avec la variante actuelle ou les produits d'amplification sont révélés au cours même de la phase d'amplification : c'est la RT-PCR ou PCR en temps réel (Sandik, 2005 ; Dubovi, 2013).

Elle se fait à partir des leucocytes qui ont une charge virale importante, issus de prélèvement de sang total sur EDTA et pas d'héparine car elle inhibe la PCR ou dans le sérum prélevé sur tube sec, de lait ou à partir d'une biopsie de la rate, les intestins et l'oreille. La RT-qPCR est insensible aux substances toxiques et à la présence d'anticorps colostraux interférents chez un

jeune bovin de moins de 6 mois (Zimmer et al., 2004 ; fux et wolf ,2011). Mais très sensible à la contamination d'échantillons qui peut entraîner de faux positifs.

En raison de la grande variabilité des Pestivirus, les kits commerciaux ont été conçus pour détecter l'ensemble des souches connues de BVDV et BDV, souvent en utilisant deux à trois couples d'amorces différentes. Ces kits sont basés principalement sur l'amplification de la région 5'UTR, région très bien conservée chez tous les Pestivirus. L'existence de souches atypiques qui ne seraient pas détectées par la PCR reste toutefois envisageable (Le Dréan, 2010).

Étant donné que la charge virale chez les IPI est en règle générale beaucoup plus élevée que chez les bovins infectés transitoires (IT), la détection de ces animaux se fait avec une grande certitude aussi bien avec l'ELISA antigène qu'avec la RT-qPCR. Mais vu que l'ELISA antigène est moins sensible que la RT-qPCR, les animaux infectés transitoires ne seront bien souvent pas détectés par ce test contrairement au test RT-qPCR, qui est capable de détecter des charges virales relativement basses. Ce dernier permet de faire la différence entre un IPI et un bovin infecté transitoire (IT), car le premier est décelé plus tôt (la différence de charge virale de 2^{10}) (Zimmer et al., 2004).

La meilleure sensibilité de la RT-qPCR permet, outre la détection des animaux IT, de tester des pools d'échantillons de sérum ou de sang de telle façon à compresser le coût du dépistage, lié à l'analyse d'un grand nombre d'échantillons individuels. Cette méthode est souvent utilisée en combinaison avec l'ELISA antigène, en analysant d'abord des pools d'échantillons de sérum ou de sang à l'aide de la RT-qPCR et en identifiant ensuite les animaux IPI à l'aide de tests ELISA antigène réalisés sur les échantillons individuels des pools positifs (Ganée, 2011).

D. Immunofluorescence ou immunohistochimie

L'identification rapide de l'antigène dans les échantillons de tissus peut être pratiquée par des méthodes immunohistochimies telles que l'immunofluorescence ou la mise en évidence immunoenzymatique (par l'immunoperoxydase) sur des coupes de tissus congelés (Broderson, 2004 ; Vanderley et al.,2011). En raison du tropisme multiple du BVDV, tous les organes peuvent être prélevés. Cependant, la thyroïde et les glandes salivaires, les nœuds lymphatiques et le pourtour des lésions intestinales ainsi que la rate semblent donner de meilleurs résultats.

Chez l'animal vivant, les prélèvements peuvent être réalisés à partir des érosions nasales ou buccales pour pratiquer des biopsies, notamment la biopsie oculaire qui a été décrite comme une méthode efficace pour la détection des animaux IPI (Njaa et al., 2000 ; Dubovi, 2013).

a). Immunofluorescence

En ce qui concerne l'immunofluorescence, elle est plus adaptée sur des coupes de tissus necroscopiques congelés, cette méthode présente un intérêt direct dans le diagnostic post-mortem d'une infection par le BVDV (Brock, 1995 ; Vanderley et al., 2011).

L'inconvénient de l'immunofluorescence est l'existence de faux positifs due à la fluorescence de fond provoquée par des réactions sérologiques non spécifiques, telle la fluorescence émise par les vaisseaux sanguins sains et l'existence de faux négatifs due à la grande variabilité antigénique du BVDV qui peut rendre l'antisérum inefficace si la souche inoculée pour sa production est différente de celle qui est recherchée d'où son manque de sensibilité. Cependant, récemment des anticorps monoclonaux ont été découverts agissant pratiquement avec toutes les souches de BVDV et limiter les faux négatifs. De même, le stockage prolongé du tissu dans le formol peut détruire la capacité des anticorps monoclonaux à reconnaître les épitopes cibles (Dubovi, 2013).

Les avantages de cette technique est la rapidité et ne nécessite pas de cultures cellulaires. Elle sera donc utilisée préférentiellement pour la recherche des bovins IPI ou souffrant de la maladie des muqueuses à tout âge et ne pas être affectée par la présence des anticorps du colostrum (Houe et al., 2006). En revanche, son manque de sensibilité lui fera préférer l'isolement viral dans la recherche d'infections aiguës.

b). Le test immunoperoxydase

Le test immunoperoxydase est assez proche de l'immunofluorescence. Il consiste à marquer par la peroxydase la liaison anticorps-antigène du BVDV. Il se fait sur des coupes d'organe congelées ou fixées à l'alcool et incluses dans de la paraffine. Il peut aussi être pratiqué sur des frottis de leucocytes. La sensibilité, la spécificité et la rapidité sont équivalentes à l'immunofluorescence. Son utilisation sera donc la même que pour l'immunofluorescence (Clarke, 1996 ; Broderon, 2004).

E. Interprétation des tests virologiques

Les animaux présentant un test virologique positif sont soit des animaux IPI soit des Animaux infectés transitoires IT. Les animaux IPI présentent une virémie durant toute leur vie avec un titre très élevé variant dans le temps. Dans le cas des animaux infectés transitoires IT, la virémie est intermittente avec un titre beaucoup plus faible. Malgré le développement des tests pour diagnostiquer les animaux IPI, en général, un second test sera nécessaire à appliquer trois semaines à un mois après pour différencier les IPI des IT. L'IPI reste viropositif alors que l'IT redevient vironégatif (Edwards et al., 1991 ; Brock,1995). Un test négatif signifie que l'animal n'est pas porteur du virus au moment des prélèvements.

Tableau 2 : interprétation des tests virologiques (d'après Brock, 1995).

	Animal IPI	Animal infecté transitoire	Animal non contaminé
1^{er} test virologique	+	+	-
2^e test virologique (3 à 4 semaines après)	+	-	-

4.2. Détection des anticorps

Actuellement, la mise en évidence des anticorps dirigés contre le BVDV est réalisée quasi exclusivement par des méthodes immunoenzymatiques. La séroneutralisation reste le test de référence mais son recours sur le terrain est obsolète. La fixation du complément, l'épreuve d'immunodiffusion en gélose et l'immunofluorescence sont des techniques qui ont été abandonnées car elles étaient moins sensibles.

Le dépistage sérologique permet de détecter la présence d'une circulation virale dans un cheptel par la mise en évidence d'animaux porteurs d'anticorps spécifiques. Il ne permet cependant pas de détecter directement d'éventuels individus IPI.

A. Test de séroneutralisation

C'est une méthode quantitative qui permet de déterminer le titre du sérum en anticorps anti-BVDV. Le principe est de mettre en évidence les éventuels anticorps neutralisants présents dans le sérum. Pour cela, des quantités constantes de virus d'épreuve sont mises en contact avec des

dilutions croissantes du sérum à tester puis inoculées à une culture cellulaire sur microplaques et incubées 3 à 5 jours. Le virus d'épreuve est le plus souvent une souche cytopathogène afin de détecter facilement la neutralisation du virus, si les cultures entraînent la destruction de ces cellules, cela signifie que le virus n'a pas été neutralisé et que le sérum à tester ne contient pas d'anticorps. Si au contraire, les cultures présentent le même aspect que les lots témoins, le virus a été neutralisé par les anticorps du sérum. Parfois les souches de virus d'épreuve utilisées sont des souches non cytopathogènes. La neutralisation virale est alors appréciée par la technique d'immunofluorescence (Saliki et Dubovi, 2004 ; Sandik, 2005).

La séroneutralisation permet de détecter principalement des anticorps neutralisants dirigés contre les protéines structurales E2, mais aussi Erns et E1 (Sandik, 2005 ; Le Dréan, 2009). Les antigènes structuraux E2 sont les antigènes immunodominants responsables de la réponse en anticorps neutralisants (Potgieter, 1995 ; Ridpath, 2012). La séroneutralisation permet donc de vérifier l'efficacité de protection immunitaire contre le BVDV. D'ailleurs, certains auteurs ont étudié l'efficacité de vaccins dirigés contre le BVDV par cette technique (Hamers et al., 2002). Même si elle est considérée comme une méthode de référence, elle présente néanmoins, quelques inconvénients qui ont rendu son recours en pratique obsolète (Dubovi, 2013) :

- elle est coûteuse et compliquée à mettre en œuvre.
- l'obtention des résultats nécessite un délai de 5 à 7 jours.
- l'absence de technique standardisée compromet les comparaisons des résultats d'un laboratoire à l'autre.
- de fortes contraintes de laboratoire existent pour éviter la contamination des lignées cellulaires et des milieux de croissance par des Pestivirus exogènes.
- sa spécificité à une souche du BVDV, car il n'y a pas de souche virale de référence, les laboratoires en utilisent plusieurs : NADL, Singer, Oregon C24V. Selon le degré d'homologie entre la souche du test et la souche infectante, les titres en anticorps sont plus ou moins élevés.

B. Tests Immunoenzymatiques

a). ELISA indirect

Le sérum à tester est versé sur une microplaque tapissée d'antigènes (Erns ou NS3). S'il contient des anticorps, ceux-ci se fixent sur les antigènes. Après rinçage, les anticorps recherchés sont

révélés par des antiglobulines spécifiques d'espèces, conjuguées à une enzyme qui agit sur un substrat chromogène (figure 13). On obtient un signal lumineux. La lecture se fait au spectrophotomètre ou la densité optique est proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon. La méthode fournit une réponse qualitative, positive ou négative sans donner de valeur chiffrée (Goetghelucke, 2002).

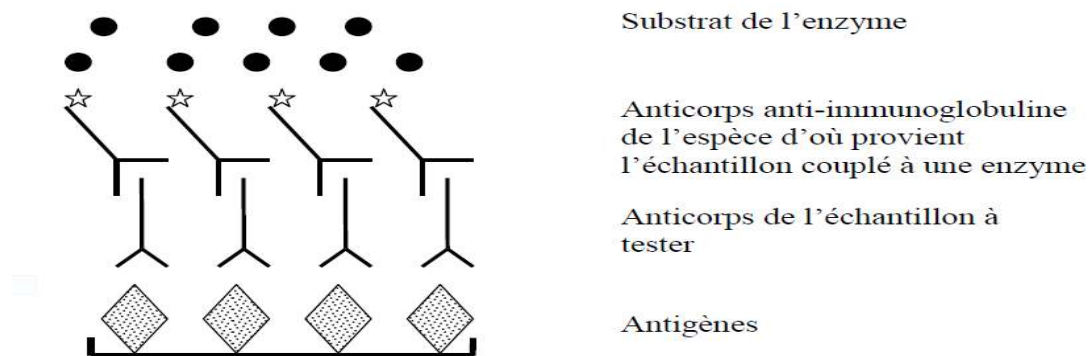


Figure 13 : Schématisation de l'ELISA indirect (Schrijver et Kramps, 1998).

b). ELISA compétition

L'ELISA de compétition consiste à mettre en compétition les anticorps de l'animal avec un anticorps monoclonal anti NS3 marqué à la peroxydase. Les échantillons sont mis au contact avec NS3 fixée dans des puits. Si des anticorps spécifiques sont présents dans le sérum à tester, ils se fixent sur la NS3 qui est alors masquée. Ensuite, l'addition des anticorps monoclonaux anti NS3 couplés à une enzyme (figure 14). S'il y a des anticorps dans l'échantillon, il n'y aura pas de fixation possible. Donc il n'y aura pas de signal lumineux et l'échantillon est positif (Goetghelucke, 2002).

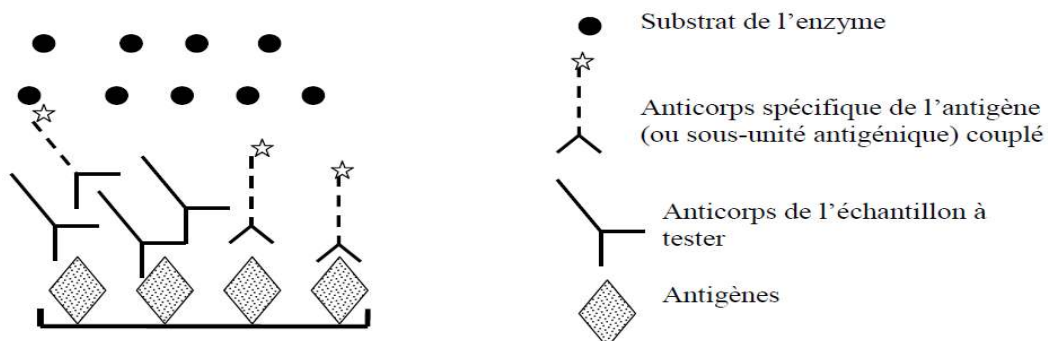


Figure 14 : Schématisation de l'ELISA de compétition (Schrijver et Kramps, 1998)

Les performances diagnostiques des tests ELISA anticorps dépendent de l'antigène viral utilisé dans le kit. Dans les tests actuellement disponibles, ils sont dirigés principalement contre la protéine NS2-3 (Sandvik ,2005 ; Le Dréan ,2010). Cette protéine immunodominante est bien conservée au sein des pestivirus mais n'induit pas la formation d'anticorps neutralisants (Potgieter ,1995 ;Ridpath ,2012). Les kits ELISA renseignent donc uniquement sur la présence ou l'absence de contact antérieure avec le BVDV, mais pas sur l'efficacité de la protection immunitaire contre le virus. Ainsi, les tests détectant les anticorps NS2-3 sont plus adaptés que les tests détectant les anticorps totaux pour le dépistage des bovins IPI. En effet, un bovin IPI en dehors de la période colostrale, surinfecté par une souche hétérologue développera des anticorps contre les déterminants antigéniques présents dans la souche de surinfection ou vaccinale et absente dans la souche dont il est porteur chronique. Ce bovin sera détecté séronégatif avec un test ELISA détectant spécifiquement les anticorps NS2-3 et pourra être séropositif avec un test ELISA anticorps « totaux » ou en séroneutralisation (Ridpath ,2012).

Les performances en termes de sensibilité et de spécificité ne peuvent être appréciées globalement, tant les résultats publiés apparaissent variables d'un test à l'autre. En général, ces études montrent une très bonne concordance avec le test de référence qui est la séroneutralisation (Beaudeau et al., 2001). Il apparaît également que les ELISA de compétition présentent une spécificité analytique plus élevée que la technique non compétition.

Les kits de sérologie ELISA présentent plusieurs avantages, comparés à la séroneutralisation. Ils sont de mise en œuvre rapide, peu coûteux, fiables et permettent d'analyser un grand nombre d'échantillons. De plus, ils ne nécessitent pas de mise en culture cellulaire ou l'utilisation de souches de référence, évitant ainsi les problèmes mentionnés par la séroneutralisation (Dubovi, 2013). Son automatisation est possible, ce qui permet l'élimination des erreurs et les variations dépendantes de l'opérateur.

C. Interprétation des tests sérologiques

L'interprétation des tests sérologiques est résumée au sein du tableau 3. Cette interprétation est générale à toutes les méthodes (Chase et al., 2003).

Tableau 3 : interprétation des tests sérologiques (Chase et al., 2003).

Sérologie négative	Sérologie positive
-Animal sain, jamais contaminé -Animal en cours de séroconversion -Animal IPI non recontaminé	-Animal immunocompétent ou contaminé -Animal vacciné par un vaccin vivant -Présence d'anticorps colostraux -IPI recontaminé par une souche différente de la souche d'origine.

X. Prophylaxie sanitaire et/ou médicale

Les prophylaxies sanitaire et médicale sont utilisées conjointement ou séparément dans les plans de contrôle de la BVD, selon les situations épidémiologiques. La prophylaxie sanitaire repose sur la détection et l'élimination des animaux IPI et sur l'ensemble des mesures de biosécurité pour empêcher l'introduction de la maladie. La prophylaxie médicale repose sur la vaccination, le plus souvent en complément de la prophylaxie sanitaire.

1. Prophylaxie sanitaire

1.1. Identification et élimination des animaux IPI du troupeau

En général, les animaux IPI jouent un plus grand rôle dans la transmission du BVDV que les animaux transitoirement infectés, rendant ainsi leur identification et leur élimination importantes (Douart et Simon, 1997). Les veaux, les génisses de remplacement, les taureaux doivent être testés pour éliminer les IPI. Les vaches gestantes testées positivement doivent être isolées du troupeau jusqu'au moment où leur veau soit testé et ait un résultat négatif.

Le caractère « non IPI » est un caractère qui se conserve toute la vie de l'animal. Il est donc possible de le garantir afin de faciliter les échanges d'animaux en limitant les dépistages ultérieurs. Il s'agit d'une garantie à l'échelle individuelle, qui a donné naissance à un fichier d'animaux garantis non IPI, mais elle ne dispense pas la réalisation d'une quarantaine à l'entrée de ces individus, qui peuvent tout de même être infectés transitoires.

1.2. Prévention de l'introduction de l'infection dans le troupeau et biosécurité

Dans certains pays européens, comme le Danemark, la Suède, la Finlande et la Norvège, des mesures de contrôles systématiques ont été élaborées pour éradiquer l'infection. Des tests de détection du virus permettent d'assurer qu'aucun animal IPI ne participe aux encans ou aux foires, ou ne passe d'un troupeau à un autre (Houe et Lindberg , 2006). Les vaches gestantes séropositives doivent être isolées. Leurs progénitures doivent être testées pour le statut d'IPI, et la vente de tels animaux est à éviter. Pour éviter l'introduction d'animaux avec une forme aiguë de la maladie, les animaux nouvellement acquis doivent passer une période de quarantaine de 3 semaines avant d'intégrer le troupeau.

Les taureaux doivent passer des tests de détection du virus, et passer une période de quarantaine avant d'intégrer les centres d'insémination artificielle pour éviter la contamination du troupeau. En plus, des tests à intervalles réguliers des taureaux, pour la séroconversion et la détection du virus dans la semence, dans les centres d'insémination artificielle sont essentiels (Maillard et Chastant, 1999).

Concernant le pâturage commun ou les contaminations de voisinage et les élevages mixtes, l'exposition des bovins aux petits ruminants sauvages doit être limitée par des locaux séparés et des clôtures bien entretenues pour réduire les contacts avec les animaux ou les bovins du voisin qui peuvent être contaminé.

Enfin, des mesures d'hygiène strictes sur le matériel d'injection et d'insémination doivent être respectées afin d'éviter les risques liés à la contamination par les produits biologiques (sperme, embryon, vaccins, colostrum) ou à la contamination indirecte vectorielle (équipements, vêtements...) (Lars, 1997).

2. Prophylaxie médicale

2.1. Objectifs de la vaccination

La vaccination contre la BVD a plusieurs objectifs (Lindberg et Houe, 2005 ; Julia et Ridpath, 2013) :

- éviter l'apparition de formes cliniques en protégeant contre les infections transitoires.
- réduire l'excrétion virale, consécutive aux infections transitoires (même asymptomatiques) ou due à la formation d'IPI.

- empêcher, ou à défaut limiter, la naissance de nouveaux animaux IPI en protégeant le fœtus contre une infection transplacentaire en début de gestation par la vaccination des génisses avant leurs mise à la reproduction.

2.2. Vaccination

Les vaccins contre les virus de la diarrhée virale bovine sont disponibles depuis les années 1960, les vaccins actuellement disponibles sont soit des vaccins vivants modifiés soit inactivés. Ils peuvent être monovalents ou associés à d'autres valences virales et bactériennes.

La vaccination a été montrée efficace dans des conditions contrôlées (Deregt, 2005). Cependant, la vaccination comme une mesure de contrôle autonome n'a pas abouti à l'élimination de la maladie clinique BVD ou à la réduction significative des pertes de BVDV (Lindberg et Houe, 2005 ;Houe et al.,2006). Les raisons de cette incapacité ne sont pas liées aux qualités des vaccins disponibles, mais à l'hétérogénéité des souches de terrain de BVDV et à la capacité unique de BVDV à établir des infections persistantes.

Il convient également de noter que la vaccination n'est pas efficace à 100% dans chaque animal individuellement, mais il est efficace à l'échelle du troupeau. C'est-à-dire, la vaccination peut ne pas empêcher toutes les infections par le BVDV, mais elle réduit le nombre d'infections (Houe et al.,2006).

A. Vaccins vivants modifiés

Les vaccins actuellement disponibles dans cette catégorie contiennent généralement une souche de biotype CP atténuée par passages successifs sur des cultures cellulaires homologues ou mutées par thermosensibilisation (Ridpath, 2013). Ces vaccins présentent de nombreux avantages. En effet, la réponse humorale induite par les vaccins vivants modifiés est rapide, durable et ne nécessite qu'une injection de primovaccination (Bolin et al., 1995 ; Schelcher et al 2000). Cependant, ces vaccins représentent certains inconvénients, ils peuvent déclencher une maladie des muqueuses chez les IPI un à quatre semaines après vaccination. Ils représentent aussi un risque pour les femelles gravides dû à la réplication virale dans l'organisme. De ce fait, ils sont contre-indiqués durant les six premiers mois de gestation par crainte d'infection fœtale, bien que la formation d'IPI soit improbable puisque ces vaccins renferment des souches CP

dont la capacité à traverser la barrière placentaire est nulle (Leon et Potgieter, 1995 ; Julia et Ridpath, 2013).

B. Vaccins inactivés

Il s'agit habituellement de vaccins bivalents contenant une souche CP et une souche nCP avec un adjuvant qui renforce le pouvoir immunogène (Bolin et al., 1995; Ridpath, 2005). L'immunité induite par les vaccins inactivés est plus longue à se mettre en place et entraîne une protection de courte durée (parfois moins d'un an) (Schelcher et al., 2000). La primovaccination nécessite deux injections avec une manipulation supplémentaire des animaux et un coût augmenté. Leur efficacité en terme de protection fœtale a été prouvée par certains types de vaccin (Julia et Ridpath, 2013).

2.3. Immunité induite par la vaccination

Les deux réponses immunitaires humorale et cellulaire sont protectrices, la réponse humorale est plus facile à mesurer et le test de séroneutralisation est couramment utilisé pour mesurer les niveaux de la réponse immunitaire à la vaccination et d'évaluer l'immunité de troupeau.

Lors d'exposition naturelle au BVDV, la réponse en anticorps est détectable 2 à 3 semaines après l'infection et s'élève jusqu'à se stabiliser 10 à 12 semaines après l'exposition (Howard et al., 1992). Les titres de neutralisation virale, résultant de la vaccination avec le vaccin vivant modifié, sont généralement inférieurs à ceux résultant de l'exposition naturelle, mais suivent une courbe de développement et de décroissance similaires (Cortese et al., 1998).

La précipitation radioimmunologique montre que dans les infections naturelles ou après la vaccination avec un vaccin vivant modifié, la réponse immunitaire est dirigée essentiellement contre les protéines virales E2 et NS2/3 avec une réponse beaucoup plus faible contre les protéines virales Erns et E1 (Bolin et Ridpath, 1989 ; Ridpath, 2013). En revanche, suite à la vaccination avec un vaccin inactivé, la réponse immunitaire humorale est dirigée principalement contre E2 et la réaction contre la NS2 / 3, Erns et E1 a été largement réduite ou éliminée (Ridpath, 2013).

Les épitopes des lymphocytes T sont moins connus. Des études menées chez les veaux avec des niveaux élevés d'anticorps maternels ont été faites pour accéder à la contribution des réponses des lymphocytes T à la protection (Endsley et al., 2004). Ces études ont démontré que

les réponses des cellules T étaient protectrices en l'absence de réponses humorales mesurables et que la vaccination avec un vaccin vivant modifié, mais pas le vaccin tué, ont donné lieu à une activation spécifique des sous-populations de lymphocytes T (CD4, CD8 et cellules T gamma delta). Bien que la vaccination avec un vaccin à ADN en utilisant des séquences codant pour E2 (Nobiron et al., 2003) et NS3 (Young et al., 2005) induit des réponses de cellules T, ce qui indique que les epitopes de lymphocytes T existent dans ces protéines.

Etude bibliographique de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR)

I. Historique

La vulvovaginite infectieuse pustuleuse (IPV) est une maladie vénérienne du bétail dont la première description en Europe a été faite en Allemagne en 1894. La maladie a été décrite pour la première fois aux États unis, en 1895 (Pastoret et al., 1982). Son étiologie virale est démontrée en 1928 par Reisinger et Reinmann (Greig et al., 1958). L'isolement du virus est réalisé 30 ans plus tard (Daubney et al., 1938).

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) a été décrite pour la première fois dans les années 1950 (Schroeder et al., 1954 ; Miller, 1955), comme une maladie affectant le tractus respiratoire de bétail dans les unités d'engraissement dans l'Ouest des États Unis. L'isolement du virus responsable est réalisé en 1956 (Madin et al., 1956). Dans un premier temps, il fût appelé *bovid herpesvirus 1* (Pastoret et al., 1982), puis fut renommée *bovine herpesvirus 1* (Roizmann et al., 1992). Par la suite et sur la base de profils de restriction enzymatique, les souches de BHV1 ont été classées en 2 sous-types : le sous-type 1 auquel appartient la plupart des souches isolées du tractus respiratoire et le sous-type 2 qui comprend la majorité des isolats génitaux (Engels et al., 1982).

II. Etiologie

1. Taxonomie

Le virus responsable de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR) est l'Herpèsvirus Bovin de type 1 (BHV1). Il appartient à la famille des Herpesviridae, sous famille des Alphaherpesvirinae et au genre *Varicellovirus* (Davison et al, 2009).

La famille des Herpesviridae se décompose en trois sous familles : alpha, bêta et gamma Herpesvirinae, ces trois sous-familles ont été créées suivant des critères biologiques tels que le site de latence dans l'organisme, la vitesse de multiplication ou le spectre d'hôtes (Roizman et Baines, 1991). L'arrivée de la biologie moléculaire a parfois bouleversé cette classification, comme le BHV5 qui était autrefois un sous-type du BHV1.

L'alpha herpesvirinae est caractérisée par un cycle de réplication court (moins de 24h), un spectre d'hôte large et provoque en général une destruction rapide des cultures cellulaires. Ils

ont la capacité d'établir des infections latentes principalement, mais pas uniquement, dans les ganglions sensitifs innervant la région où a lieu l'infection primaire (Pellet et al., 2007).

Le BHV1 comprend trois sous-types BHV1.1, BHV1.2a et BHV1.2b différenciables par des analyses de restriction enzymatique ou par liaison avec des anticorps monoclonaux (Engels et al., 1981). Chaque sous-type possède des propriétés antigéniques caractéristiques et des pathologies associées : - le sous-type BHV1.1 est responsable principalement de la forme clinique respiratoire - le sous-type BHV1.2 est responsable principalement de la forme clinique génitale (vulvovaginite infectieuse pustuleuse (IPV), balanoposthite infectieuse pustuleuse (IPB)) (Thiry et al., 2002), et est lui-même divisé en deux sous-types BHV1.2a et BHV1.2b, ce dernier ne présentant pas la capacité de provoquer des avortements. Cependant, cette distinction BHV1.1/BHV1.2 ne correspond pas exactement à la distinction forme respiratoire / forme génitale. Dans la plupart des cas, mais pas la totalité, BHV1.1 est isolé dans le tractus respiratoire et BHV1.2 dans le tractus génital.

1.1. Infection croisée

Les α herpesvirus sont proches sur le plan antigénique et génétique. La sérologie ne permet pas de faire la distinction entre ces virus à cause des réactions croisées. Des études expérimentales ont mis en évidence que ces α herpesvirus étaient capables de franchir la barrière d'espèce et d'établir une infection chez une autre espèce que l'espèce cible (Keuser et al., 2004). Différentes études ont montré l'existence d'infections croisées chez des ruminants domestiques et sauvages par BHV1 et les bovins pourront également s'infecter par d'autres α herpesvirus tels que CapHV1, CerHV2 ou BHV5.

De ce fait, les conséquences des infections croisées de ruminants par les alphaherpesvirus sur le dépistage de l'IBR sont de plusieurs ordres :

- dépistage des ovins et caprins infectés par le BHV1, sources potentielles de transmission virale, dans le cas des élevages mixtes bovins/ovins ou bovins/caprins.
- dépistage des bovins infectés par CapHV1, CerHV2 ou BHV5, responsables de réactions croisées positives dans le cas du dépistage de l'IBR par sérologie.

1.2. Présentation du virion

A. Morphologie

Le virus BHV1 possède une structure caractéristique des herpesvirus. La particule virale est sphérique et mesure entre 150 et 250 nm. Le virion est composé d'une molécule d'ADN bicaténaire enroulée autour d'une bobine fibrillaire et fixée à ses extrémités à la face interne de la nucléocapside icosaédrique, composée de 162 capsomères (150 hexamères et 12 pentamères), mesurant 100 nm. Cette dernière est entourée d'un tégument, composé de protéines qui jouent un rôle important dans le cycle viral des herpesvirus. Il est lui-même entouré par une enveloppe phospholipidique, qui comprend les glycoprotéines de surface : les spicules (Figure 15) (Thiry et al., 2006).

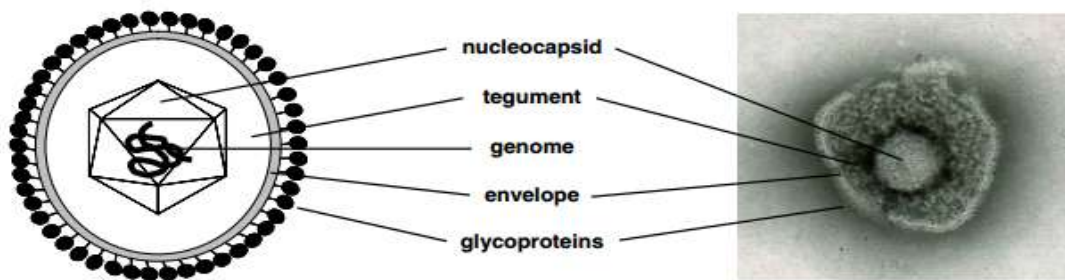
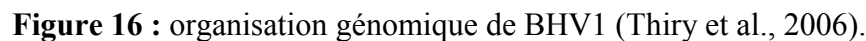


Figure 15 : Structure du virus BHV1 (Thiry et al., 2006).

B. Génome

Le génome BHV1 est constitué d'un ADN double brin linéaire, avec une taille de 136 kpb qui est composé de soixante-treize cadres de lecture ouverte (Glazov et al., 2010), un poids moléculaire de 95 à 150 x 10⁶ Daltons (Da) et une teneur en GC de 75% (Nandi et al, 2009).

Le génome des herpesvirus est classé en 6 groupes de A à F en fonction de son arrangement génomique terminal et de ses séquences répétées internes. Le génome BHV1 appartient au groupe D (Roizman et Knipe, 2001). Il est composé d'une séquence unique courte (US), une séquence unique longue (UL) séparées par une séquence répétée interne (IR). Le génome est terminé par une séquence répétée terminale (TR) (Schwyzer et Ackermann, 1996 ; Thiry et al., 2006 ; Muylkens et al., 2007), comme présenté dans la Figure 16 (Glazov et al., 2010).



Le génome viral comprend environ 70 gènes, qui codent pour au moins dix glycoprotéines. Six de ces gènes sont situés dans la région UL est codé : gK, gC, gB, gH, gM, gL et quatre se trouvent dans la région US : gG, gD, gI, gE (Turin et al., 1999).

Les glycoprotéines de BHV1 sont classées en deux catégories : les glycoprotéines essentielles gB, gD, gH, gK et gL et non essentielles gC, gG, gM, gI et gE. Les glycoprotéines essentielles sont indispensables à la réalisation du cycle de multiplication virale. Un virus présentant une délétion d'un gène codant une glycoprotéine essentielle n'est donc pas viable, alors que dans le cas d'une délétion d'un gène codant une glycoprotéine non essentielle, la capacité de multiplication du virus n'est que peu affectée (Schwyzer et Ackerman, 1996 ; Thiry et al., 2006). Il est classé également en deux catégories en fonction de leur quantité sur l'enveloppe du virion et donc de leur pouvoir immunogène en glycoprotéines majeures nommées gB, gC et gD et en glycoprotéines mineures nommées gE, gG, gH, gI, gK, gL et gM (Baranowski et al., 1996).

55

al., 1996). Ainsi, les Anticorps Anti-gB sont utilisés pour effectuer les tests ELISA, en routine, pour le diagnostic de l'IBR.

2. Propriétés physico-chimiques

Les herpèsvirus sont enveloppés, ce qui les rend sensibles aux détergents qui détruisent l'enveloppe phospholipidique externe : dérivés phénoliques, éther, chloroforme, ammoniums quaternaires, formol (Thiry et al., 2002 ; Callan et al., 2004). L'inactivation virale dépend par ailleurs de la température, du pH, de la lumière et de l'humidité relative.

Le BHV1 survit plus longtemps aux températures froides qu'aux températures chaudes. Ainsi, il peut survivre pendant un mois dans le milieu extérieur en hiver, 6 à 13 jours dans un bâtiment alors qu'il survit 5 à 9 jours dans un bâtiment à 37°C (Straub, 2001).

Le virus est sensible aux pH inférieurs à 4 et supérieurs à 10 (Straub, 2001).

Le virus est détruit par les UV, ainsi que par l'action combinée d'agents photosensibilisants et de la lumière (Bielanski et al., 1992).

Le virus est plus résistant à une humidité relative de 90% qu'à une humidité de 35% (Wentink et al., 1993).

Les virions semblent donc peu résistants dans le milieu extérieur, surtout à de fortes températures. C'est pour cela qu'il y a plus de contaminations lors de la saison froide, avec une transmission virale de proche en proche et une prédominance de la contamination par contact direct.

3. Cycles infectieux

Les herpèsvirus sont capables de suivre deux types de cycle en fonction des conditions de l'infection. Le cycle lytique assure la multiplication virale tandis que le cycle latent permet une pérennité virale et une infection à vie (Franco et Roehre, 2007).

3.1. Cycle lytique

Le cycle lytique survient lors de la pénétration du virus dans l'hôte (épithélium et les tissus sous-jacents) et probablement aussi dans les neurones avant la mise en place de latence et au cours de la réactivation d'une infection latente (Franco et Roehle, 2007).

La réplication virale de BHV1 dans les cellules cibles passe par plusieurs étapes (figure 18). 1) l'adsorption, 2) la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique des cellules et pénétration du téguement, la nucléocapside dans le cytoplasme des cellules infectées, 3) le transport de la nucléocapside et du téguement dans le noyau des cellules infectées, 4) la transcription, la réplication de l'ADN et la synthèse des protéines virales, 5) l'assemblage de la capsid et la libération de virion (Roizman et Knipe, 2001).

A. Adsorption

Les glycoprotéines d'enveloppe virale reconnaissent et se lient à des récepteurs spécifiques de la membrane cellulaire. Les principales glycoprotéines impliquées dans les cellules épithéliales des processus d'adsorption sont les gC et gB, qui reconnaissent et se lient au récepteur cellulaire pour le sulfate d'héparine. Il s'agit d'une fixation faible suivie de la liaison forte de gD à d'autres récepteurs membranaires (Wild et al., 1998).

B. fusion et pénétration

Au moins cinq glycoprotéines sont impliquées dans le processus de fusion et de la pénétration virale aux cellules cibles : gB, gD, gH, gL et gK (Babiuk et al, 1996 ; Meyer et al., 1998). Dans cette étape, le téguement et nucléocapside sont libérés dans le cytoplasme de la cellule, où ils sont transportés vers le noyau.

C. Transport

La nucléocapside est transportée grâce à l'action de la glycoprotéine VP22, qui est responsable de la réorganisation des microtubules associés à un complexe moteur de dynéine (Roizman et Knipe, 2001). La décapsidation se réalise au niveau du pore nucléaire, puis il en résulte la libération de l'ADN viral dans le noyau, cet ADN viral se circularise alors immédiatement. Il est alors transcrit et répliqué.

D. Transcription, réplication et synthèse

Les procédés de transcription et de réplication de l'ADN viral se produisent dans le noyau des cellules infectées, tandis que la synthèse de protéine virale se produit dans le cytoplasme. Les protéines du tégment viral sont libérées dans le cytoplasme de la cellule infectée, où elles interagissent avec les éléments cellulaires. La VP8 est la protéine la plus importante en quantité, elle provoque une baisse rapide de la synthèse des protéines propres à la cellule infectée. La protéine VP16, aussi appelée α TIF (Trans Inducing Factor of α genes) entre dans le noyau et active l'expression des gènes IE (Immediately Early) (Misra, 1995). Il existe deux unités de transcription des gènes IE : IEu1 qui code pour BICP0, BICP4 et Circ, et IEu2 qui code pour le BICP22 (Jones et Chowdhury, 2007). Le BICP0 active tous les promoteurs du génome viral, il a donc un rôle très important dans la multiplication virale (Jones et Chowdhury, 2007).

Au niveau moléculaire la réplication du génome des Herpèsvirus est régulée en trois phases (Reed et Toribio, 2004)

- Une phase très précoce : avec transcription des gènes IE (IE pour Immediate Early) codant des protéines activatrices. La cellule-hôte passe alors en phase de synthèse et apporte au virus tout ce dont il a besoin pour se répliquer et activer la seconde phase.
- Une phase précoce : avec transcription des gènes E (E pour Early) codant des protéines enzymatiques dont une ADN polymérase virale, une thymidine kinase, des protéines de reconnaissance et de liaison. Grâce à ces protéines, le virus peut se répliquer et activer les gènes de structure.
- Une phase tardive : avec transcription des gènes L (L pour Late) codant des composants protéiques de la capside et des glycoprotéines de l'enveloppe.

La régulation de ces gènes se fait en cascade (figure 17), dès lors qu'un groupe de gènes est activé, il déclenche à son tour l'activation du groupe suivant et exerce un rétrocontrôle négatif sur le précédent (Reed et Toribio, 2004).



Figure 17 : gènes intervenant dans le cycle réplcatif des Herpesvirus d'après (Bandel, 2007).

L'ADN viral se réplique par un mécanisme de cercle roulant « rolling-circle ». Ceci génère des concatémères, structures complexes composées d'unités génomiques se suivant en tête à queue.

Ces intermédiaires de réplifications sont clivés en unités génomiques puis intégrés à l'intérieur des capsides néoformées (Muylkens et al., 2007).

D. Assemblage de la capside

Les capsides contenant l'ADN acquièrent leur tégument puis bourgeonnent à la face interne de la membrane nucléaire ensuite ils migrent dans la lumière du réticulum endoplasmique, acquérant de ce fait une enveloppe supposée contenir les précurseurs des protéines d'enveloppe virale (Roizman et Knipe, 2001).

E. libération

Le passage des virions enveloppés de la lumière du RE vers la surface cellulaire n'est pas bien compris ; deux mécanismes sont décrits chez les herpèsvirus. Le premier modèle, le plus probable, est celui de l'enveloppement-désenveloppement (voir figure 18 : 19a, 19b, 19c, 19d). Dans ce modèle, les virions enveloppés fusionnent avec la membrane du RE, relarguant de ce fait des capsides libres dans le cytoplasme. Ces capsides bourgeonnent dans des vésicules golgiennes aux dépens desquelles se fait l'enveloppement définitif (Granzow et al., 2001 ; Mettenleiter, 2002).

Dans le second modèle, les virions enveloppés présents dans la lumière du RE sont incorporés dans une vésicule de transport et délivrés aux compartiments golgiens (voir figure 18 : 20a, 20b, 20c, 20d). Selon ce modèle, les protéines virales d'enveloppe seraient modifiées à la surface des virions. Les virions enveloppés sont enfin libérés par exocytose (Mettenleiter, 2002).

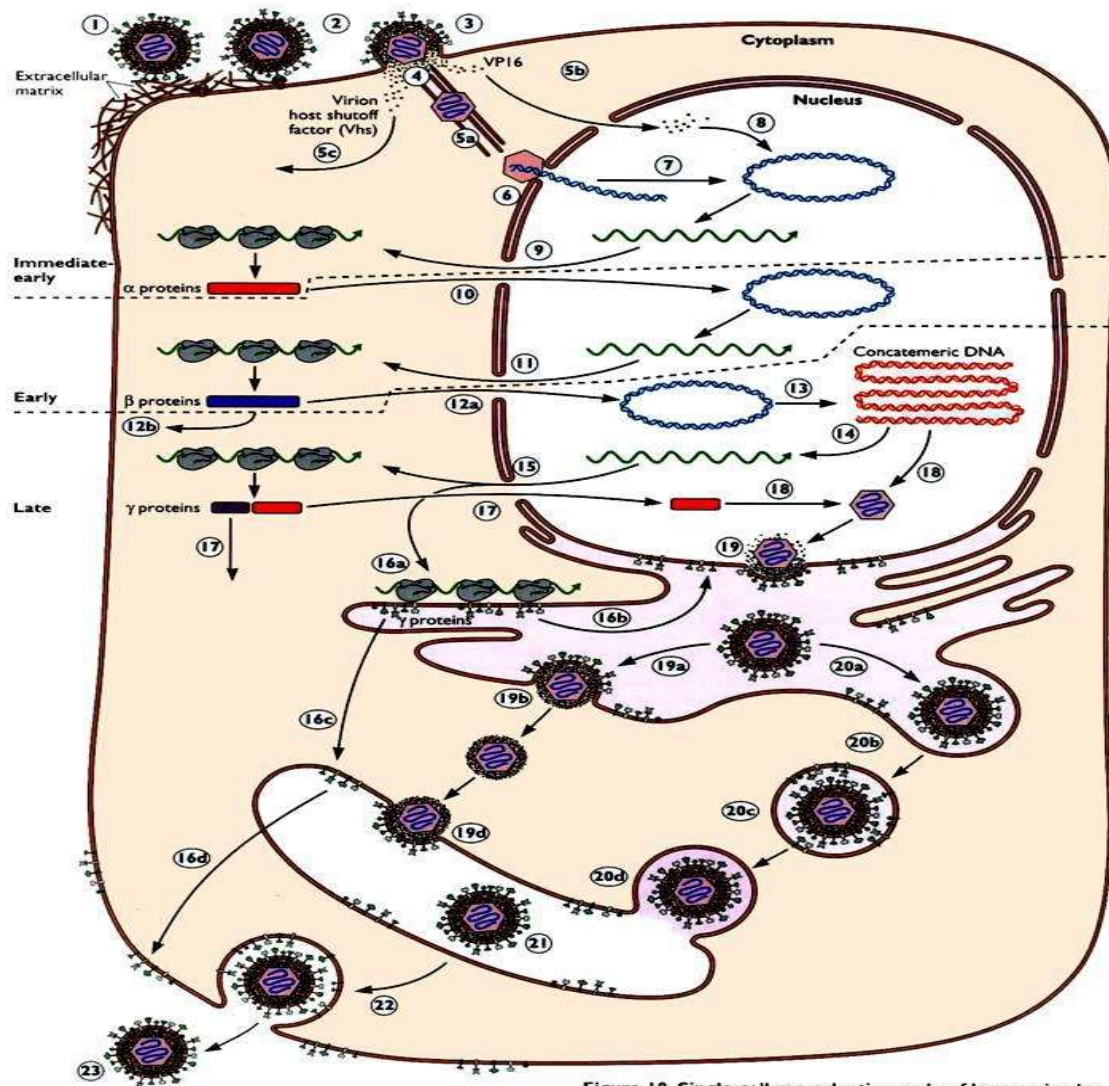


Figure 18 Single-cell reproductive cycle of herpes simplex virus type 1.

Figure 18 : cycle lytique de l'Herpesvirus d'après Flint et al.,2000.

3.2. Cycle latent

L'une des caractéristiques les plus importantes de la famille de Herpesviridae se réfère à la capacité à établir des infections latentes (Thiry et al., 2005). Le terme de latence fait référence à la persistance du virus dans l'organisme hôte en mode silencieux.

Une infection latente est établie principalement dans les neurones des ganglions sensitifs et autonomes des animaux infectés (Thiry et al., 2005; Franco et Roehle, 2007). Les principaux sites de latence sont les ganglions trigéminaux quand il y a des infections respiratoires et les ganglions sacrés quand il y a des infections génitales (Jones, 2003). Toutefois, chez les bovins

infectés de manière latente par BHV1, l'ADN viral a été trouvé dans les centres germinatifs des amygdales pharyngiennes (Winkler et al., 2000), cellules du sang périphérique (Fuchs et al., 1999), les ganglions lymphatiques et de la rate (Mweene et al., 1996).

Le virion pénètre et circule dans la cellule hôte de la même façon que pour le cycle lytique. Néanmoins, l'expression des gènes de BHV1 est restreinte au seul gène LR (Latency Related) ou locus LAT (late associated transcripts) (Inman et al., 2001). Le génome en latence est un élément nucléaire circulaire extra chromosomique qui s'associe à des protéines, histones de la cellule hôte. Sous cette forme d'épisome, la réplication de l'ADN ne se produit pas. L'expression virale dans les cellules infectées de manière latente est sévèrement diminuée (figure 19).

Le résultat de cette expression du gène LR est l'inhibition du cycle lytique et l'induction d'un état anti-apoptotique des cellules infectées (Henderson et al., 2004, Nandi et al., 2010). Ainsi, les particules virales infectieuses ne sont pas produites pendant l'infection latente, ce qui empêche la détection du virus au moyen de procédés virologiques usuels (Engels et Ackermann, 1996).

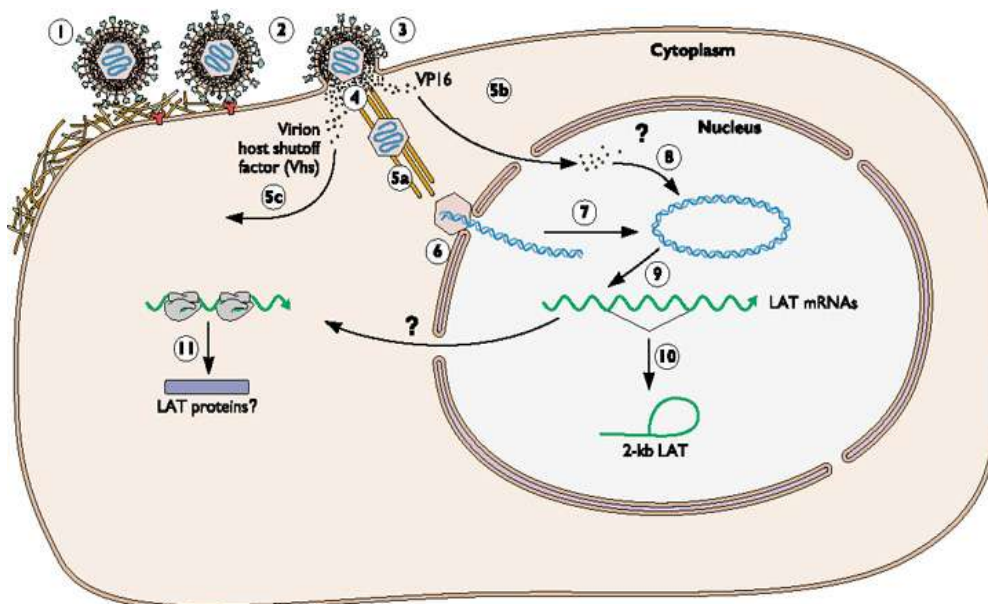


Figure 19 : cycle latent de l'Herpesvirus d'après Flint et al.,2000.

4. Pathogénie

Lorsqu'un animal est atteint par la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR), la progression de la maladie peut être décrite par différentes étapes : l'infection, les symptômes, la réponse immunitaire, la disparition de la virémie et la réactivation du virus. Ces différents points seront traités plus profondément dans les pages suivantes.

4.1. Infection primaire

La voie d'entrée principale du BHV1 est la voie respiratoire, par l'intermédiaire de l'épithélium des cavités nasales et de l'oropharynx. Il se transmet également par voie génitale. Une même souche de virus peut donner différentes infections selon sa voie de pénétration (Allan et al., 1975 ; Muylkens et al., 2003). Le BHV1 peut se transmettre aussi par voie conjonctivale (Van Oirschot et al., 1996).

4.2. Multiplication locale et excrétion virale

Le virus se multiplie au niveau du site d'infection : dans les cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur et dans le tractus génital (Engels et Ackermann, 1996). Le BHV1 réalise un cycle lytique infectieux qui conduit à la production de nouveaux virions et à la mort de la cellule par nécrose ou apoptose, ce qui prédispose à une invasion bactérienne secondaire.

Le virus est excrété à des titres très élevés dans le mucus nasal. L'excrétion débute dès l'infection de l'animal. La période d'excrétion primaire correspond à une forte dissémination du virus dans le milieu extérieur, elle dure entre 10 et 16 jours, avec un pic d'excrétion entre le 4^{ème} et 6^{ème} jour après l'infection (thiry et al., 1999).

Lors de primo-infection, une réponse immunitaire non spécifique se met en place. Dès le 5^{ème} jour après infection, une immunité cellulaire spécifique débute. Elle atteint un pic en 7 à 10 jours (figure 22), ce qui coïncide avec la diminution de l'excrétion virale et la guérison (Ciacci-Zanella et al., 1999) (figure 20).

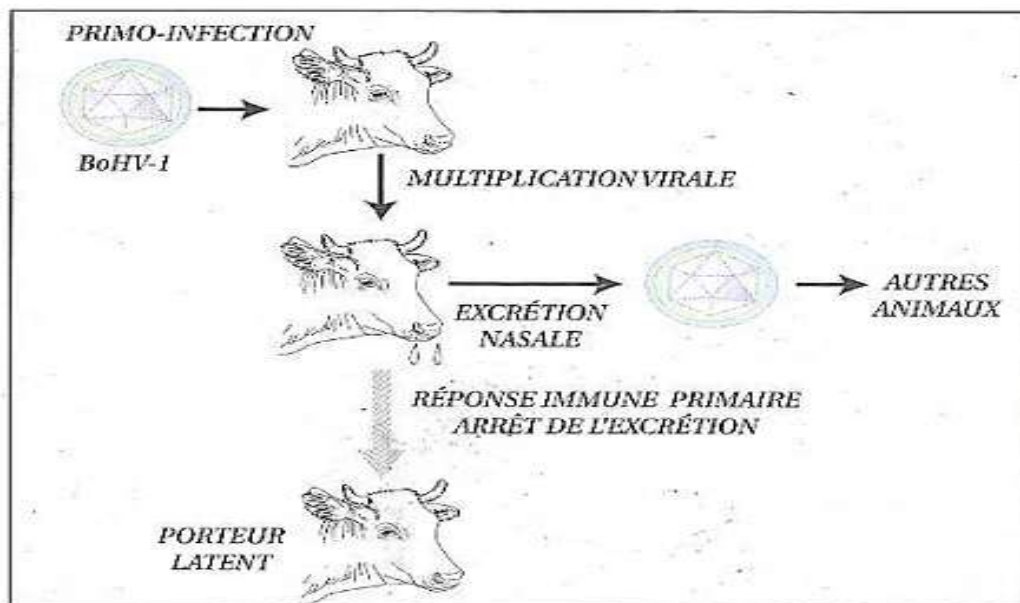


Figure 20 : description d'une primo-infection par BHV1 jusqu'à l'établissement de l'état latent (thiry et al.,1999).

Un bovin en primo-infection peut donc contaminer de nombreux autres bovins. C'est donc le point de départ de la diffusion de l'infection dans le troupeau, mais également de la dissémination du virus dans l'organisme hôte (Muylkens et al.,2007).

4.3. Dissémination du virus dans l'organisme hôte

A partir des muqueuses, le virus peut se propager dans l'organisme selon trois processus : la dissémination locale, le sang et le système nerveux (Muylkens et al.,2007).

A. Dissémination locale

Les virions de BHV1 nouvellement formés ont deux possibilités pour disséminer au niveau des muqueuses infectées. Les virions peuvent être libérées dans le milieu extracellulaire lors de la lyse de la cellule dans laquelle le virus s'est multiplié, puis s'attacher à de nouvelles cellules-cibles grâce à leur glycoprotéine d'enveloppe, comme lors de l'entrée dans l'organisme. Ce mode de transmission intervient au niveau des sites d'infection locale : tractus respiratoire supérieur, tractus génital ou encore les yeux. Mais les virions du BHV1 sont capables comme les autres herpesvirus, de se propager directement d'une cellule infectée à une cellule voisine non infectée sans passer dans le milieu extracellulaire. Cela lui permettant d'échapper au système immunitaire de l'organisme, notamment aux anticorps neutralisants (Rebordosa et

al.,1996 ; Muylkens et al.,2007). Ces derniers jouent un rôle primordial lors de la réactivation d'un virus à l'état latent chez l'animal immunisé (Meyer et al.,2000).

B. Dissémination par voie sanguine

Lors de la lyse des cellules infectées, une partie des virions relâchés dans le milieu extracellulaire gagne le sang provoquant une virémie transitoire où le virus est associé aux cellules mononuclées sanguines qui peut contaminer d'autres organes et causer d'autres manifestations cliniques. Par exemple, l'avortement chez les vaches gravides (Miller et al.,1991) ou une infection systémique fatale chez de très jeunes veaux séronégatifs (Kaashoek et al.,1996).

C. Dissémination par voie nerveuse

La muqueuse du nasopharynx est innervée par six principaux nerfs. Parmi eux, le nerf olfactif et le nerf trijumeau innervent la muqueuse nasale. La partie rostrale de la cavité nasale est innervée uniquement par le nerf trijumeau, alors que la partie caudale portant l'épithélium olfactif est innervée à la fois par le trijumeau et le nerf olfactif. Le virus BHV1 utilise préférentiellement la voie du trijumeau pour gagner le ganglion trigéminé (Muylkens et al.,2007).

Le virus pénètre dans le nerf périphérique au niveau des terminaisons nerveuses. Il est ensuite transporté par voie rétrograde le long des axones, jusqu'au ganglion régional correspondant : le ganglion trigéminé pour une infection de l'appareil respiratoire, le ganglion sacré pour l'infection au niveau génital où il s'installe à l'état latent (Engels et Ackermann,1996 ; Muylkens et al., 2003).

4.4. Etablissement de la latence

Après sa réplication dans les muqueuses nasales, le BHV1 pénètre dans les terminaisons nerveuses des nerfs sensitifs de la cavité nasale et remonte le long des axones jusqu'au corps cellulaire du neurone infecté, situé dans le ganglion trigéminé (Muylkens et al., 2007). Il reste alors en latence. Lors de la phase de latence, il est mis en évidence la formation d'un infiltrat inflammatoire chronique de cellules mononuclées dans le ganglion trigéminé. Il produit des facteurs de régulation de l'équilibre entre latence et réactivation : des cytokines. En cas de rupture de cet équilibre entre facteurs viraux, facteurs cellulaires et cytokines, il y a réactivation

du virus. Un faible niveau de réactivation spontanée permanente du virus maintient cet infiltrat en activité (Winkler et al., 2002).

A. Rôles du gène LR dans la latence

L'étude de l'expression des gènes viraux au cours de la latence a révélé que durant cette période seul le gène LR (Latency Related) est transcrit. Le produit de ce gène est une protéine localisée dans le noyau de la cellule infectée (Jiang et al., 1998). Le gène LR possède plusieurs propriétés (Inman et al., 2007).

Le gène LR inhibe l'expression du gène BICP0, la prolifération cellulaire et l'apoptose (Lovato et al, 2003; Jones et al., 2006) :

- inhibition de l'expression du gène BICP0 (Geiser et al., 2002). Le gène LR est anti-sens du gène BICP0 et le chevauche, Or BICP0 est un transactivateur pour tous les promoteurs viraux. De ce fait, l'expression de l'ARN du gène LR en quantité élevée dans les neurones sensitifs réduit systématiquement l'expression du gène BICP0, par conséquent, empêche la multiplication virale et permet l'établissement de la latence. La synthèse de la protéine LR n'est pas indispensable à ce fonctionnement (Geiser et al., 2002).

- inhibition de l'apoptose par suppression du clivage des caspases 3 et 9 (Henderson et al., 2004). L'expression du gène LR BHV1 seul favorise la survie des cellules dans des cultures cellulaires stimulées à entraîner la mort cellulaire programmée (Ciacci-Zanella et al., 1999).

- inhibition de la prolifération cellulaire : la protéine LR BHV1 semble empêcher la progression du cycle cellulaire dans les neurones, avec une survie accrue des neurones infectés (Schang et al., 1996). Pour se faire elle interagit avec des protéines de régulation du cycle cellulaire : les cyclines. Le produit du gène LR interagit avec les complexes cdk-cyclines, bloquant ainsi leur fonction et empêchant le déroulement du cycle cellulaire (Jiang et al., 1998). De plus l'infection d'un neurone par le BHV1 induit la synthèse de cycline A en quantité importante (Winkler et al., 2000). Cette protéine permet l'entrée de la cellule en phase S du cycle cellulaire (phase de réplication de chromosome), elle peut également induire l'apoptose du neurone lorsqu'elle est synthétisée de façon inappropriée. La protéine LR interagit avec la cycline A pour bloquer son action et empêcher l'apoptose du neurone infecté. Les produits du gène LR doivent également

empêcher la progression du cycle cellulaire ou l'apoptose du neurone en cas d'échec de réactivation et/ou permettre à la réactivation d'être complète en empêchant la mort prématurée du neurone. Pour que BHV1 persiste dans l'animal infecté, il est plus intéressant que les neurones survivent à plusieurs épisodes de réactivation (Schang et al., 1996).

4.5. Réactivation et réexcrétion

Le virus BHV1 peut sortir de sa latence jusqu'à plusieurs années après l'infection primaire, suite à divers stimuli. Après réactivation, il y a synthèse de nouveaux virions dans le site de latence (Winkler et al., 2000). Les particules virales migrent le long des axones vers la périphérie, sortent du neurone et gagnent l'épithélium par lequel elles étaient entrées. Il peut alors y avoir réexcrétion virale et transmission à d'autres individus, selon l'immunité de l'hôte. De même, l'expression de signes cliniques n'est pas systématique, ils sont le plus souvent frustes ou inapparents (figure 21) (Thiry et al., 1997 ; Callan et Metre Van, 2004). La seule conséquence détectable est une augmentation du titre en anticorps spécifiques dans le sérum sanguin (Thiry et al., 1999).

Cette réactivation peut être provoquée par différents stimuli stressant tels qu'un transport ou un changement d'environnement, la parturition, une maladie intercurrente, ou encore un traitement à la dexaméthasone (Rock et al., 1992 ; Thiry et al., 2006).

Tous ces événements induisent une augmentation de la concentration du cortisol endogène dans le sang (Thiry et al., 1997). Les corticoïdes sont des régulateurs de l'expression des gènes cellulaires et viraux, et ont un rôle immunosuppresseur. Ce sont ces deux actions qui permettent la réexcrétion du virus car le cyclophosphamide, un immunosuppresseur, n'a pas d'action sur la réactivation (Pastoret et al., 1980). Ils sont tellement efficaces pour permettre la réactivation virale qu'ils sont utilisés pour tester les animaux susceptibles d'être porteurs latents. Des injections quotidiennes de 0,1 mg/kg pendant 5 jours permettent de tester ces animaux.

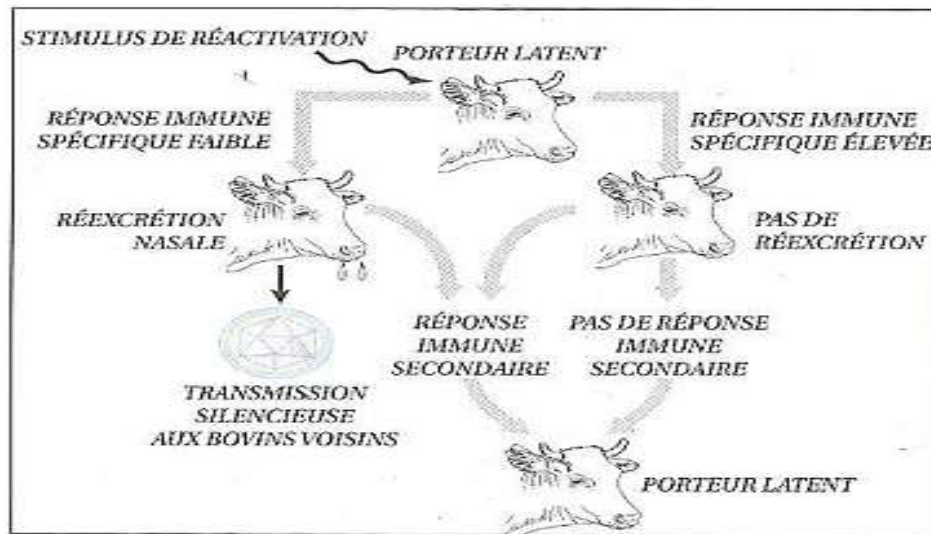


Figure 21 : Conséquences de la réactivation du BHV1 (Thiry et al., 1999).

5. Pouvoir immunogène

En réponse à l'infection par le BHV1, l'animal développe une réponse immunitaire non spécifique qui se caractérise par la sécrétion de cytokines précoces. Ensuite, il y a la mise en place de la réponse immunitaire spécifique, cellulaire puis humorale (figure 22 et 23). C'est la réponse spécifique qui permet au bovin de surmonter l'infection et d'arrêter l'excrétion virale primaire (Thiry et al., 1997).

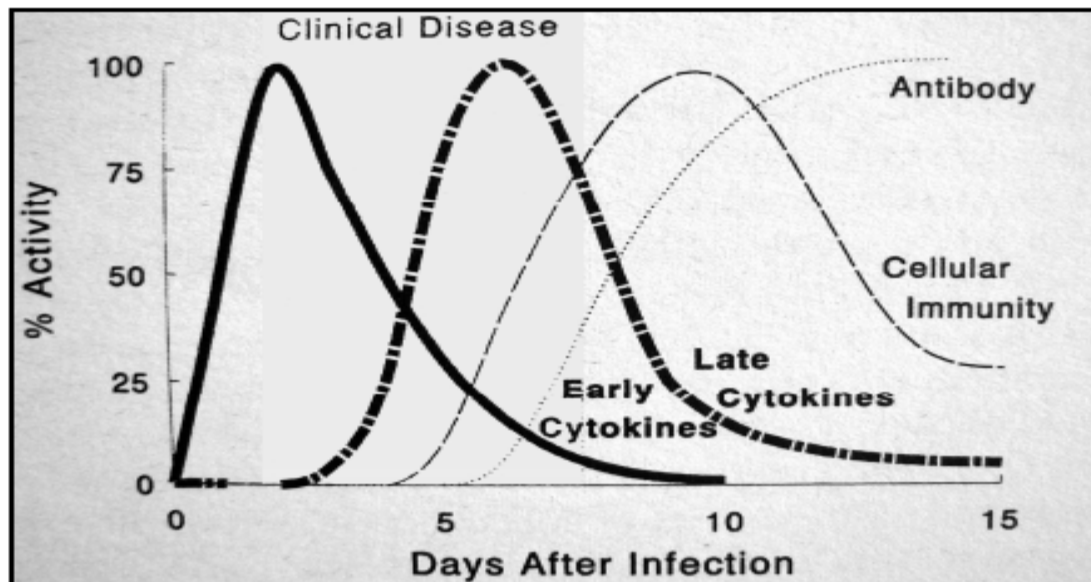


Figure 22 : Organisation de la réponse immunitaire face à une infection par le BHV1 (Babiuk et al., 1996).

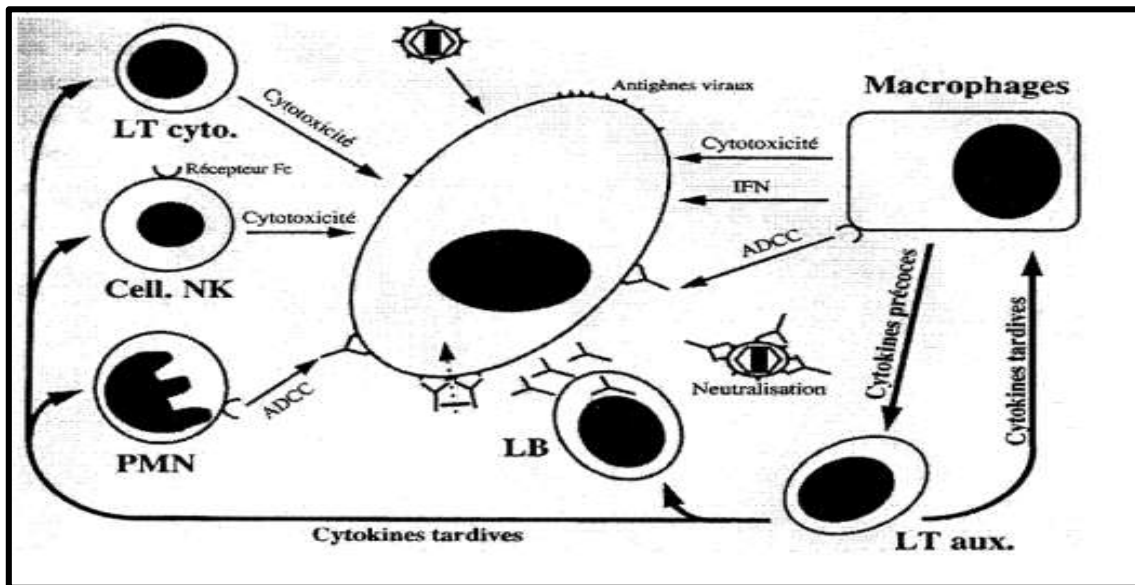


Figure 23 : Réponse immunitaire de l'organisme face à une infection par le BHV1 (Denis et al., 1994).

En général, la réponse immune à médiation cellulaire connaît un pic d'activité entre 7 et 10 jours après l'infection. A ce moment-là, les signes cliniques sont terminés, la guérison est amorcée et la production d'anticorps est faible. C'est donc la réponse cellulaire, spécifique et non spécifique, qui est prépondérante pour le bovin dans sa lutte contre le BHV1 lors d'une primo-infection.

5.1. Réponse immunitaire non spécifique

La réponse immunitaire non spécifique est réalisée par les Polynucléaires Neutrophiles (PNN), les macrophages, les cellules Natural Killers (NK), les fibroblastes, le complément, les interférons et d'autres facteurs qui limitent l'attachement du virus aux cellules de l'épithélium respiratoire (Denis et al., 1994).

A. Interféron et cytokines

Suite à l'infection virale, il y a sécrétion rapide de cytokines précoces. L'interféron α et l'interféron β sont synthétisés par les macrophages et les fibroblastes 5 jours après l'inoculation virale. Cette synthèse est induite par la réplication virale et le recrutement des macrophages sur le site de l'infection primaire. Le pic de production s'établit entre 36 et 72 heures suivant l'infection et reste élevé jusqu'à l'arrêt de la multiplication virale (Van Drunen et al., 1994). Les

cytokines peuvent être isolées du mucus nasal et ont comme action de recruter et d'activer les leucocytes, stimuler la phagocytose et l'activité cytotoxique des cellules immunitaires ainsi que la production de radicaux libres.

B. Polynucléaires neutrophiles

Les cytokines précoces pro inflammatoires, tel que l'interleukine 1 β , le TNF α (tumor necrosis factor) et l'interféron α induisent un syndrome fébrile et une réaction inflammatoire observée rapidement après l'infection par le BVH1 (Allemand, 1998). Elles sont libérées par les macrophages alvéolaires et les cellules épithéliales pulmonaires et elles sont à l'origine de l'infiltration massive des poumons par des polynucléaires neutrophiles dans les 24 à 48 heures post-infection. Elles induisent également l'expression de molécules d'adhésion intracellulaires (ICAM-1) sur les cellules endothéliales, permettant l'adhésion des leucocytes à la surface de ces dernières (Rivera-Rivas et al., 2009). La principale action de PNN est la cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC), mais aussi l'opsonisation et la synthèse d'un interféron tardif, rendant les cellules résistantes à l'infection (Denis et al., 1994).

C. Macrophages

Des cytokines précoces (Il 1, Il 6) induisent la production par les cellules du parenchyme pulmonaire et les lymphocytes, des facteurs stimulants les colonies de macrophages et de granulocytes. Cela participe à la différenciation des macrophages dès 24 heures post-infection. Ils sont alors capables de lyser les cellules infectées par le BHV1 (Denis et al., 1994).

De plus, les lymphocytes T produisent une semaine après l'infection, une cytokine tardive, l'interféron γ . Celui-ci provoque un recrutement important des macrophages qui participent à limiter la réplication virale, avant l'apparition des anticorps (Denis et al., 1996).

D. Cellules Natural Killer (NK)

Les cytokines tardives comme l'interleukine-2 et l'interféron- γ , activent les cellules Natural Killer. Elles tuent spécifiquement les cellules infectées (Babiuk et al., 1996).

5.2. Réponse immunitaire spécifique

A. Réponse immunitaire spécifique à médiation cellulaire

Suit à l'établissement précoce de la réponse immunitaire non spécifique, la réponse immunitaire à médiation cellulaire est mise en place 7 à 10 jours après l'infection. Elle est principalement médiée par les macrophages, les cellules NK, les polynucléaires neutrophiles et les lymphocytes Th1 et Th2. Cette réponse immunitaire limite la propagation virale en lisant les cellules infectées, tout en étant modulée par l'expression de cytokines tardives produites par les LT (Babiuk et al., 1996).

Les glycoprotéines virales gB, gC et gD, qui sont les glycoprotéines majeures d'enveloppe, déclenchent la réponse immunitaire spécifique et en sont les cibles. Suite à la reconnaissance de ces antigènes associée au complexe majeur d'histocompatibilité de classe II par les LT auxiliaires, ces derniers produisent des cytokines tardives parmi eux l'IL-2 qui assure la prolifération lymphocytaire et l'activation des cellules cytotoxiques, et l'INF γ qui induit l'activation des polynucléaires neutrophiles et des cellules NK (Hutchings et al., 1990).

L'interféron α provoque un passage massif des lymphocytes TCD8⁺ du torrent circulatoire vers le poumon. Celles-ci déclenchent la destruction des cellules infectées par le BHV1 (Wellenberg et al., 2002).

B. Réponse immunitaire spécifique à médiation humorale

Lors d'une primo-infection, le rôle de la réponse humorale est beaucoup plus la prévention d'une nouvelle infection par le BHV1 que pour la guérison et les anticorps produits ont un rôle moins important que l'immunité à médiation cellulaire. Du fait que les premiers anticorps apparaissent juste ou après disparition des symptômes induits par l'infection primaire. Par contre, lors d'une seconde infection, la réponse humorale est plus efficace que la réponse cellulaire. Les anticorps persistent deux à trois ans chez l'animal infecté (Babiuk et al., 1996).

Les lymphocytes B commencent à produire des anticorps entre le 7^{ème} et le 12^{ème} jour post-infection. Il s'agit d'anticorps neutralisants dirigés principalement contre les glycoprotéines gB, gC et gD. Ces anticorps neutralisent les particules virales extracellulaires en limitant la diffusion extracellulaire de l'infection. Un taux élevé d'anticorps anti-BHV1 dans la muqueuse nasale va permettre, même en cas de réactivation virale, de neutraliser le virus et d'empêcher sa

transmission à d'autres animaux. En outre, ils sont aussi capables d'interagir en synergie avec les cellules cytotoxiques intervenant dans la réponse cellulaire via le système de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). Chez les bovins, la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) est réalisée essentiellement par les PNN. La destruction des cellules infectées a lieu dès la 7^{ème} jour post-infection (Rouse et al., 1980).

Le temps de demi-vie des anticorps anti-BHV1 chez les bovins est long, des études ont montré qu'au bout de 3 ans, les titres en anticorps sont encore élevés (Kaashoek et al., 1996) et peut être détecté plus de 5 ans après la primo-infection (Chow, 1972).

La cinétique d'apparition des anticorps après exposition au virus BHV1 par voie intra-nasale est représentée par la figure 24 (Guy et Potgieter, 1985 ; Anziliero et al., 2011).

Lors de primo-infection, les premiers anticorps synthétisés sont les IgM à partir du 5^{ème} jour post-infection. Leur taux sérique atteint un pic au 14^{ème} jour. En cas de seconde exposition ou de réactivation, il n'y a pas de synthèse d'IgM. La présence dans le sang d'IgM signifie donc l'existence d'une primo-infection chez l'animal par le virus BHV1 (Guy et Potgieter, 1985).

Les IgA sont les anticorps qui apparaissent ensuite à partir du 10^{ème} jour post infection, leur taux sérique atteint un pic vers le 20^{ème} jour post-infection, puis diminue. Contrairement aux IgM, lors de seconde infection, il y a sécrétion d'IgA, de façon rapide mais toujours transitoirement. Elle est détectée dans les sécrétions nasales et oculaires, parfois génitales, avec une sensibilité élevée (Madic et al., 2011).

Enfin, les derniers anticorps à apparaître lors d'infection par le BHV1 sont les IgG. Leur taux sérique atteint un pic vers le 35^{ème} jour post infection chez des animaux non gestants et 14 jours post infection chez des animaux gestants, puis une diminution progressive du niveau d'anticorps IgG est rapportée. En cas de seconde exposition au virus il y a formation d'IgG1 et d'IgG2.

La réponse humorale est augmentée après une réactivation virale ou une seconde infection. Le niveau d'anticorps anti-gB, gC et gD augmente et des anticorps antiglycoprotéines mineures (par exemple gE) deviennent détectables.

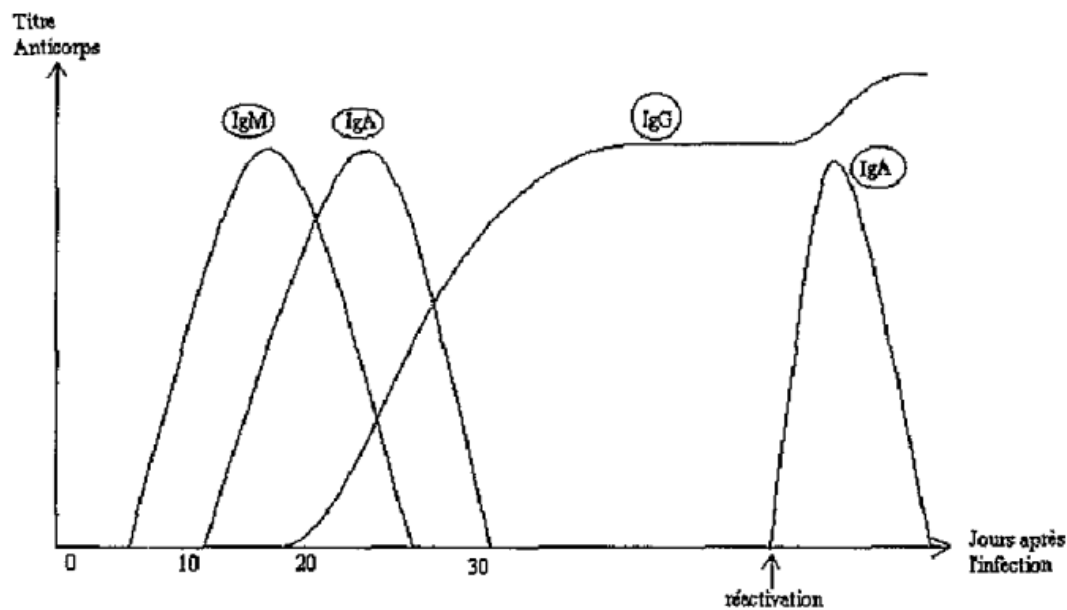


Figure 24 : Cinétique de production d'anticorps en cas d'infection et de réactivation par le BHV1 (Guy et Potgieter, 1985).

5.3. Echappement du virus à la réponse immunitaire

Le BHV1 peut échapper partiellement au système immunitaire. En effet, les alphaherpesvirus ont une activité immunosuppressive :

- L'infection des lymphocytes TCD4⁺ et les cellules mononuclées sanguines par le BHV1 provoquent leur apoptose. En plus, la destruction des cellules mononuclées sanguines infectées par les polynucléaires neutrophiles vont diminuer progressivement le nombre de cellules immunitaires, ce qui prédispose les animaux infectés à d'autres infections virales et bactériennes (Eskra et Splitter, 1997).

- Une diminution de l'expression du CMH I sur cellules infectées, ceci est due à l'action de la protéine de tégument vhs (virion host shutoff) qui vont diminuer la synthèse protéique dans les cellules infectées. Par conséquent, la synthèse et l'expression de molécules de CMH sont alors bloquées (Wang et Splitter, 1998), ce qui permet au virus d'échapper à l'action des lymphocytes T cytotoxiques de l'hôte. De plus, les macrophages et monocytes infectés ne jouent alors plus leur rôle de cellules présentatrices d'antigènes et le système immunitaire n'est pas stimulé. Une autre protéine, la protéine Circ, a un effet similaire sur les monocytes et les macrophages. Elle bloque le signal de transduction de l'interféron γ , qui induit l'expression des molécules du CMH

II (Schwyser et al., 1996). Ainsi, les monocytes ne jouent plus leur rôle de cellules présentatrices d'antigènes.

Pour contourner la réponse immunitaire, le virus BHV1 a développé d'autres stratégies. Les glycoprotéines gI et gE interviennent dans la fixation de la fraction Fc des immunoglobulines, ce qui empêche l'activation de la cascade du complément ou de l'activité cytotoxique cellulaire dépendant des anticorps (ADCC), le gC se lie également au facteur C3b qui n'est plus alors disponible et bloque la cascade du complément. Elle empêche ainsi la lyse cellulaire et la neutralisation virale (Schwyser et Ackermann, 1996). De plus, les virions portent des protéines qui miment des molécules de certains fragments du complément tel que C3b (Huemer et al., 1993). En outre, le passage de virus d'une cellule à cellule par des ponts intercellulaires sans passer dans le milieu extracellulaire permet au virus d'échapper à l'action des anticorps neutralisants.

5.4. Immunité chez le fœtus et le jeune

Le fœtus peut produire des IgM à partir de 3^{ème} mois de gestation, cependant, cette réponse est insuffisante pour le protéger d'une infection vis-à-vis du BHV1 qui conduit à la mort du fœtus et à l'avortement (Thiry et al., 1992).

Concernant les jeunes, du fait que le placenta est de type syndesmo-chorial chez les ruminants, ceci ne permet pas le transfert des immunoglobulines de la mère au fœtus, le veau naît alors sans anticorps maternels (Thiry et al., 1994).

Le transfert d'immunité se déroule chez les bovins suite à la prise du colostrum, qui contient des anticorps maternels. Cette immunité passive du veau n'est que provisoire car la demi-vie des anticorps est courte (Meyer et al., 2001), 2,5 jours pour les IgA, 4 jours pour les IgM et entre 16 et 32 jours pour les IgG. En fonction de la concentration initiale en anticorps dans le colostrum ingéré, ils persistent généralement entre 95 et 231 jours chez le veau.

En fonction du statut immunitaire de la mère, un veau nouveau-né peut donc avoir ou non, une immunité passive contre le BHV1.

Si la mère n'a pas d'anticorps anti-BHV1 (pas de contact avec le virus du BHV1), le veau n'a aucune immunité passive contre BHV1. L'immunité du veau est plus faible que celle des

adultes due aux taux plus élevés de corticostéroïdes (Thiry et al., 1994). En cas d'infection, le veau déclare une maladie généralisée, souvent mortelle.

- Si la mère a des anticorps anti-BHV1 (vache infectée latente par le BHV1 ou vaccinée), le veau a une immunité passive contre le BHV1. Cette immunité protège efficacement le veau des signes cliniques en cas d'infection mais elle n'empêche pas le virus de se multiplier et de s'installer à l'état latent. En même temps, elle empêche le développement de l'immunité active et la production d'anticorps endogènes par le veau (Lemaire et al., 1995 ; Bradshaw et al., 1996). Dans ce cas, le veau est porteur latent séronégatif ou SNLC (SeroNegative Latent Carriers) (Lemaire et al., 1994). Le veau est donc immunotolérant envers BHV1. En effet, en cas de réactivation, le veau ne produit toujours pas d'anticorps (Lemaire et al., 2001). Un veau SNLC n'est pas détectable par des tests sérologiques, même après la disparition des anticorps maternels (Lemaire et al., 2001).

Les animaux SNLC posent un problème au niveau du contrôle de l'IBR. En effet, la détection du virus BHV1 se fait par des tests sérologiques. Chez ces animaux, les tests seront négatifs alors qu'ils sont bien porteurs du virus. En cas de réactivation virale ils deviennent excréteurs et peuvent contaminer les animaux avec lesquels ils sont en contact. Le seul moyen est d'identifier ces animaux et de les traiter à la dexaméthasone pour réactiver le virus. Il existe une autre possibilité de détection des veaux SNLC, elle consiste à vacciner les mères avec un vaccin délété pour gE. Les veaux possèdent alors des anticorps colostraux contre les différentes glycoprotéines virales, excepté gE. En cas d'infection par le virus BHV1, les animaux deviennent porteurs latents. Après disparition des anticorps colostraux, ils deviennent séronégatifs sauf pour gE. Ce qui permet de différencier un animal infecté d'un animal vacciné (Lemaire et al., 1999).

III. Clinique

La plupart des infections due à BHV1 sont subcliniques et le degré de sévérité de la maladie est influencé par des facteurs tels que la virulence de la souche en cause, le statut immunitaire de l'hôte, l'âge et la présence d'infections bactériennes secondaires (Kaashoek et al., 1996). L'infection par le BHV1 peut entraîner des formes cliniques variées : respiratoire, génitale, oculaire...

1. Forme respiratoire ou Rhinotrachéite Infectieuse Bovine

L'IBR peut se produire dans des formes subcliniques, bénignes ou graves. La morbidité et la mortalité peuvent atteindre 100 % et 10 %, respectivement (D'Arce et al., 2002). Dans la forme bénigne, les signes cliniques peuvent être limités à l'écoulement nasal et oculaire. Dans la forme classique de la maladie, la durée d'incubation est de 2 à 4 jours. L'animal présente un jetage nasal d'abord séreux, dans lequel le virus est présent dès 24 heures après l'infection, qui devient mucopurulent par la suite, une hyperthermie (40-42 ° C), un manque d'appétit, une détresse respiratoire, une dyspnée, un essoufflement, une toux persistante, une chute sévère de la production de lait et une bronchopneumonie lors de l'extension de l'infection à l'appareil respiratoire profond, notamment en cas de surinfection bactérienne. Dans cette forme classique et en absence de surinfection bactérienne, les animaux guérissent rapidement en 15 jours, mais restent porteurs et propagateurs du virus (Tikoo et al., 1995).

A l'autopsie, les lésions observées sont : de l'inflammation, une congestion, des pétéchies, une exsudation profuse ou fibrinopurulente, ainsi que des foyers de nécrose sur le mufle, dans les cavités nasales, le pharynx, le larynx, la trachée et parfois les bronches. Les lésions buccales sont souvent des exulcérations ou ulcères à fond plat, de forme irrégulière « en carte de géographie », présents sur la langue et la cavité buccale (Tikoo et al., 1995 ; Muylkens et al., 2006).

2. Forme oculaire

La forme oculaire est le plus souvent associée à la forme respiratoire, mais elle peut être observée seule sous la forme d'une kérato-conjonctivite infectieuse ou en association avec la forme génitale (Thiry et al., 1997).

Les symptômes sont une conjonctivite unilatérale ou bilatérale, une photophobie, mais l'épiphora est le signe le plus caractéristique. La guérison survient généralement rapidement de manière totale (Dannacher et al., 1985), mais dans le cas d'une surinfection par *Moraxella bovis*, une sévère kératoconjonctivite se produit (Straub et al., 1991).

3. Forme génitale ou Vulvovaginite et Balanoposthite

L'atteinte de l'appareil génital est attribuée généralement à la souche BHV1.2. Il s'agit d'une inflammation de la muqueuse génitale externe (vulve et vagin chez la femelle, prépuce et pénis chez le mâle).

Chez la vache, la vulvovaginite pustuleuse infectieuse (IPV) se développe habituellement en un à trois jours. Cette affection est traditionnellement appelée « exanthème coïtal ». Les animaux touchés présentent de la fièvre, de la dépression, de l'anorexie et une baisse de la production laitière. La miction fréquente et douloureuse est le signe le plus caractéristique. En raison de la douleur, l'animal garde la queue légèrement surélevée pour éviter le contact avec la vulve. En plus, la douleur des lésions provoque des efforts expulsifs tels qu'un prolapsus utérin. La vulve est gonflée et hyperémique avec une petite pustule qui mesure 1 à 2 mm de diamètre, ensuite, elle fusionne pour former des membranes fibrineuses jaunes, qui évoluent progressivement en ulcères (Turin et de Russie, 2003). Ces lésions disparaissent habituellement après 10 à 14 jours de l'apparition de la maladie. Cependant, lors d'infection secondaire certains animaux présentent un écoulement vaginal purulent qui persiste pendant plusieurs semaines (Turin et de Russie, 2003).

Chez le taureau, une balanoposthite pustuleuse infectieuse (IPB) se développe également après une période d'incubation de un à trois jours, les lésions se développent dans la muqueuse du pénis et du prépuce, elles sont semblables à celles de l'IPV. Ces lésions disparaissent dans 10 à 14 jours en absence des infections secondaires. Cependant, certains animaux peuvent perdre la libido, avoir des douleurs lors de l'érection et de l'éjaculation et la guérison peut être retardée si la monte reprend trop précocement (Weiblen et al., 1992).

4. Avortement

L'avortement est dû essentiellement aux sous-types BHV1.1, BHV1.2a. La majorité des avortements dus à BHV1 sont rencontrés lors de la forme respiratoire. Il survient généralement entre 4 et 7 mois de gestation quel que soit l'âge de la vache. L'avortement est la conséquence de la virémie. L'infection du fœtus peut se produire 3 à 5 mois après l'atteinte virale (de quelques jours à plus de 100 jours après l'infection primaire). Le fœtus meurt 24 à 48 heures après son infection mais l'expulsion peut être différée de 7 jours en moyenne (Six et al., 2001). Le fœtus est déjà fortement autolysé, les prélèvements sont difficilement exploitables et

l'isolement viral sera difficile. Le passage du virus de la mère au fœtus se ferait par passage transplacentaire et diffusion par voie hématogène par la veine ombilicale. L'infection du fœtus entraîne des anomalies importantes dans les viscères fœtaux, l'arrêt progressif de la circulation sanguine dans le placenta et sa dégénérescence. (Thiry et al.,1997 ; Six et al., 2001). L'avortement peut aussi être lié à une forte hyperthermie lors d'une infection primaire de la vache gravide (Thiry et al.,1997).

L'infection par le BHV1 de vaches saillies récemment peut également causer une mortalité embryonnaire. L'hyperthermie engendrée par l'infection peut être responsable de cette mortalité embryonnaire jusqu'à 3 mois de gestation. Le virus peut également provoquer des effets cytopathiques sur l'embryon (Pritchard et al.,1997). Il a été démontré que le virus peut infecter l'utérus pendant la phase vérinique (après la primo-infection ou lors de réactivation, par le sperme contaminé, transmis lors de saillies ou d'inséminations artificielles) entraînant une endométrite nécrotique sévère (Maillard et Chastand-Maillard, 2006). Il infecte également l'ovaire provoquant aussi une ovarite aiguë pendant l'œstrus, une nécrose hémorragique focale ou généralisée du corps jaune, d'où chute du taux de progestérone et arrêt de la gestation ainsi qu'une nécrose des follicules ovariens (Miller et al., 1995 ; Maillard et Chastand-Maillard, 2006). Tous ces effets aboutissent à de l'infertilité et des retours en chaleur.

Enfin, l'infection de la vache pendant le dernier tiers de gestation peut provoquer de la mortalité néonatale chez les veaux dans les 12 jours suivant la mise-bas (Heinlein et al., 1993).

5. Autres formes

5.1. Métrites après césarienne

Autour du vêlage, les vaches sont plus réceptives aux infections et particulièrement à celles par le BHV1. Les vaches infectées par le BHV1 qui subissent une césarienne développent très souvent une infection de l'utérus et du péritoine. Celle-ci est accompagnée d'une hyperthermie dans les 4 à 5 jours qui suivent l'opération. En plus, il y a possibilité de problèmes de cicatrisation et de surinfections de la plaie cutanée (Thiry et al.,1997).

5.2. Mammites

Le virus BHV1 est isolé dans des cas de mammite mais toujours en association avec d'autres pathogènes de la mamelle (Bilge et al., 1998). L'infection expérimentale en intra-mammaire du

BHV1 provoque une mammite avec hyperthermie, baisse d'appétit, mamelle douloureuse et une baisse de production laitière. Cependant, le rôle exact du BHV1 dans les mammites n'est pas encore bien défini. Son rôle semble plutôt être un facilitateur d'infections par son activité immunosuppressive. En effet, Siegler et al ont montré que la vaccination d'un cheptel contre BHV1 (en l'absence de vaccination contre le BVD) diminue l'incidence des mammites dans celui-ci (Siegler et al.,1985).

5.3. Septicémie des nouveaux-nés

La septicémie des nouveaux-nés est décrite lorsque le virus atteint des veaux nouveaux-nés n'ayant pas encore pris le colostrum ou n'ayant pas encore été vaccinés, l'infection se généralise et conduit à la mort rapide du veau (Six et al.,2001).

Le veau présente des signes de rhinopharyngite et de bronchopneumonie (toux, râles bruyants, jetage nasal mucopurulent, épiphora, conjonctivite bilatérale), une diarrhée catarrhale non hémorragique, de l'hyperthermie et un ptyalisme important. Il meurt en quelques jours.

5.4. Encéphalite

L'infection par le BHV1 n'engendre que rarement une méningo-encéphalite chez les bovins. Un virus proche antigéniquement du BHV1, le BHV5 est le plus souvent mis en évidence lors de méningo-encéphalites. Des cas d'encéphalites liées au BHV1 sont rencontrés chez des jeunes animaux, cependant, il s'agit de cas rares (Meyer et al.,2000). En général, la neuroinvasion du système nerveux central par BHV1 ne dépasse pas le ganglion trigéminal où l'infection latente s'établit. Mais il a déjà été isolé dans d'autres endroits du SNC sur des vaches adultes ayant une méningoencéphalite (D'offray et al.,1993 ;Roels et al., 2000).

La maladie est caractérisée par des tremblements, de l'opisthotonos, de la cécité, des convulsions, de l'incoordination motrice ensuite vient la mort (Meyer et al, 2001).

5.5. Atteinte podale

Le BHV1 a été isolé d'un ulcère de l'espace interdigité d'un bovin (Thiry et al.,1997). Le phénomène semble rare.

IV. Epidémiologie

1. Epidémiologie descriptive

1.2. Répartition géographique et fréquence de l'infection

Le BHV1 est présent dans tous les continents avec des différences dans la prévalence et l'incidence de l'infection (tableau 1).

Tableau 4 : séroprévalence du BHV1 à travers le monde (synthèse personnelle).

Continent	Pays	Cas étudié	Test appliqué	Prévalence %	Référence
Amérique	Canada	1745	ELISA	37.8	Durham et Hassard,1990
	Pérou	636	ELISA	37	Guarino et al.,2007
	Urguay	6358	ELISA	51	Ståhl et al, 2002
Asie	Inde	1115	SN	39.2	Nandi et al.,2008
	Chine	1344	ELISA	35.8	Yan et al., 2008
Afrique	Tanzanie	61	SN	85	Lyaku et al., 1991
	Algérie	2948	ELISA	20.5	Achour et Moussa,1996
Europe	Belgique	11289	ELISA	35.9	Boelaert et al.,2000
	Italie	615	SN	5.52	Castrucci et al.,1997
	Turquie	6979	SN	35	Yesilbag et al,2003

L'Europe a une longue histoire de lutte contre l'infection par le BHV1 (Ackermann et al., 1990). Beaucoup de programmes d'éradication ont été déjà employés, mais seulement un petit nombre de pays comme l'Autriche, le Danemark, la Finlande, la Norvège, la Suède et la Suisse, ont atteint l'objectif (Ackermann et al, 1990 ; Paisley et al, 2001). La suisse, bien que considérée comme indemne de la rhinotrachéite infectieuse bovine, 29 nouveaux cas ont été signalés au cours de la dernière décennie. Ces cas ont été détectés dans la procédure sérologique annuelle (Ackermann et Engels, 2006).

1.3. Importance économique

L'infection à BHV1 peut avoir des conséquences majeures dans les troupeaux laitiers et de boucherie. Les pertes sont dues aux défauts de production : la diminution de la production de lait et de gain de poids et les épidémies d'avortements, par conséquent, perte de sujets de

remplacement. Il faut aussi ajouter les pertes dues à la réforme des animaux, à la mortalité, à cause de la forme respiratoire de la maladie, et au coût des traitements à cause des infections bactériennes secondaires (Turn et al., 1999 ; Radostis et al., 2007).

2. Epidémiologie analytique

2.1. La source de virus

La source principale du virus est le bovin infecté lors de primo-infection ou lors de réactivation. Même les animaux sous immunité colostrale ou vaccinés peuvent excréter et réexcréter le virus, car la vaccination limite l'excrétion virale mais son efficacité n'est pas totale. D'autre part, les ovins et les caprins peuvent être infectés et excréter le virus. Les cerfs et les chevreuils présentent également un risque faible de transmission du BHV1, cependant, chez ces derniers l'excrétion virale n'a lieu qu'au moment de la primo-infection puisqu'il n'y a pas d'établissement d'une latence (Thiry et Lemaire, 2001).

Les bovins porteurs latents séronégatifs (SNLC) représentent un risque majeur de transmission du BHV1 du fait qu'ils sont indétectables par les méthodes classiques de sérologie et excrètent transitoirement le virus à chaque épisode stressant (Lemaire et al., 2001).

Le virus BHV1 se retrouve dans les sécrétions nasales et oculaires, les mucus vaginaux et préputiaux, la semence de taureau, les paillettes d'insémination artificielle ou les embryons utilisés pour le transfert, le placenta et les annexes fœtales. Toutes ces matières peuvent contaminer d'autres bovins (Blanc, 2002).

Enfin, l'environnement est également une source de transmission du virus. En effet, il peut persister dans la litière ou sur du matériel souillé (abreuvoirs, mangeoires, matériel de contention...) pendant plusieurs jours (Wentink et al., 1993).

2.2. Modes de transmission de l'IBR

A. Transmission directe

La transmission directe du BHV1 est le processus prépondérant, elle peut se faire par deux voies. La voie respiratoire, réalisée par contact direct de nez à nez (Callan et Metre Van, 2004). Les animaux malades excrètent le virus dans leurs sécrétions nasales. La toux, les éternuements,

voire la respiration, sont des sources de contaminations pour les autres animaux, sous forme d'aérosols (Thiry, 2000).

La deuxième voie de transmission directe est la voie génitale. Après infection du tractus génital d'un animal, le virus se multiplie puis excrété dans le mucus vaginal ou préputial, dans le sperme ou les ovocytes. De cette façon, un taureau infecté au niveau génital pourra transmettre le virus au moment de l'accouplement (Wellemanns et al., 1993).

Il existe enfin une transmission directe de la mère au fœtus lorsque celle-ci est infectée par le BHV1 pendant la gestation, lors de la phase de virémie transitoire suivant une primo-infection.

B. Transmission indirecte

La transmission indirecte du BHV1 peut se faire par l'intermédiaire de vecteurs : toutes les personnes circulant dans les fermes peuvent véhiculer le virus sur leurs vêtements, les mains.... Ou par l'intermédiaire du matériel d'élevage contaminé pouvant laisser passer le virus d'un animal à l'autre, voire d'une exploitation à l'autre (Wentink et al., 1993).

Enfin, l'insémination artificielle et le transfert embryonnaire sont des vecteurs de transmission du virus, lorsque le sperme et les embryons sont prélevés chez des animaux infectés (Yavru et al., 2000).

2.3. Facteurs favorisant de l'infection par BHV1 des troupeaux

Il existe peu de facteurs prédisposant à l'infection par le BHV1. L'espèce la plus sensible est l'espèce bovine. La race a très peu d'influence, on peut noter une plus grande sensibilité des Holstein et des Charolaises (Mohamadou, 2003). Le risque d'infection augmente avec l'âge notamment après la disparition des anticorps maternels (Guarino et al 2008). Les mâles semblent plus souvent atteints que les femelles (Boelaert et al., 2005; Guarino et al, 2008). Cependant, l'utilisation du monte naturel plutôt que l'insémination artificielle a été trouvée l'un des facteurs de risque de séropositivité du troupeau au Brésil (Dias et al., 2013). Le mode d'élevage ainsi que la proximité d'autres fermes sont des facteurs favorisant également la transmission du virus, par exemple la pratique de la mise en estive (Guerin, 2000). la participation à des expositions et des concours agricoles, la taille de troupeaux et l'augmentation du nombre de troupeaux limitrophes (O'Grady et al., 2008), l'achat de bovins et leur introduction sans mis en quarantaine (Dias et al., 2013), l'élevage mixte avec les ovins et les

caprins (Thiry et al., 2006). Enfin toutes les conditions d'élevage favorisant le stress de l'animal participe à sa réceptivité vis-à-vis de l'IBR (Van Oirschot et al., 2000).

3. Epidémiologie synthétique

3.1. Origine de la contamination d'un élevage

La contamination d'un élevage se fait soit par achat d'animaux (achat d'animal SNLC, ou d'animal porteur latent), soit par voisinage (pâturage, foire ou mélange d'animaux) (Dias et al., 2013).

3.2. Maintien de l'infection

La présence d'animaux porteurs latents est l'élément essentiel de la persistance du virus au sein des élevages. Ces individus pourront infecter les congénères indemnes de leur troupeau lors d'une réactivation accompagnée d'une réexcrétion (Thiry et al., 2006). La signification épidémiologique de la latence est donc de permettre le maintien de l'infection dans un groupe d'animaux sans apport exogène du virus.

V. Diagnostic de l'IBR

Les principaux symptômes de l'IBR ne sont pas très caractéristiques et se retrouvent dans de nombreuses atteintes respiratoires bovines. Ils permettent simplement d'étayer une suspicion mais pas d'établir un réel diagnostic. Pour cela, il faut mettre en place des examens complémentaires afin de mettre en évidence la présence du virus (Cassard, 2003 ; Gardeux, 2007).

Lors d'une suspicion clinique, c'est-à-dire en cas de primo-infection, il faut rechercher la présence du virus, de ses antigènes ou de son ADN (diagnostic direct).

Dans le cadre du contrôle prophylactique du statut immunitaire des animaux, c'est-à-dire en général sur des animaux ne présentant aucun symptôme, mais qui peuvent être en phase de latence, il faut rechercher les anticorps spécifiques (Kaashoek et al., 1996) (diagnostic indirect).

Notons que les principes de la technique sérologique et virologique sont décrits dans la maladie diarrhée virale bovine.

1. Diagnostic direct

1.1. Réalisation des prélèvements

La réalisation de prélèvements dans le diagnostic direct doit se faire en priorité sur un animal vivant, précocement, lors de la phase d'hyperthermie qui correspond au pic d'excrétion du virus.

Le virus peut être prélevé à partir d'écouvillonnages nasaux profonds et de conjonctif lors de l'IBR, de lavage vaginal, préputial lors de l'IPV et IPB (Homan et Easterday, 1980). Ces échantillons doivent être prélevés dans un contenant stérile et envoyés au laboratoire dans un transport adapté, sous régime du froid, en moins de 24 heures (Homan et Easterday, 1980). Le sperme frais ou conservés correctement peuvent également être utilisés pour l'isolement viral (Deka et al., 2005).

Il est possible de prélever des échantillons sur un animal mort depuis moins de 3 heures. Les échantillons seront alors des fragments de certains organes tels que le foie, la rate, les reins, les poumons, la lymphe, les amygdales ainsi que la muqueuse des voies respiratoires et les amygdales, il peut être également réalisé à partir de cotylédons placentaires et de fœtus avortés (Homan et Easterday, 1980).

1.2. Recherche de virion

A. Isolement viral sur cultures cellulaires

L'isolement viral reste la technique standard pour la détection de BHV1. Elle peut se faire sur tous types de prélèvement. Le virus doit nécessairement être vivant pour conserver son pouvoir infectieux, ce qui impose des conditions de prélèvements et d'envois stricts.

Il consiste à mettre en évidence l'effet cytopathogène du virus sur les cellules sensibles (en général des cellules primaires de testicules ou de reins de veaux). Cet effet induit par le BHV1 apparaît habituellement trois à cinq jours après l'inoculation (Straub, 1990 ; Turin et Russe, 2003). Il est caractérisé par un arrondissement des cellules sous forme d'amas en grappe et la formation de trous dans le tapis cellulaire. Ce sont ces changements que l'on va observer au microscope optique qui permettent d'orienter le diagnostic vers une famille virale. Le diagnostic définitif se fait ensuite par l'utilisation de tests immunologiques tels que la

séroneutralisation et l'immunochimie (Straub, 1990; Turin et Russe, 2003). La sensibilité de cette technique est bonne mais nécessite un délai de 3 à 4 jours.

B. Microscopie électronique

La microscopie électronique peut également être utilisée pour la détection de particules virales par ses caractéristiques structurelles et morphologiques. Cependant, la faible sensibilité, le coût élevé et la nécessité d'un personnel hautement qualifié pour l'exploitation et l'interprétation des résultats font que cette technique ne soit pas faisable comme outil de diagnostic (Nandi et al., 2009).

1.3. Recherche des antigènes viraux

Les techniques utilisées pour la recherche des antigènes viraux sont l'immunochimie et l'immunofluorescence. Il s'effectue sur coupe d'organe fraîche présentant des lésions ou congelée ainsi que sur des frottis cellulaires obtenus à partir des écouvillons nasaux. Les virions ne sont pas nécessairement vivants, ce qui permet des règles d'acheminement moins strictes que pour la recherche des virions. Le résultat est rapide (24h) mais la sensibilité est moyenne (Roche et al., 1997).

1.4. Recherche de l'ADN viral

La PCR vise à amplifier une région cible de l'ADN viral. Elle présente les avantages potentiels de hauts niveaux de sensibilité et de spécificité, ainsi que la vitesse d'exécution. Plusieurs variantes de PCR ont été développées (nested PCR, multiplex PCR et real time PCR) pour la détection de BHV1 avec différentes régions cibles du génome virale (Esteves et al. 2003; Claus et al., 2005). Elle peut être appliquée sur tout type de prélèvement (le sang total, le sérum, le sperme, le liquide folliculaire....) et ne nécessite pas de virus vivants (Fuchs et al, 1999 ; Claus et al., 2005).

L'ADN viral est détectable dans le sang de l'individu non seulement pendant la phase aiguë mais aussi pendant la phase subclinique. De plus, la PCR permet une détection du virus avant la séroconversion et la production d'anticorps, voire chez les individus séronégatifs porteurs latents. En revanche, la technique de PCR requiert un laboratoire spécialisé, a un coût important et sensible aux contaminations, pouvant donner lieu à des faux positifs (Fuchs et al, 1999).

2. Diagnostic indirect

2.1. Réalisation des prélèvements

La recherche d'anticorps anti-BHV1 peut être réalisée sur des échantillons de sérum et de lait (Muylkens et al., 2007), le sérum contenant vingt fois plus d'anticorps que le lait. Ce dernier n'est pas utilisé pour effectuer un diagnostic individuel mais pour contrôler la prévalence de l'infection au niveau du troupeau. Tandis que le sérum est utilisé pour des analyses individuelles et à l'échelle de troupeau (Muylkens et al., 2007).

2.2. Recherche d'anticorps

Les méthodes sérologiques ne peuvent être réalisées qu'après séroconversion de l'animal, soit un délai de 2 à 3 semaines après l'infection (Gardeux, 2007). Les méthodes indirectes reposent sur :

A. Test de séro-neutralisation

Le test de séro-neutralisation (SN) est considéré comme le «gold standard» pour la détection des anticorps neutralisants anti-BHV1 (Rocha et al., 2001 ; Vieira et al., 2003). La SN a été largement utilisée dans les enquêtes épidémiologiques, la certification des troupeaux, le dépistage pour la collecte et la commercialisation de sperme, ainsi que dans la recherche clinique (Franco et Roehle, 2007). Cependant, il s'agit d'une technique laborieuse, dépend du maintien d'un stock de virus et de culture cellulaire appropriée. Des variantes de ce test ont été proposées, où la période d'incubation de la neutralisation du virus par les anticorps peut varier de 1 à 24 heures. Le résultat de l'essai est habituellement obtenu en trois à cinq jours (Bitsch, 1978).

B. La technique ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)

La technique ELISA (de l'anglais "enzyme linked immunosorbent assay") est actuellement largement utilisée pour le diagnostic sérologique, en raison de sa haute sensibilité et spécificité, une relative facilité et une rapidité d'exécution. Elle est capable de traiter un grand nombre d'échantillons. Les réactifs sont généralement peu coûteux, stable, facile à préparer (Nandi et al., 2008). Plusieurs variétés de tests ELISA (indirect, direct, de compétition) ont été développées pour le dépistage des échantillons de sérum bovin (Nandi et al., 2007).

Dans le test ELISA de compétition, les anticorps sont dirigés contre gB, car gB est un antigène majeur qui induit une forte réponse immunitaire et ses anticorps persistent deux à trois ans. Le test ELISA gB présente donc une bonne sensibilité (Limbourg et al., 2002). Cependant la protéine gB est hautement conservée entre les différents herpesvirus de ruminants. Des réactions croisées sont possibles mais rares. Par conséquent, la spécificité du test est limitée lorsque les bovins sont en contact avec d'autres ruminants.

La technique ELISA de compétition utilisant gE a été développée parallèlement à l'élaboration de vaccins délétés gE, associés au programme d'éradication d'IBR. Elle permet de différencier les animaux infectés (séropositifs envers gE), des animaux vaccinés (séronégatifs envers gE) (Wellenberg et al., 2001). Toutefois, elle a pour conséquence une diminution de la sensibilité (Limbourg et al., 2002 ; Kramps et al., 2004).

C. Autres tests sérologiques

L'hémagglutination passive, la fixation du complément et l'immunofluorescence sont pratiquement abandonnées (Cassard, 2003).

V. Prophylaxie

1. Prophylaxie sanitaire

Malgré l'activation du système immunitaire lors de l'infection, les animaux infectés ne peuvent éliminer le virus. Il est alors important de faire une bonne prévention pour réduire au maximum les risques d'introduire la maladie au sein du troupeau, car une fois infectés, les animaux le sont pour le reste de leur vie. D'où l'importance d'avoir une bonne régie surtout en ce qui concerne la prévention. Attaquer à la source est le meilleur moyen pour avoir la chance de contrôler le mieux possible l'infection (Radostis et al., 2007). Le virus est contrôlé systématiquement par deux stratégies qui ont été élaborées : « test-et- abattage des animaux serpositifs sans vaccination » ou « vaccination avec un vaccin marqué de gE permettant la différenciation des animaux infectés de ceux vaccinés ».

La première stratégie de « **test-et- abattage des animaux séropositifs sans vaccination** », avec interdiction de l'importation des animaux vaccinés a été utilisée avec succès dans les pays où la séoprévalence est faible comme le Danemark, la Finlande, l'Autriche, la Suède et la Suisse (Vonk Noordegraaf et al., 2000; Paisley et al., 2001). Cette stratégie a été renforcée par

les mesures de biosécurité et d'hygiène afin de minimiser le risque d'introduction du virus BHV1 dans les troupeaux ou dans les centres d'insémination artificielle. Une période de quarantaine de 4 semaines est imposée pour les bovins introduits dans un troupeau indemne. Seuls les animaux séronégatifs après la mise en quarantaine peuvent être admis dans le troupeau. Dès qu'un animal est infecté, il a été considéré comme un potentiel excréteur de BHV1 et peut donc être abattu ou isolé du troupeau (Kramps et al., 1996).

La deuxième stratégie est « **vaccination avec un vaccin marqué de gE et élimination des animaux séropositifs vis-à-vis de gE** ». Elle a été appliquée dans les pays où la séoprévalence est élevée tels l'Allemagne, la Belgique, la Hongrie, l'Italie et les Pays-Bas (Vonk Noordegraaf et al, 2004). Cependant, aucun pays qui a inclus la vaccination n'a encore réussi à éradiquer le BHV1 (Ackermann et Engels, 2006). À cause de l'incapacité des vaccins à prévenir totalement l'infection par le BHV1 et de l'existence d'une forme latente, il faudra du temps pour arriver à éradiquer la rhinotrachéite infectieuse bovine (Ackermann et Engels, 2006).

2. Prophylaxie médicale

2.1. Objectif de la vaccination

La prophylaxie médicale de l'IBR repose sur la vaccination, utilisée pour prévenir les signes cliniques et par conséquent diminuer les pertes économiques en cas d'infection et réduire la circulation du virus par diminution de l'excrétion virale des porteurs latents. Cependant, cette protection n'est pas totale (Cassard, 2003).

2.2. Vaccination

Différents types de vaccins contre le BHV1 existent : les vaccins vivants atténués, les vaccins inactivés, les vaccins délétés ou marqués, les vaccins sous-unité et les vaccins obtenus par génie génétique.

A. Vaccin vivant ou atténué

Les vaccins vivants, ou vaccins atténués, sont constitués de souches de BHV1. Ces vaccins sont capables de se répliquer et de s'installer à l'état latent chez l'animal vacciné. Ils miment parfaitement l'infection naturelle et induisent une réponse immune cellulaire et humorale précoce et persistante. Ils peuvent également induire une immunité locale au niveau de la muqueuse nasale, lors d'inoculation par instillation nasale (Samaille et Thibault, 1996 ;

Anziliero et al., 2011). Ils ne provoquent pas d'expression clinique de l'IBR mais sont parfois suspectés de subir une recombinaison génétique avec une souche sauvage pathogène, pendant sa multiplication dans l'organisme (Lemaire et al., 2004), et de transmettre aussi la souche vaccinale aux bovins après instillation nasale ou réactivation de la souche vaccinale (Van Oirschot et al., 1996 ; De Wergifosse et al., 1997).

B. Vaccin inactivé

Les vaccins inactivés, ou vaccins tués, sont constitués de souches de BHV1. Ces vaccins sont moins immunogènes que les vaccins vivants. Pour compenser ce défaut d'immunogénicité, ils sont donc adjuvés par de l'hydroxyde d'aluminium et de la saponine. De même, il est nécessaire de les injecter plus fréquemment que les vaccins vivants. Ils induisent seulement une immunité à médiation humorale. Ces virus vaccinaux ne peuvent ni se développer dans l'organisme, ni persister à l'état latent chez l'animal vacciné (Samaille et Thibault, 1996 ; Le Tallec et Guerin, 2000). Ils ne causent donc pas de symptômes lors de leur administration. Par contre, l'utilisation des adjuvants dans ces vaccins peut provoquer des effets secondaires. Les vaccins tués comme les vaccins atténués protègent des signes cliniques de l'IBR mais pas de l'infection par une souche sauvage. De même, ils n'inhibent pas la réactivation et la réexcrétion du virus lorsqu'ils sont utilisés sur des bovins porteurs latents. Mais, ils réduisent considérablement la quantité de BHV1 excrétée et la durée d'excrétions (Le Tallec et Guerin, 2000).

C. Vaccin sous-unitaire

Les vaccins sous unitaire sont composés de glycoprotéines majeures à fort pouvoir immunogène (gB, gC, gD) associées à un adjuvant, ils assurent la même protection qu'un vaccin inactivé, et permettent aussi de distinguer les animaux vaccinés des animaux infectés. ils préviennent l'apparition des symptômes mais n'empêchent pas l'infection ultérieure et le portage latent (Van Drunen Littel et al., 1990), et n'inhibent pas totalement la réexcrétion lors de la phase réactivation (Pastoret et Vannier, 1995).

D. Vaccin recombinant

Le principe du vaccin vecteur consiste à introduire les gènes codants la synthèse des glycoprotéines majeures du BHV1 au sein du génome d'un vecteur viral (Bello et al., 1992), il induit une réponse presque similaire des vaccins atténués. il provoque une réponse humorale et

cellulaire et permet de développer une immunité locale au niveau des muqueuses pituitaires, porte d'entrées de BHV1 (Le Tallec et Guerin, 2000).

E. Vaccin délété ou marqué

Un vaccin délété peut être atténué ou inactivé. Il est constitué d'une souche virale dont la partie du génome codant la synthèse d'une glycoprotéine d'enveloppe a été délétée. Les animaux vaccinés ne développent donc pas d'anticorps contre cette glycoprotéine, ce qui permet de les distinguer des animaux infectés par une souche sauvage. La glycoprotéine supprimée doit être une glycoprotéine non essentielle pour permettre l'entrée du virus dans les cellules, et mineure pour que le vaccin soit bien immunogène et induit la production d'anticorps qui persistent plusieurs années (Denis et al., 1996 ; Kaashoek et al., 1998). La glycoprotéine choisie est en général gE. Cependant, il existe un risque de recombinaison entre la souche délétée et une souche sauvage virulente, ce qui permet l'apparition d'une souche délétée virulente (Thiry et al., 2006). C'est pourquoi des vaccins double-délétés ont été développés. Il a été créé une souche de BHV5 délétée en gE et en Thymidine Kinase (Anziliero et al., 2011). Le BHV1 et le BHV5 étant très proches antigéniquement, la vaccination par l'un protège de l'autre. Cette deuxième délétion permet de diminuer grandement le risque de recombinaison avec une souche sauvage.

Etude bibliographique de l'herpèsvirus bovin de type 4

I. Historique

L'herpèsvirus bovin de type 4 (BHV4) a été isolé pour la première fois en 1963, par Bartha en Hongrie à partir de veaux souffrant de maladies respiratoires et oculaires (Bartha et al., 1966). Quelques années plus tard, aux États Unis, une autre souche a été isolée d'un taurillon présentant des signes cliniques de maladie respiratoire (Mohanty et al., 1971). Parcs et Kendrick (1973) sont considérés comme les premiers chercheurs à isoler le BHV4 à partir d'une vache présentant une métrite, ils ont établi alors un lien entre l'infection par le virus et la pathologie utérine. Depuis lors, plusieurs auteurs ont signalé le virus BHV4 dans des échantillons de bovins présentant des troubles de la reproduction (Ernesto et al., 2015).

Ce virus a reçu plusieurs dénominations : « orphan herpesvirus », « morar type herpesvirus », « bovid cytomegalovirus », « bovid herpesvirus 3 », « bovid herpesvirus 5 ». En 1987, un consensus fut adopté pour mettre fin à la confusion et l'ensemble des souches ont été regroupées sous le nom d'herpèsvirus bovin de type 4 (Egyed et al., 2000 ; Markine et al., 2003).

II. Etiologie

1. Taxonomie

Le BHV4 (herpèsvirus bovin de type 4) appartient à la famille des Herpesviridae, sous famille des gammaherpesvirinae, genre Rhadinovirus (Davidson et al., 2009). Les caractéristiques de la famille des Herpesviridae sont représentées dans la partie réservée à l'IBR (page 52 et 53). La sous famille gammaherpesvirinae à l'inverse des alphaherpesvirinae (qui comprend l'agent causal de l'IBR) est caractérisée par un spectre d'hôte étroit qui se limite à l'espèce cible et une capacité à se répliquer dans les cellules lymphoïdes (lymphocyte T et B), où ils peuvent établir leur latence (Donofrio et al., 2005).

2. Présentation du virion

La particule virale du BHV4 possède la structure typique des herpèsvirus (figure 25) (Racaniello et al., 2013). Le génome des herpèsvirus est classé en 6 groupes sur la base de leur arrangement génomique terminal et de leurs séquences répétées internes. Le BHV4 possède un génome de type B caractéristique des gammaherpèsvirus (Roizman et Baines, 1991). Le génome de BHV4 est une molécule d'ADN double brin linéaire qui contient environ 144 ± 6 kb. Il est composé

d'une zone centrale (région longue unique codante, ou LUR), d'environ 108 kb, avec une faible concentration en Guanine+Cytosine, encadrée aux deux extrémités par des séquences terminales non codantes (polyrépétitive DNA ou prDNA). Ces dernières ont des motifs répétés avec une même orientation. Ces unités prDNA sont hautement concentrées en Guanine+Cytosine (Bublot et al., 1990).

L'analyse de la séquence LUR a révélé l'existence d'au moins 79 ORF, dont 17 semblent être uniquement présents chez le BHV4 (Zimmermann et al., 2001). Le matériel génétique est contenu dans une capside de symétrie icosaédrique formée de l'arrangement régulier de 162 capsomères tubulaires (150 hexamères et 12 pentamères). Le matériel génétique et la capside forment la nucléocapside dont le diamètre est de 90 à 100 nm. La nucléocapside est entourée d'une substance amorphe appelée tégment. Ce dernier contient notamment des protéines de régulation. La distribution du tégment est souvent asymétrique et son épaisseur varie en fonction de la localisation de la particule virale au sein de la cellule infectée. L'ensemble des structures susmentionnées est enveloppé dans une membrane constituée d'une double couche lipidique semblable à celle des membranes cellulaires (l'enveloppe virale). Celle-ci contient des glycoprotéines s'élevant jusqu'à 8 nm de la surface du virion (Markine-Goriaynoff et al., 2003). Ces caractéristiques structurelles démontrent que le BHV4 est sensible à des composés chimiques tels que l'éther et le chloroforme. La réplication peut être inhibée par le bromure de déoxyuridine (0,1 mM). Il présente également une faible résistance à un pH faible (pH 3) et peut être inactivé à des températures de 50 °C pendant 30 min et par la pasteurisation (Bona et al., 2005 ; Galais-Duhamel, 2006 ; Morán et al., 2015).

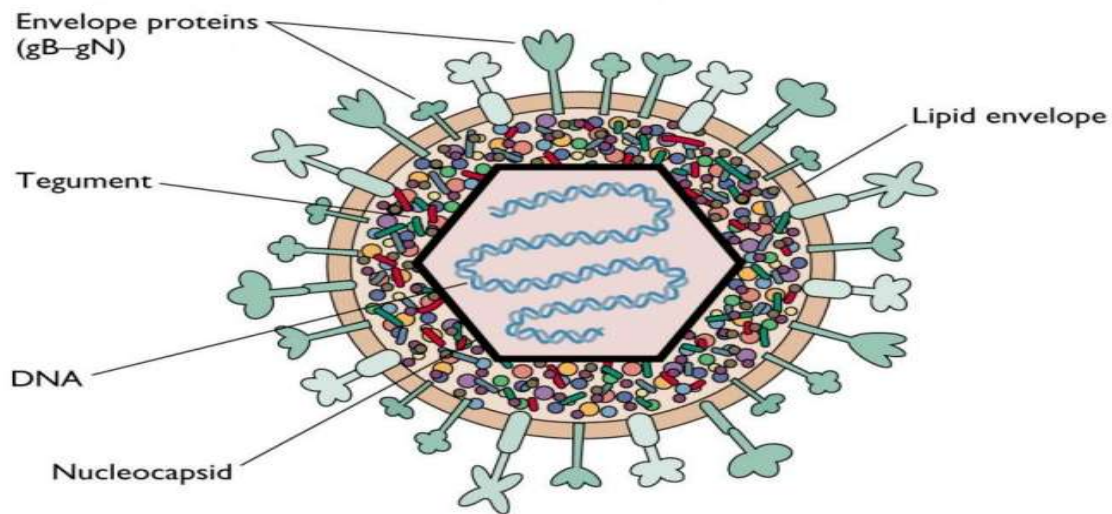


Figure 25 : Structure du virion des herpèsvirus (Racaniello et al., 2013).

3. Réaction croisée

Certaines glycoprotéines virales sont conservées parmi les herpèsvirus, d'autres sont propres à des espèces ou sous-familles d'herpèsvirus. Parmi les glycoprotéines conservées gB, gH, gI et le complexe gM-gN sont nécessaires à la réalisation du cycle de réplication virale (Lete et al., 2012).

Le BHV4 ne présente pas d'homologue aux glycoprotéines gD ou gE, gD est un immunogène majeur du BHV1 et gE est utilisé comme marqueur vaccinal contre le BHV1, pour rappel il n'existe pas de parenté antigénique entre le BHV4 et le BHV1 (Dewals, 2007 ; Lete et al., 2012). En revanche, le BHV4 partage des épitopes avec l'AlHV1, un autre gammaherpèsvirus avec lequel des réactions sérologiques croisées sont observés et qui semblent protectrices (Osorio et al., 1985 ; Dewals, 2007).

4. Cycle infectieux

Les herpèsvirus peuvent établir deux types principaux d'infection : l'infection dite productive ou lytique et l'infection latente. Le cycle de multiplication virale des herpèsvirus a été décrit en détail dans les pages plus haut (56,57,58,59 et 60) qui présentent le cycle infectieux du BHV1. Dans cette partie le cycle viral est brièvement décrit avec toutes les particularités connues pour le BHV4. Les gammaherpèsvirus semblent favoriser l'établissement de la latence, une minorité de cellules supportent le cycle lytique (Figure 26) (Ackermann, 2006).

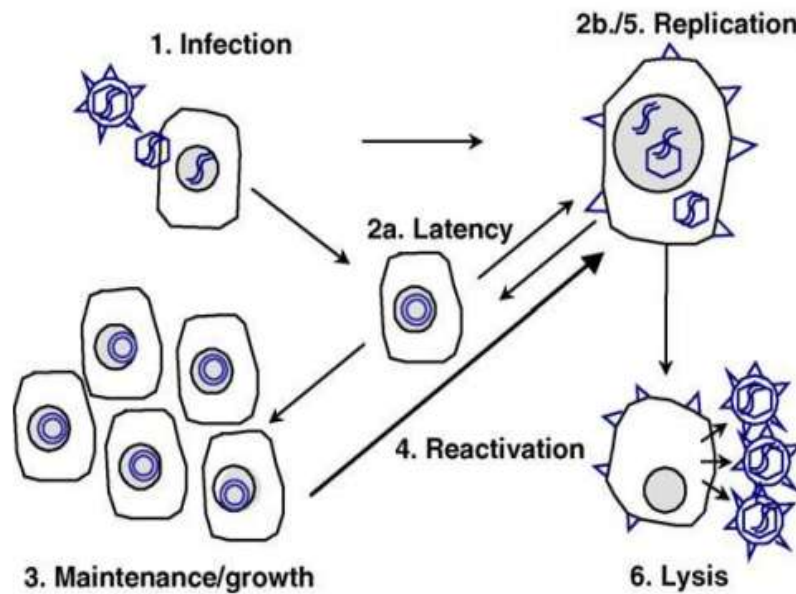


Figure 26 : Devenir des cellules infectées par les gammaherpèsvirus (Ackermann, 2006).

4.1. Cycle lytique

Le cycle de multiplication virale aboutit à la formation d'une nouvelle génération de particules infectieuses et à la lyse cellulaire par l'effet cytopathogène du virus.

L'interaction entre les glycoprotéines de l'enveloppe virale et les récepteurs membranaires cellulaires aboutit à la fusion des membranes et l'entrée du virus dans la cellule hôte. Le premier récepteur cellulaire reconnu par le BHV4 est l'héparan sulfate (Vanderplasschen et al., 1993). Ces molécules sont présentes à la surface d'un grand nombre de cellules, ce qui permet d'expliquer en partie le large spectre de cellules sensibles au virus. La nucléocapside ainsi que certaines protéines du tégment sont ensuite acheminées vers le noyau cellulaire. L'ADN viral est libéré dans le noyau au travers d'un pore suite à la décapsidation, il se circularise immédiatement après. La traduction des protéines virales commence même avant la réplication de l'ADN viral. La cinétique de la production virale du BHV4 est lente (Storz et al., 1984) et l'expression des gènes viraux est dépendante du cycle cellulaire. Il est indispensable que la cellule infectée soit en phase S pour la réplication de l'ADN viral. Ainsi, le virus ne se multiplie que dans une cellule en division, comme les cellules souches immunitaires (Vanderplasschen et al., 1995). L'acquisition de l'enveloppe virale est issue de la membrane

interne du noyau ou des vésicules golgiennes. La sortie du virus s'effectue par bourgeonnement ou lyse cellulaire suite à l'induction de l'apoptose. Le BHV4 est d'ailleurs capable d'inhiber l'apoptose (Gillet et al., 2004), assurant ainsi une multiplication virale plus intense. Les particules virales de BHV4 sont relarguées 48h post-infection.

4.2. Cycle latent

La latence est observée chez tous les herpesvirus. Elle consiste en l'installation du virus au sein des cellules, en l'absence de multiplication virale. La latence est établie dans les cellules mononuclées sanguines et dans les cellules de tissus lymphoïdes pour BHV4 (Muylkens et al., 2007). L'initiation de l'infection latente se déroule comme le début de l'infection productive. Lorsque l'état latent est établi, la transcription des gènes viraux est sévèrement réduite.

A l'état latent, le génome viral persiste au sein du noyau sous une forme circulaire appelée épisome. Si la cellule infectée de manière latente se divise, c'est le cas des cellules souches immunitaires, l'ADN viral se comporte comme une unité génomique autosomale, l'épisome se duplique en même temps que l'ADN génomique de la cellule et les copies se distribuent de manière aléatoire dans les cellules filles (Markine-Goriaynoff et al., 2003).

L'état de latence peut être interrompu à la suite d'un stimulus exogène. Des changements dans la physiologie cellulaire peuvent conférer à la cellule la permissivité nécessaire à une infection productive. Le génome est alors transcrit plus efficacement et est répliqué ; de nouveaux virions sont produits.

III. Pathogénie de l'infection virale

La pathogénie du BHV4 se caractérise par une infection primaire suivie d'une infection latente pouvant être réactivée à la suite d'un stimulus (figure 27).

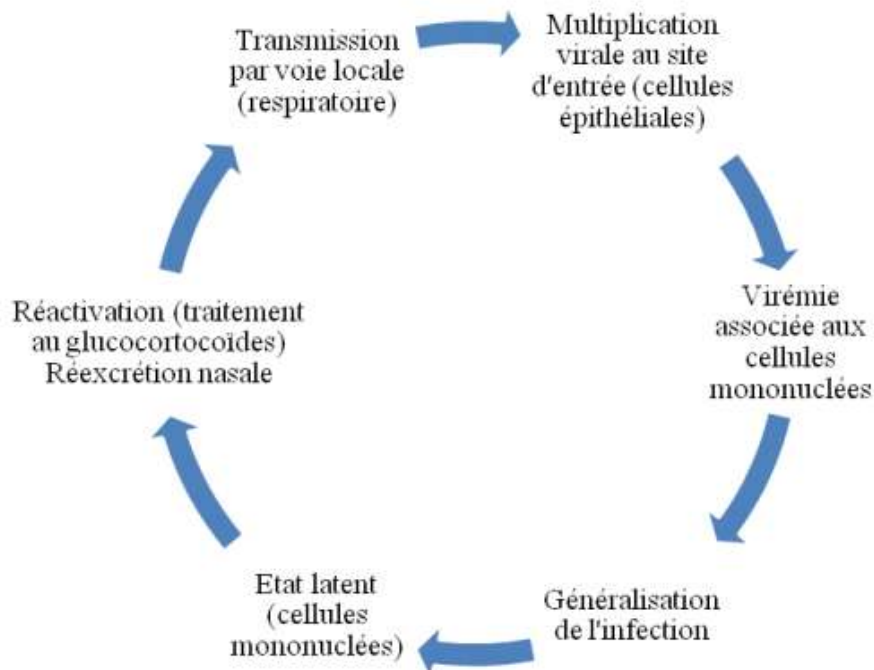


Figure 27 : Pathogénie de l'infection par le BHV4 (Chevanne, 2014).

1. Infection primaire

Le BHV4 est régulièrement isolé à la fois du tractus respiratoire supérieur (Castrucci et al., 1987) et des voies génitales (Van Opdenbosch et al., 1988). Ces deux voies sont considérées comme les deux principales voies d'entrées du BHV4. La multiplication primaire du virus se déroule vraisemblablement au niveau des cellules épithéliales des muqueuses de la porte d'entrée, notamment les cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur (Egyed et al., 1996). Le virus se propagerait ensuite dans l'organisme par le biais des cellules mononuclées infectées (Lin et al., 1999). La virémie n'est pas toujours détectable et peut réapparaître de façon périodique (Egyed et al., 1999). Les tissus lymphoïdes, les cellules sanguines mononuclées sont considérées comme des sites primaires d'infection. Le virus peut par ailleurs passer la barrière placentaire et ainsi infecter le fœtus (Wellemans et al., 1986).

Le virus se multiplierait également après généralisation au niveau des épithéliums oculaires, respiratoires et génitaux. Ces tissus sont considérés à la fois comme des sites de multiplication primaires et secondaires. Le virus peut y produire des lésions de nécrose cellulaire et être excrété dans les écoulements oculaires, le jetage nasal et les sécrétions génitales (Monge et al., 2006).

2. Etablissement de la latence

Après une primo-infection, le BHV4 s'installe à l'état latent, à 48 jours post-inoculation (Egyed et al., 1996) voire même plus précocement. La présence du virus à l'état latent a été démontrée dans cellules mononucléées sanguines (CMS) (Boerner et al., 1999). Toutefois, le BHV4 a pu être isolé de divers tissus à l'état latent tels les tissus lymphoïdes (rate, nœuds lymphatiques, amygdales), les tissus nerveux (ganglion trijumeau, cerveau, cervelet, moelle épinière), les testicules, les rein, le tractus respiratoire supérieur, le poumon, la moelle osseuse, la conjonctive, la cornée, le tractus digestif et la vésicule biliaire (Castrucci et al., 1996 ; Egyed, 2000). Cependant, certains auteurs soutiennent l'hypothèse de la latence du BHV4 au niveau des cellules mononucléées sanguines (CMS) et non pas dans les organes décrit précédemment, expliquant ce phénomène par la circulation de CMS dans tous les organes et tissus de l'organisme (Boerner et al., 1999).

3. Réactivation virale et réexcrétion

Le BHV4 à l'état latent peut être réactivé à la suite d'un stimulus naturel tel que la parturition, un long transport (Pershev et Christova, 2013) et de brusques changements de température (Izumi et al., 2006) ou expérimental tel qu'un traitement à la dexaméthasone (Van Opdenbosch et al., 1986). Ces facteurs induisent une augmentation du taux circulant en cortisol.

Des études sur le BHV1 ont démontré que la dexaméthasone était réellement responsable de la réactivation virale et non d'un quelconque effet immunosuppresseur, puisque l'administration de cyclophosphamide (substance immunosuppressive) ne permettait pas la levée de latence (Galais-Duhamel, 2006).

Il est alors réisolé à partir d'écouvillons nasaux, des tissus nerveux, des poumons, de la rate et des cellules testiculaires (Morán et al., 2015). Les caractéristiques des isolats viraux réisolés après réactivation ou durant la période de latence ne diffèrent pas du virus inoculé initialement.

IV. Pouvoir immunogène

Les épitopes cibles (GP11/VP24) des anticorps neutralisants du BHV4 sont conformationnelles et ne sont pas reconnus dans la plupart des isolats par ces anticorps. Ces épitopes sont faiblement exposés au système immunitaire et présente une faible avidité envers les anticorps monoclonaux neutralisants (Dubuisson et al., 1990 ; Morán et al., 2015). Le gp 180 est une glycoprotéine d'enveloppe conservée dans tous les gammaherpesvirus. Elle est impliquée dans la fixation du virus aux récepteurs cellulaires et joue un rôle dans le tropisme viral. Récemment, il a été montré que cette protéine peut masquer les épitopes glycanes sur les glycoprotéines virales gB, gH et gL contribuant à soustraire les anticorps neutralisants (Machiels et al., 2011), ce qui résulte une réponse immunitaire humorale de faible efficacité ou de faibles niveaux d'anticorps neutralisants (Dubuisson et al., 1990). De ce fait, le test de séroneutralisation ne peut donc être utilisé pour identifier une souche de BHV4 ou pour détecter des anticorps. Par contre, des techniques comme l'IFI ou l'ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) détectent de hauts titres en anticorps spécifiques (anticorps non neutralisants) anti-BHV4 entre le 14^{ème} et 20^{ème} jour après une infection primaire (Dubuisson et al., 1987 ; Markine-Goriaynoff et al., 2003). De plus, une réponse secondaire est mise en évidence par ces techniques à la suite de la réactivation virale (Dubuisson et al., 1989).

Les anticorps neutralisants apparaissent entre 22 et 34 jours après la primo-infection (Castrucci et al., 1987). Cependant, la présence du complément permet une détection plus précoce et augmente considérablement les titres d'anticorps neutralisants anti-BHV4 (Dubuisson et al., 1987). Aucune réponse secondaire en anticorps neutralisants n'est observée chez les animaux infectés. Ceci suggère que le BHV4 n'est neutralisé que par des immunoglobulines précoces appartenant probablement à la classe des IgM (Dubuisson et al., 1989).

Le rôle de l'immunité à médiation cellulaire contre le BHV4 est très peu documentée (Thiry et al., 1989). Le tropisme du BHV4 pour les CMS et les tissus lymphoïdes peut interférer avec la régulation de la réponse immune à médiation cellulaire et humorale, mais ces effets n'ont pas encore été étudiés (Osorio et al., 1985). Seuls des tests d'hypersensibilité retardée ont été pratiqués chez les bovins infectés expérimentalement. Ceux-ci se sont révélés négatifs à plusieurs reprises et ne peuvent donc pas être utilisés pour le diagnostic de routine (Castrucci

et al., 1988 ; Markine-Goriaynoff et al., 2003). Un test de l'interféron- γ a également été suggéré pour investiguer la réponse à médiation cellulaire envers le BHV4 (Godfroid et al., 1996).

IV. Signe cliniques associés au BHV4 chez les bovins

La pathologie liée au BHV4 n'a pas encore été clairement associée à une entité pathologique particulière. Le BHV4 a été trouvé associé à une variété de signes cliniques tels une péritonite, une diarrhée (en association avec *Cryptosporidium*), la mort subite chez les nouveau-nés, une pneumonie, des signes oculaires chez les veaux, une encéphalite, des lésions cutanées, une synovite, une dermatite digitale, une infertilité, un avortement, une métrite, une vulvo-vaginite, mais aussi une orchite et une mammites (Chastant-Maillard, 2013). Actuellement, son implication en pathologie de la reproduction est très discuté et très étudié, par rapport aux autres pathologies décrites précédemment (Fichtelova et Kovarcik, 2010 ; Chastant-Maillard, 2013). Cette diversité des signes cliniques est due à l'affinité du BHV4 pour les cellules mononuclées sanguines (CMS), ce qui fait que le virus peut-être virtuellement isolé de tous les organes. L'infection massive des CMS par le BHV4 pourrait engendrer une altération de la réponse immunitaire, ouvrant la voie à une multitude d'expressions cliniques chez l'individu infecté (Thiry, 2007). Cette immunodépression favoriserait l'avènement de pathogènes opportunistes. En effet, dans 75% des cas d'isolement du BHV4, l'association avec d'autres bactéries, champignons ou d'autres virus a été rapportée (Frazier et al, 2001; Fabian et al., 2008). Le virus a également été isolé à partir d'animaux sains (Frazier et al., 2002; Monge et al, 2006). C'est pour cette raison, qu'il a parfois été qualifié de « virus passager » (Thiry et al., 2000).

VI. Epidemiologie

1. Epidémiologie descriptive

1.1. Espèces sensibles

Contrairement à la plupart des gammaherpesvirus, le BHV4 a la capacité de se répliquer dans une large gamme d'espèces, parmi lesquels, le bison Américain, le buffle Africain, les cerfs, les chèvres, les moutons, les non-ruminants comme le lion, le chat domestique et le lapin. Il peut également se répliquer à une variété de cellules cultivées, y compris les lignées cellulaires bovines, ovines, caprines, canines, félines, porcines, celles du poulet et du lapin, ainsi que dans plusieurs lignées cellulaires humaines (Morán et al., 2015).

1.2. Répartition géographique

Le virus a été identifié dans de nombreux pays, notamment en Europe, mais aussi en Afrique, en Amérique du Nord et en Asie. Plusieurs études sérologiques ont permis de mettre en évidence la prévalence de l'infection par ce virus : En Belgique, 28,7 % des exploitations de Wallonie sont séropositives, contre 15 % en Flandre (Van Malderen et al., 1987). En Serbie, près de 84 % des sérums de vaches issues d'un troupeau à problème de métrite ont réagi positivement au BHV4 (Nikolin et al., 2007). Au Zaïre, 70% de bovins ont été détectés séropositifs (Eyanga et al., 1989). Au Ghana et en Ethiopie, des séroprévalences de 14 % et de 22,3 % respectivement ont été rapportées (Marchot et al., 1991 ; Woldemeskel et al., 2000). En Amérique du Nord, la prévalence de BHV4 dans le lait de 176 vaches testées au Canada, était de 98,2 % (Ali et al., 2011). En Asie, et au Japon plus précisément, 8,9 % des bovins étaient séropositifs par ELISA (Asano et al., 2003). Enfin, au Taïwan, Kwang en 1999 a mis en évidence une séroprévalence de 23,3 %.

2. Epidémiologie analytique

2.1. La source de virus

Les sources virulentes du BHV4 n'ont pas fait l'objet d'études approfondies (Egyed et al., 2011). Cependant, le virus a été isolé à partir des sécrétions respiratoires et des exsudats utérins, des sécrétions vaginales, de sperme, de lait des animaux contaminés ainsi que des animaux latents en phase de ré-excrétion, et même parfois chez les animaux sains.

2.2. Mode de transmission

A. Voie horizontale

Il convient de rappeler que le BHV4 est un virus enveloppé, donc peu résistant dans le milieu extérieur. Il est sensible au dessèchement et à la lumière mais peut présenter une résistance modérée aux températures hivernales avec une hygrométrie élevée. La transmission horizontale se fait par contact direct et indirect. Toutefois, la transmission directe sur de courtes distances est privilégiée, typiquement chez les bovins par le contact direct de mufle à mufle, ou transporter via des aérosols (Egyed et al., 2011 ; Morán et al., 2015).

Le principal mode de transmission du BHV4 n'a pas encore été établi avec certitude. Cependant, des preuves expérimentales montrent que le lait représente un bon candidat pour la transmission

du BHV4, il prémunit le virus du dessèchement et de l'action de la lumière. Le virus est protégé par les membranes lipidiques cellulaires, ce fait peut augmenter la probabilité de l'infection des veaux par le contact étroit entre le BHV4 et la muqueuse orale (Donofrio et al., 2000). De plus la réponse immunitaire contre le BHV4 est caractérisée par une faible production d'anticorps neutralisants avec une faible avidité, Ces faibles niveaux d'anticorps dans le lait et le colostrum provenant de vaches infectées pourraient favoriser également la transmission des virus aux veaux sains (Donofrio et al., 2000). En outre, le BHV4 a un tropisme pour le tissu mammaire, or le tissu mammaire infecté agit comme une source de contamination du lait (Miyano et al., 2004).

La transmission vénérienne du BHV4 reste à démontrer (Thiry, 2007), en effet, il n'existe pas suffisamment d'études qui décrivent l'isolement et la détection du virus dans le sperme des bovins infectés (Chastant-Maillard et al., 2012).

B. Voie verticale

La transmission transplacentaire du BHV4 existe (Egyed et al., 2011). Le virus peut atteindre les tissus fœtaux à tout moment de la gestation, par fusion directe aux membranes des cellules placentaires ou par les macrophages infectés, considérés comme les principaux vecteurs du génome BHV4 latent (Egyed et al., 2011). Cependant, cette transmission in utero semble peu efficace et les veaux issus de mère infectée ne sont pas systématiquement infectés (Markine-Goriaynoff et al., 2003).

3. Epidémiologie synthétique

3.1. Maintien de l'infection

Trois propriétés du BHV4 rendent son infection très difficile à éradiquer en élevage : l'établissement de la latence, la transmission transplacentaire du BHV4 parfois sans conséquences graves pour le veau (Egyed et al., 2011) et enfin le caractère peu pathogène du virus qui rend sa détection clinique non évidente. Tous ces éléments concourent grandement au maintien de l'infection à l'échelle du troupeau.

VII. Diagnostic du BHV4

L'épidémiologie et la clinique du BHV4 ne sont pas assez spécifiques pour permettre à elles seules le diagnostic d'une infection. Ces éléments rendent nécessaires, le recours aux analyses de laboratoires.

1. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic peut être réalisé par la mise en évidence du virus de façon directe (isolement viral ou mise en évidence du génome ou des antigènes viraux) ou indirecte (démonstration d'une réponse immune dirigée contre le BHV4).

1.1. Diagnostic indirect

Le diagnostic indirect repose sur la démonstration de la présence ou du passage du BHV4 par la détection d'une réaction immune humorale spécifique dirigée contre le virus. Ce diagnostic repose sur la mise en évidence des anticorps anti-BHV4 par différents tests tels que les réactions immuno-enzymatiques ELISA (ou Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) (Edwards et Newman, 1985), notamment l'ELISA indirecte (Carpinschi et al., 2009), le Dot Immunobinding Assay ou DIA, décrit comme une forme modifiée d'ELISA (Essmail et al., 1999 ; Naeem et Goyal, 1990), les tests d'immunofluorescence notamment indirecte ou IFI (Leboeuf, 2009) et les tests d'épreuve d'immunoperoxydase sur monocouche de culture cellulaire ou IPMA pour ImmunoPeroxidase Monolayer Assay (Wellenberg et al., 1999).

Par ailleurs, d'autres tests mettant en jeu les propriétés biologiques des anticorps anti-BHV4 ont été développés, à titre d'exemple, la réaction de fixation du complément (Guo et al., 1988). Cependant, le test de seroneutralisation n'est pas utilisable chez les bovins (Edwards et Newman, 1985), car les bovins infectés par le BHV4 produisent peu voire pas d'anticorps neutralisants à l'égard de ce virus. De plus, la réponse est faible et transitoire (Essmail et al., 1999).

1.2. Diagnostic direct

A l'instar des autres gammaherpèsvirus, le BHV4 a la capacité d'établir une latence chez l'hôte infecté et possède un faible pouvoir immunogène. Ainsi, pour compléter les résultats sérologiques et vérifier une suspicion, la détection du virus ou l'ADN viral est devenu nécessaire (Fabian et Egyed, 2004).

Le diagnostic direct d'infection par le BHV4 peut reposer sur deux principales méthodes, la première méthode est l'isolement viral (IV) suivi d'un test d'immunofluorescence indirecte (IFI) pour identifier les souches et la deuxième est l'extraction d'ADN par amplification génomique (PCR) ou par hybridation in situ.

Le diagnostic de certitude reste l'isolement viral (IV), il peut se réaliser sur des prélèvements d'avortement (placenta) mais reste difficile en pratique. Cependant, ce test nécessite une culture pendant trois jours sur cellules primaires de rein de fœtus bovin, avant l'utilisation de l'IFI à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques (Treilles et al., 2013).

Le diagnostic par PCR utilise des amorces spécifiques, tel le gène codant pour la glycoprotéine gB (Boerner et al., 1999) ou la thymidine kinase (Egyed et al., 1996; Egyed et Bartha, 1998 ; Wellenberg et al., 2001). La recherche de fragments d'ADN propres au BHV4 par hybridation (dot-blot, Southern blot) après amplification génomique par PCR est décrite comme la méthode d'avenir (Deim et al., 2007). Autres variétés de PCR ont été développées plus tard, telle que la PCR nichée, qui présente une grande sensibilité comparée à la PCR classique (Donofrio et al., 2000b ; Egyed et al., 1996). Fabian et Egyed (2004), ont développé un test de PCR nichée duplex pour la détection conjointe des gammaherpèsvirus BHV4 et AIHV1 à partir d'un même échantillon pour éviter les réactions croisées qui existent entre les deux virus avec certains tests sérologiques. la PCR en temps réel ou Rt-PCR (Real-time PCR, test quantitatif) a récemment été développée en France et réalisée à partir d'écouvillons vaginaux ou placentaires (Treilles et al., 2013). En effet, la PCR présente plusieurs avantages : une très bonne sensibilité, un délai d'obtention des résultats plus court que pour les autres techniques, détection des animaux porteurs latents, la viabilité du virus non obligatoire et enfin elle peut être réalisable sur un grande variété d'échantillons (écouvillons vaginaux, placentaire, lait.....).

VIII. Prophylaxie

La transmission verticale du virus de la mère infectée au fœtus rend l'éradication du virus dans un cheptel très difficile (Egyed et al., 2011). La latence, le caractère peu pathogène et la relative méconnaissance du virus rend sa détection clinique difficile. Enfin, la vaccination contre le BHV4 n'est pas possible. Les seules mesures de lutte efficaces contre le BHV4, actuellement, demeurent les mesures prophylactiques.

1. Prophylaxie sanitaire

La prophylaxie sanitaire se base en premier lieu sur la détection des animaux infectés et leur éradication, en second lieu sur la prévention de l'infection des animaux indemnes.

D'abord, pour éradiquer le BHV4 dans un cheptel, les animaux infectés de manière latente seront identifiés par examen sérologique. Les séropositifs seront séparés du groupe séronégatif, ou mieux éliminés du troupeau (Egyed et al., 2011).

Ensuite, pour prévenir les nouvelles infections au sein d'un cheptel, plusieurs mesures d'hygiène générales doivent être entreprises. Les mesures de contrôle prendront surtout en compte la transmission directe du virus par voie respiratoire et devront empêcher les contacts directs entre animaux séropositifs et séronégatifs. La transmission indirecte du virus est prévenue par l'utilisation de matériel distinct pour les deux groupes d'animaux, les séropositifs et les séronégatifs et par la séparation des points d'alimentation et d'abreuvement (Thiry, 2002). L'évitement des facteurs stressants qui peuvent engendrer la réactivation virale. De ce fait, le vêlage doit se réaliser dans un endroit calme et isolé du reste du troupeau. Les animaux naïfs, à savoir ceux qui n'ont jamais rencontré le virus, correspondant généralement aux animaux les plus jeunes, sont les plus sensibles et la période du vêlage semble être celle à risque. L'élimination des placentas, liquides et autres déchets biologiques liés à la parturition doit être rapidement réalisée. Une attention particulière sera donnée aux vaches post-parturientes séropositives, susceptibles d'excréter le BHV4 en grande quantité et de manière prolongée dans les exsudats utérins (Thiry et al., 2000) et potentiellement dans le lait (Donofrio et al., 2000). Dans des élevages séropositifs, les traitements à base de glucocorticoïdes sont déconseillés (Leboeuf, 2013) pour prévenir les réactivations virales iatrogènes, même si les doses expérimentales les engendrant excèdent les doses usuellement administrées.

2. Prophylaxie médicale

Des vaccins contre le BHV4 ont été développés aux Etats-Unis, mais restent absents en Europe. Cependant, ce virus a des caractéristiques qui en font un outil intéressant comme vecteur potentiel pour la production de vaccins. Il a une structure génomique moins complexe par rapport à d'autres herpèsvirus, ce qui permet une insertion stable de l'information génétique supplémentaire dans son génome pour la production de vaccin recombinant, il est facilement reproductible dans les cultures cellulaires et ne produit pas de maladie mortelle chez les hôtes naturels et chez les animaux disponibles pour l'expérimentation (Zimmermann et al., 2001).

Les derniers résultats satisfaisants ont été obtenus par des études dans lesquelles une souche non pathogène de BHV4 a été utilisée en tant que vecteur pour des peptides immunogènes d'autres

agents viraux notamment le virus de la diarrhée virale bovine et de bovine herpèsvirus 1 (Donofrio et al., 2009).

PARTIE EXPERIMENTALE



I. Problématique et objectifs de l'étude

Malgré le potentiel considérable de l'élevage bovin en Algérie, le pays est toujours confronté à un énorme déficit dans les produits laitiers et viandeux. Ce problème impose chaque année à notre état, une facture assez lourde de l'importation dont le chiffre est de 2.045 milliards de dollars pour le lait et de 0,307 pour la viande (Abdelhadi et al., 2015).

Les éleveurs de bovins, à travers le monde, sont confrontés à des problèmes majeurs dans la gestion de leur cheptel notamment suite aux pertes économiques causées par les avortements, qui conduisent non seulement à la perte du produit, mais aussi à un énorme coût dans le traitement et l'alimentation des animaux.

De nombreux agents pathogènes d'origine virale, bactérienne ou parasitaires avaient déjà été associés à l'infertilité et aux avortements chez les bovins (Givens et Marley, 2008). En effet, 20% à 40% des avortements ont de cause connue et 60% à 80% restent des causes inconnues, et Parmi les cas d'avortements d'origine connue, 90% seraient dus à des agents infectieux (Kirkbride, 1992). Kirkbride (1992) a également montré que l'herpèsvirus bovin de type 1 (BHV1), le virus de la diarrhée virale bovine (BVDV) et le virus de la fièvre catarrhale (BTV) sont liés à l'avortement dans les élevages bovins. L'herpèsvirus bovin de type 4 (BHV4) peut causer également l'infertilité et/ou l'avortement précoce de façon inaperçue rarement soumis à des fins de diagnostic (Kirkbride, 1992).

Ce travail a pour objectif de :

- Estimer le taux d'avortement bovin dans des élevages situés à l'Ouest et au Nord-Ouest de la wilaya de Sétif.
- Déterminer les facteurs de risque liés à l'avortement dans ces mêmes élevages.
- Estimer le taux de séroprévalence des infections et coïnfections par le BHV1, le BHV4 et le BVDV dans la région étudiée.
- Étudier certains facteurs de risque potentiellement associés aux infections par le BHV1, le BHV4, le BVDV et aux coïnfections existantes.
- Réaliser une enquête épidémiologique de type cas témoin pour vérifier un lien causal entre les infections par les 3 agents viraux et la présence d'avortement dans les exploitations étudiées.

- Réaliser une enquête épidémiologique de type cas témoin pour mettre en évidence une association directe entre les infections et les coïnfections par les 3 agents viraux et l'avortement chez les vaches étudié.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- les montagnes de Bibans dont l'extrémité orientale couvre le Nord-Ouest de la wilaya et les montagnes du Hodna qui s'étalent sur le Sud et le Sud-Ouest, où l'altitude atteint à Djebel Boutaleb 1890 m. Cette zone occupe plus de 40% de la superficie de la wilaya.

b) Zone des hautes plaines : c'est une immense étendue, occupant 50% de la superficie totale de la wilaya, relativement plate dont l'altitude varie de 900 à 1200 m. En effet, malgré ce caractère plat, des mamelons montagneux sont rencontrés dans cette zone (Djebel Youcef et Braou).

c) Zone de dépression Sud et Sud-Est : située dans le Sud et le Sud-Est de la wilaya, où l'altitude dépasse rarement les 900m. Cette zone pratiquement plate couvre une superficie de 10% de l'espace de la wilaya et se caractérise par la présence des 'chotts' ou dépression salées.

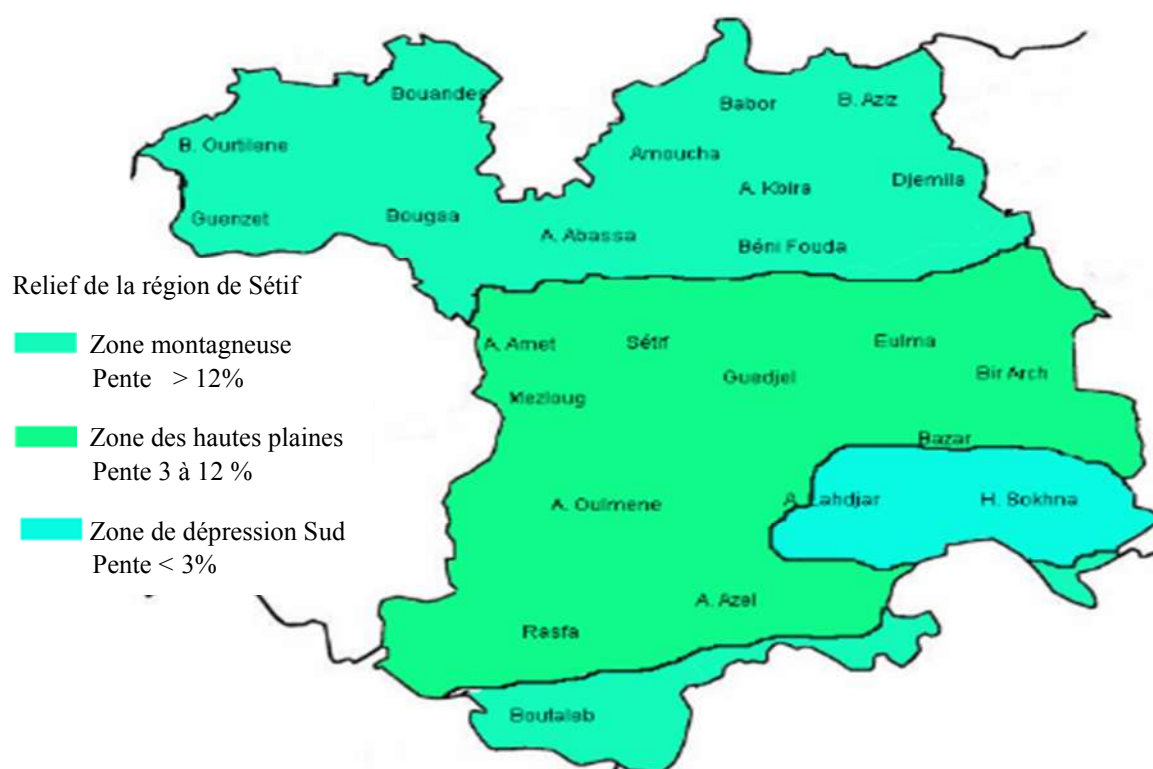


Figure 29 : Carte des reliefs de la wilaya de Sétif (Mouffok, 2007).

1.2.2. Climat

La structure des reliefs a ses conséquences sur le climat de la région. Les montagnes de Babor aux extrêmes Nord sont les plus arrosées recevant annuellement plus de 700mm de précipitations. Cette formation montagneuse provoque le blocage des influences maritimes en réduisant ainsi le taux de précipitation qui se situe à 400mm au Centre et à moins de 200mm à

l'extrême Sud. Ces précipitations sont caractérisées par l'irrégularité dans le temps et l'espace. Généralement, les étés sont chauds et secs et les hivers froids et rigoureux.

Les températures moyennes varient selon la saison. L'examen de l'évolution des températures moyennes durant les 25 dernières années dans la zone des hautes plaines montre que le mois de janvier est le plus froid ($5,03^{\circ}\text{C}$) alors que le mois de juillet est le plus chaud ($26,07^{\circ}\text{C}$). Il est à noter aussi que la région de Sétif est caractérisée par la longueur de la période de gelée qui peut aller jusqu'à 45 jours par an (Novembre vers Mai), et des vents de siroco pendant la saison estivale.

Remarque : Notre étude a été réalisée dans quatre communes à l'Ouest et au Nord-Ouest de la willaya de Sétif dont Ain Roua, Ain Abessa et El-Ouricia situées dans la zone montagneuse et Ain Arnet est située dans les hautes plaines (figure 30).



● Les communes échantillonnées

Figure 30 : les régions échantillonnées de la willaya de Sétif.

1.3. Production animale dans la région d'étude

L'élevage ovin dont l'alimentation dépend de la céréaliculture, occupe la première place avec 468 880 têtes. Il est suivi par l'élevage bovin dont l'effectif est évalué à 161 952 têtes dont 79 659 vaches laitières alors que l'élevage caprin est de type traditionnel. Celui-ci totalise un effectif estimé à 66 220 têtes, et associé généralement aux troupeaux ovins (DSA,2015).

1.4. Description du mode d'élevage bovin

La wilaya de Sétif possède approximativement 161 952 têtes de bovins dont 79 659 têtes de vaches laitières. Cependant, la région étudiée dispose de 16 435 têtes bovines dont 8850 vaches laitières (DSA, 2015).

L'espèce bovine est subdivisée en trois catégories :

- **Le BLM** (bovin laitier moderne), composé principalement de races européennes notamment la Montbéliarde, la Holstein, la Fleckvieh et la Brune des Alpes. Il présente un effectif de 33% (DSA, 2015).

- **Le BLA** (bovin laitier amélioré), constitué des populations issues de croisement anarchique entre les races importées et les races locales ainsi que les races importées entre elles-mêmes. Il présente un effectif de 47% (DSA, 2015).

- **Le BLL** (bovin laitier local), constitué de la race locale qui regroupe sous la dénomination « Brune de l'Atlas », 4 rameaux importants (la Guelmoise, la Cherfa, la Chélifienne et la Sétifienne). Il présente un effectif de 20% (DSA, 2015).

Le mode d'élevage est généralement de type semi-intensif. Les animaux sont nourris au foin, au son et à l'herbe pendant la saison de pâturage. Celle-ci va de mars à décembre avec des variations suivant les conditions climatiques.

2. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique

2.1. Mode d'échantillonnage

2.1.1. Enquête épidémiologique descriptive sur les avortements

Une enquête épidémiologique descriptive a été réalisée au moyen d'un questionnaire bien structuré (annexe 1) et adressé à l'éleveur de la ferme afin notamment de déterminer comme premier aspect important si la ferme avait connu des épisodes d'avortements et ensuite de récolter un maximum d'informations pour l'analyse des facteurs de risque d'avortement. Le

questionnaire a concerné 40 exploitations bovines et un total de 300 vaches (ayant avorté ou non).

Ainsi, le questionnaire était divisé en deux parties :

La première partie concerne les pratiques de gestion de l'élevage : la localisation géographique (commune), l'effectif total du troupeau, le type de production, le mode d'élevage, le mode de reproduction, l'isolement des animaux nouvellement acquis, le pâturage commun des troupeaux, la présence de petits ruminants (annexe 1).

La deuxième partie a concerné des données individuelles recueillies pour chaque vache retenue pour cette étude à savoir, la race, l'âge, le nombre de mises bas, la source de l'animal, la gestation, le stade de gestation, les antécédents d'avortement (annexe 1).

Ce questionnaire a servi également pour analyser les facteurs de risque potentiels liés à l'infection par les virus BHV1, BVDV, BHV4 (voir la parité de l'étude de la séroprévalence vis-à-vis du BHV1, BVDV, BHV4).

2.1.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis du BHV1, BVDV, BHV4

L'estimation de la séroprévalence nous a permis de réaliser une étude épidémiologique de type transversale (a cross-sectional study). Cette étude a eu lieu durant la période allant de septembre 2014 à juin 2015, sur cent quatre-vingt-quatre bovins (n=184) issus de vingt-six élevages différents (n=26).

Les différentes exploitations bovines se trouvent dans 4 communes à l'Ouest et au Nord-Ouest de la wilaya de Sétif (tableau 5).

Si on se réfère au chiffre de la direction des services agricoles (2015), l'échantillonnage réalisé a été d'environ 1.1 % pour les élevages bovins (n=2347), d'environ 1.2 % pour les bovins (n=16 435) et d'environ 4.3% pour les vaches laitières (n=8850).

L'échantillonnage a été réalisé en deux étapes ; nous avons d'abord effectué un choix aléatoire (tirage au sort) des fermes à partir d'une liste des éleveurs bovins de la région (issue de la campagne de vaccination antirabique et anti-fièvre aphteuse en 2013). Le but était d'avoir une répartition homogène des élevages sélectionnés sur la zone d'étude. Par la suite, le nombre de bovins à prélever dans chaque ferme a été défini en fonction du nombre total de bovins présents dans celle-ci : soit la ferme comprenait moins de 10 bovins et, dans ce cas tous les bovins étaient

prélevés, soit la ferme contenait plus de 10 bovins et, dans ce cas, au moins 10 individus étaient prélevés. L'objectif était d'avoir un échantillon représentant au moins 10% de l'ensemble des individus présents dans les fermes visitées (Ghalmi et al., 2012 ; Dias et al., 2012; Sarrazin et al., 2013).

Tableau 5 : Répartition des vaches prélevées par exploitation et par commune.

Les communes	Nombres des exploitations	Nombre des vaches prélevées
Ain Abessa	12	95
Ain Arnet	6	36
Ain Roua	5	39
El-Ouricia	3	14
total	26	184

2.1.3. Étude épidémiologique de type cas-témoin

Une étude épidémiologique de type cas-témoin a été réalisée, les fermes cas sont définies comme des fermes ayant eu des problèmes d'avortement. Les fermes témoins sont celles qui n'ont jamais connu d'épisodes d'avortements. Lors de cette étude, nous avons analysé 19 fermes cas et 7 fermes témoins. Ceci correspond à un rapport de 19 cas/7témoins.

Les vaches aussi ont été partagées en deux groupes : les vaches ayant avorté (n=88) et vaches n'ayant jamais avorté (n=96).

Le but de cette étude est de déterminer un éventuel lien entre l'exposition aux virus BHV1, BHV4 et BVDV et les avortements dans les fermes ou encore exprimer une relation entre l'exposition à ces virus et les avortements à travers le calcul des risques attribués à chaque pathogène (voir détail dans partie analyses statistiques).

3. Nature et préparation des prélèvements

Des prélèvements sanguins ont été réalisés par ponction soit à partir de la veine jugulaire soit dans la veine coccygienne (caudale). Le sang a été collecté dans des tubes vacutainer secs stériles sous vide portant le numéro de l'identification de l'animal.

Les tubes de prélèvements ont été étiquetés selon un code faisant ressortir le numéro d'identification de l'animal, le nom de l'éleveur et la localisation de l'élevage.

Après coagulation à température ambiante pendant 8 à 24 heures, les sérums ont été constitués et transvasés dans des tubes Eppendorf pour être conservés à -20°C jusqu'à analyse.

4. Analyses sérologiques

La recherche des anticorps dirigés contre les virus BHV1, BHV4 et BVDV a été réalisée par la technique ELISA indirect qui a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie Médicale de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger. La lecture des résultats (densité optique) a été réalisée par un lecteur de plaques ELISA se trouvant au laboratoire de recherche Santé et Production Animale.

4.1. La technique ELISA Indirect BHV1, BHV4 et BVDV

Le Kit ELISA (BHV1, BVDV, BHV4) abortion est un kit ELISA indirect pour le sérodiagnostic du BHV 1, BVDV, BHV 4 chez les bovins. Le test utilise des plaques de microtitrage à 96 puits qui ont été sensibilisées par trois agents pathogènes ; 2 lignées par BHV1, 2 par le BVDV, 2 par BHV4 et 2 par un contrôle négatif (figure 31).

Les anticorps vis-à-vis du BHV1, BHV4 et BVDV ont été recherchés par la technique ELISA indirect à l'aide du kit BIO X Abortion (BHV1, BVDV et BHV4) selon le principe suivant :

Les anticorps spécifiques aux BHV1, BHV4 et BVDV éventuellement présents dans les échantillons se lient à l'antigène. Des IgG1 monoclonaux anti-bovines marquées à la peroxydase sont ajoutées pour aller se fixer sur les anticorps préalablement fixés sur les microcupules. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage avant addition d'un substrat chromogène (TMB). L'apparition d'une coloration est la conséquence de l'oxydation du substrat par la peroxydase du conjugué. L'intensité de la coloration de chaque puits est proportionnelle aux taux d'anticorps anti-BHV1, BHV4 et BVDV présents dans l'échantillon dilué. Après arrêt de la réaction, la lecture des résultats (densité optique) est réalisée par un lecteur de plaques ELISA. Les sérums de contrôle positif anti- BHV1, BHV4 et BVDV sont fournis avec le kit. Le test a été réalisé suivant les instructions du fabricant. Le mode opératoire et l'interprétation des résultats sont détaillés en annexe 2.

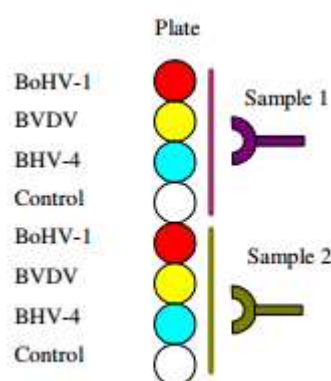


Figure 31 : Schéma représente le kit ELISA trivalent de (BHV1, BHV4 et BVDV).

5. Analyses statistiques

5.1. Enquête séro-épidémiologique de l'infection par les virus BHV1, BVDV et BHV4

L'exploitation statistique des données recueillies à partir du questionnaire et des résultats des analyses sérologiques a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS version 19 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

Ainsi, les variables ont été codées, enregistrées puis analysées avec un intervalle de confiance de 95 %. La variable dépendante, étant le résultat de l'analyse sérologique au BHV1, BHV4 et BVDV. Celle-ci a été codée 0 pour un échantillon négatif et 1 pour un échantillon positif. Les variables explicatives, indépendantes ont été codées en deux catégories pour ce qui est des questions à réponses oui ou non ; 0 pour non et 1 pour oui. Pour les questions à choix multiples, les catégories de réponses ont été codées de 0 à 3.

- Les prévalences et l'intervalle de confiance (IC) ont été calculés selon les formules suivantes (Toma et al., 2001) :

(P) = $n/N \times 100$ avec n = nombre de prélèvements positifs et N = nombre total des prélèvements analysés.

(IC) = $P \pm 1.96 \sqrt{p(1-p)/N}$, avec p = prévalence observée dans l'échantillon.

- L'analyse des facteurs de risque potentiellement associés à la séropositivité vis-à-vis des agents abortifs étudiés a été effectuée par le biais du test du Khi-deux de Pearson (χ^2) avec le calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC).

5.2. Enquête épidémiologique sur l'avortement

Les prévalences d'avortement, les intervalles de confiance ainsi que les facteurs de risque potentiellement associés à l'avortement sont calculés de la même façon que l'enquête sérologique.

5.3. Enquête cas-témoin

Dans l'enquête cas-témoin, 3 trois paramètres ont été calculés.

5.3.1. Odds ratio (OR)

La force d'association entre la séropositivité aux BHV1, BHV4 et BVDV et les avortements a été mesurée par le biais du test du Khi-deux de Pearson (χ^2) et de l'odds ratio (OR) avec calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC). En se basant sur un risque de première espèce α égal à 0,05. La variable est considérée comme facteur de risque lorsque l'OR et la valeur de p (χ^2) sont significatifs (OR > 1 et valeur de p < 0,05) (Toma et al.,2001).

L'interprétation de l'odds ratio (OR) se fait de la façon suivante :

- OR = 1, p (χ^2) > 0.05 ou [IC95%] incluant la valeur 1 : absence de relation entre le facteur de risque et la maladie.
- OR > 1, p (χ^2) < 0.05 ou [IC95%] excluant la valeur 1 : risque accru de maladie (facteur de risque).
- OR < 1, p (χ^2) < 0.05 ou [IC95%] excluant la valeur 1 : risque réduit de maladie (facteur protecteur).

5.3.2. Fraction attribuable chez les exposés ou fraction étiologique de risque

La fraction attribuable chez les exposés permet d'exprimer la relation entre l'exposition et la maladie par un indice qui fournit un renseignement important sur la prévention.

La fraction attribuable chez les exposés **AF** est, par définition, la proportion de cas attribuable à l'exposition parmi les sujets exposés (Rockhill et al.,1998), autrement dit, c'est la proportion des cas exposés qui aurait été épargnée si l'exposition n'était pas présente.

Par exemple, dans notre étude, il s'agit de la proportion des cas d'avortements attribués au BHV1, au BVDV ou au BHV4 parmi les cas d'avortements séropositifs vis-à-vis de ces agents, ou bien encore on peut expliquer par la proportion des cas d'avortements exposés à ces agents abortifs qui aurait été épargnée si cette exposition n'était pas présente.

Cet indice est calculé par la loi statistique suivante (Martin et al., 1987 ; Benichou, 1991 ; Garcia-Vazquez, 2005) : $AF = (OR - 1) / OR$

Ainsi, à partir de la fraction attribuable chez les exposés AF , nous pouvons estimer le nombre (Ne) de cas attribuable à l'exposition parmi les cas exposés à travers la formule suivante (Rockhill et al., 1998) :

$Ne = AF \times ne$, soit ne le nombre de cas exposés.

5.3.3. Fraction attribuable dans la population ou fraction étiologique de risque dans la population

La fraction attribuable dans la population (PAF) c'est la proportion parmi tous les cas dans la population cible, de ceux que l'on peut attribuer à l'exposition (Rockhill et al., 1998), expliqué encore par la proportion de tous les cas qui aurait été prévenus si l'exposition n'était pas présente. Elle mesure l'impact global du facteur de risque dans la population en tenant compte de la proportion des individus exposés.

Dans notre étude, c'est la proportion parmi tous les cas d'avortement attribuée au BHV1, au BVDV, au BHV4 ou encore aux coïnfections existantes. On peut expliquer aussi par la proportion de tous les cas d'avortement qui aurait été épargnée si ces virus n'étaient pas présents.

Le PAF est mesuré comme suit (Benichou, 1991 ; Smith, R., 1995 ; Garcia-Vazquez et al., 2005) : $PAF = AF \times \text{proportion des exposés parmi les cas}$.

Ainsi et de la même façon que pour la fraction attribuable chez les exposés AF , nous pouvons estimer le nombre (Np) de cas attribuable à l'exposition parmi le nombre de tous les cas observés à partir de la fraction attribuable dans la population (PAF) (Rockhill et al., 1998).

$Np = PAF \times np$, soit np le nombre de cas total.

La fraction étiologique du risque dans la population est un paramètre fondamental dans les enquêtes épidémiologiques cas-témoin car elle permet de quantifier la proportion de cas évitables si on supprime l'exposition.

- La fraction attribuable dans la population de plusieurs facteurs est calculée de la façon suivante (Steenland et Armstrong, 2006 ; Sanhueza et al., 2011) :

$$PAF_{\text{total}} = 1 - [(1 - P_{AF1}) \times (1 - P_{AF2}) \times (1 - P_{AF3})].$$

RÉSULTATS

II. Résultats

1. Enquête épidémiologique sur les avortements

1.1. Prévalence des avortements

Une enquête épidémiologique a été menée sur base d'un questionnaire (voir annexe 1) dans 40 fermes de la région de l'Ouest et au Nord-Ouest de Sétif.

Sur les 40 fermes bovines étudiées, 19 ont connu des épisodes d'avortement soit un taux de prévalence de 47.5 %. Si on calcule l'intervalle de confiance à 95%, on obtient : $(32 < p < 63)$, soit une prévalence d'avortement au niveau des troupeaux comprise entre 32% et 63%.

À l'échelle individuelle, sur les 300 vaches étudiées, 88 ont avorté, soit une prévalence globale de 29,33% (IC 95% 24.2% -34.5%).

1.2. Étude des facteurs de risque liés aux avortements chez la vache

Différents paramètres ont été investigués pour vérifier s'ils pouvaient être considérés comme des facteurs à risque pour l'avortement chez la vache. Les facteurs considérés sont : la localisation géographique (commune), la taille du troupeau, le mode d'élevage, le type de production, le mode de reproduction, la mise en quarantaine des animaux nouvellement acquis, la présence de petits ruminants dans la ferme, le pâturage commun des troupeaux, la race, l'âge, la parité et l'origine du bovin (cf. annexe).

Les résultats consignés dans le tableau (6) révèlent que les facteurs tels la commune, la taille du troupeau, le mode de reproduction, la présence de petits ruminants dans la ferme, la pratique de mise en quarantaine, le pâturage commun des troupeaux et la source de la vache se sont montrés significativement associés à la survenue des avortements chez les vaches ($p < 0,05$) (tableau 6, figure 32 et 33).

Si on considère la localisation géographique des fermes étudiées, nous constatons que les vaches appartenant aux fermes situées dans la commune d'Ain Arnet présentent un taux d'avortement le plus élevé avec une prévalence de 62 %, suivie par la commune d'El-Ouricia avec une prévalence de 35.89 %. Les vaches des communes d'Ain Roua et Ain Abessa ont montré le taux d'avortement le plus bas avec un taux de 22.22 % et de 19.87 % respectivement (tableau 6, figure 32A).

L'importance de l'effectif fait apparaître une association significative avec la survenue des avortements chez les vaches étudiées ($p < 0.01$). En effet, le taux d'avortement est plus élevé chez les vaches appartenant aux grands troupeaux (40.12 %) par rapport aux troupeaux de faible taille (17.48 %) (tableau 6, figure 32B).

Dans la présente enquête, le mode de reproduction a une influence significative sur la survenue des avortements ($p < 0.05$). En effet, les cas d'avortements sont plus fréquents chez les vaches saillies naturellement (38,77%) que chez celles inséminées artificiellement (24,75%) (tableau 6, figure 32C).

Le contact avec les petits ruminants semble influencer de façon significative l'avortement bovin ($p < 0.05$). En effet, 44,44 % des cas d'avortements surviennent chez les vaches cohabitant avec les petits ruminants contre 20,83% n'ayant aucun contact avec ces animaux (tableau 6, figure 32D).

Si on tient compte maintenant de la prévalence d'avortement en fonction de la pratique de l'isolement des animaux nouvellement acquis, une différence significative a été observée ($p < 0.01$). En effet, 40% des cas d'avortement surviennent chez les vaches élevées dans des exploitations où l'isolement des animaux nouvellement acquis n'est pas pratiqué comparativement aux vaches qui sont isolées avant introduction (15,38%) (tableau 6, figure 32E).

Le pâturage partagé avec des bovins des autres fermes semble également influencer significativement la survenue des avortements chez les vaches ($p < 0.05$). En effet, les vaches qui sont en contact avec les bovins des autres exploitations en pâturage ont présenté un taux d'avortement de 37,37 % contre 25,37 % chez les animaux qui pâturent isolément et ceux qui ne pâturent pas (tableau 6, figure 33A).

Enfin, si on considère le facteur origine de la vache, on constate que le taux de prévalence des avortements varie de façon significative ($p < 0.05$). En effet, les vaches achetées au marché de bestiaux avortent plus fréquemment (34,86%) que les vaches nées à la ferme (23,64%) (tableau 6, figure 33B).

Pour les autres facteurs étudiés (type de production, âge et race) aucune différence significative n'a été relevée avec la survenue des avortements.

Tableau 6 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'avortement chez les vaches étudiées

Variable	Catégorie	N	Prévalence (%), (IC 95%)	Valeur P	Signification
Commune	Ain Abessa (166)	33	19.87 (13.8- 25.9)	0.00013	<i>Si</i>
	Ain Arnet (50)	31	62 (48.5- 75.5)		
	Ain Roua (45)	10	22.22 (10.1- 34.4)		
	El-Ouricia (39)	14	35.89 (20.8- 50.9)		
Taille du troupeau	≤10 (143)	25	17.48 (11.3- 23.7)	0.00001	<i>Si</i>
	>10 (157)	63	40.12 (32.5- 47.8)		
Mode d'élevage	Intensif (81)	23	28.39 (18.6-38.2)	0.828	<i>NS</i>
	Semi-intensif (219)	65	29.68 (23.6-35.7)		
Type de production	Laitière (224)	68	30.35 (24.3- 36.4)	0.504	<i>NS</i>
	Mixte (76)	20	26.31 (16.4- 36.2)		
Mode de reproduction	Naturelle (202)	50	38.77 (29.1-48.4)	0.012	<i>Si</i>
	Artificielle (98)	38	24.75 (18.8-30.7)		
Présence de petits ruminants	Oui (108)	48	44.44 (35.1-53.8)	0.020	<i>Si</i>
	Non (192)	40	20.83 (12.5- 29.1)		
Isolement des animaux nouvellement acquis	Oui (130)	20	15.38 (9.2-21.6)	0.00001	<i>Si</i>
	Non (170)	68	40 (32.6- 47.4)		
Pâturage commun des troupeaux	Oui (201)	51	25.37 (19.4- 31.4)	0.032	<i>Si</i>
	Non (99)	37	37.37 (27.8- 46.9)		
Race	Européenne (149)	49	32.21 (24.7- 39.7)	0.235	<i>NS</i>
	Croisée (141)	38	26.95 (19.6- 34.3)		
	Locale (10)	1	10 (-8.6- 28.6)		
Âge	(2-5) (174)	46	26.43 (19.9- 33)	0.432	<i>NS</i>
	(6-9) (99)	33	33.33 (24- 42.6)		
	>10 (27)	9	30 (12.7- 47.3)		
Source de l'animal	Achetée (152)	53	34.86 (27.3- 42.4)	0.033	<i>Si</i>
	Native (148)	35	23.64 (16.8- 30.5)		
Parité	Primipare (178)	50	20.08 (14.2- 26)	0.567	<i>NS</i>
	Multipare (122)	38	29.68 (21.6- 37.8)		

N : nombre de vaches ayants avorté ; *Si* : Significatif ; *NS* : Non Significatif.

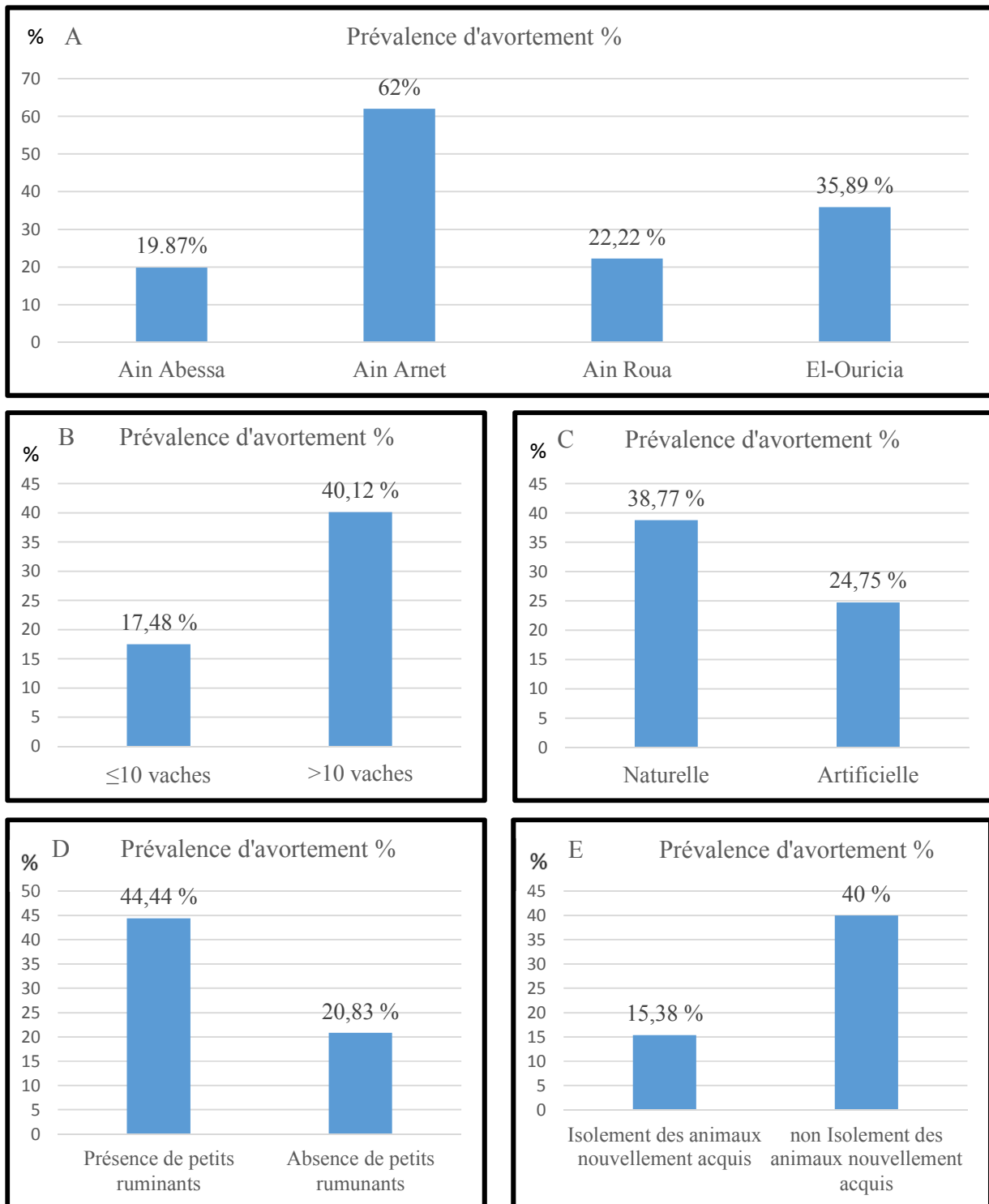


Figure 32 : Variation de la prévalence d'avortement en fonction de la commune (A), la taille du troupeau (B), le mode de reproduction (C), la présence ou l'absence de petits ruminants dans la ferme (D) et l'isolement ou non des animaux nouvellement acquis (E)

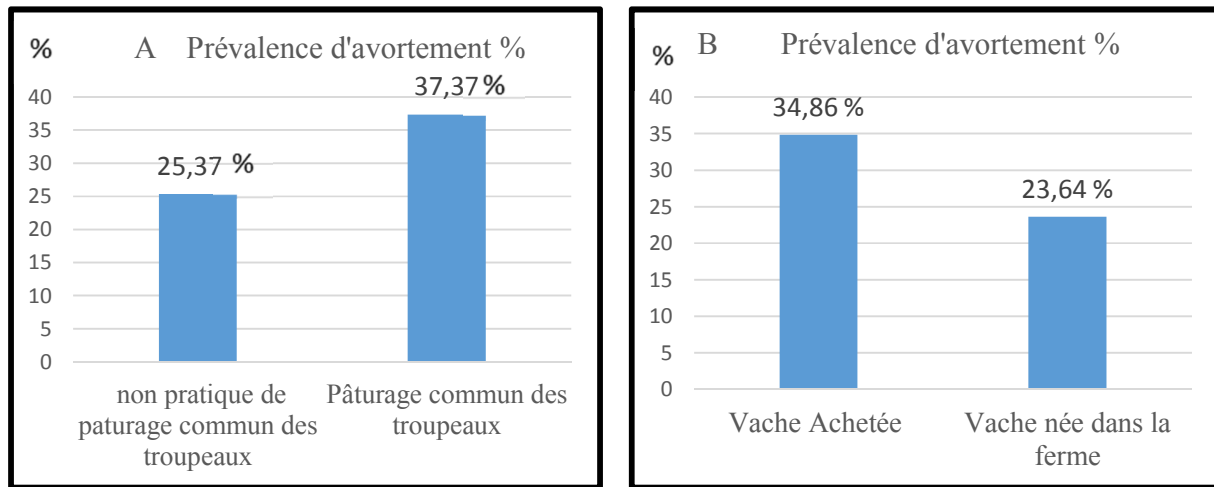


Figure 33 : Variation de la prévalence d'avortement en fonction de la pratique de pâturage commun des troupeaux (A) et la source de la vache (B).

2. Étude séro-épidémiologique de l'infection par les virus BHV1, BVDV et BHV4

2.1. Étude de la séroprévalence des infections et coinfections par les virus BHV1, BHV4 et BVDV

2.1.1. Taux de séroprévalence des infections par les virus BHV1, BVDV et BHV4

Sur un total de 184 sérums de vaches laitières analysées, 56 (30.43%) (IC 95% 23.8 -37.1), 55 (29.89%) (IC 95% 23.3% - 36.5%) et 26 (14.13%) (IC 95% 9.11% - 19.15%) se sont révélés positifs aux anticorps spécifiques du BHV1, BVDV et BHV4 respectivement en utilisant le kit ELISA de la trousse avortement (BHV1, BVD, BHV4) qui détecte les principales causes virales d'avortement chez la vache.

Les résultats sont exposés dans le tableau (7). Il est à rappeler que parmi les 184 vaches analysées, 88 avaient avorté, soit un taux de 47,82 %.

Tableau 7 : taux de séroprévalence vis-à-vis des principales causes virales d'avortement étudiées

Agents abortifs	BHV1	BVDV	BHV4
Séroprévalence (IC95%)	56 (30.43%) (23.3- 36.5)	55 (29.89%) (23.3-36.5)	26 (14.13%) (9.11- 19.15)

2.1.2. Étude de la séroprévalence des coinfections par les virus BHV1, BHV4 et BVDV

Des coinfections par les 3 agents viraux ont été retrouvées chez un total de 5 vaches laitières sur les 184 analysées, soit un taux de coinfection de 2.71% (IC 95% 0.37% –5.05%).

Ces coinfections associent le plus souvent 2 agents viraux (coinfection double) (16.3%) (IC 95% 10.5%-21.1%). La coinfection double le plus fréquemment rencontrée est BHV1 et BVDV avec un taux de (10.32%) (IC 95% 5.93%-14.71%). D'autres coinfections doubles telles que BVDV et BHV4 (3.80%) (IC 95% 1.04%-6.56%) et BHV1-BHV4 (2.17%) (IC 95% 0.10%-4.24%) ont également été relevées avec cependant, des taux plus faibles.

Les coinfections se sont montrées significativement différentes. En effet, la coinfection double BVDV et BHV1 a été significativement plus observée ($p < 0,05$).

Parmi les 184 vaches analysées, 87 (47.30%) (IC 95% 40,02%-54.56%) ont été complètement indemnes d'une infection liée à l'un des 3 agents viraux recherchés.

Les résultats des coinfections sont illustrés dans la figure (34) et le tableau (8).

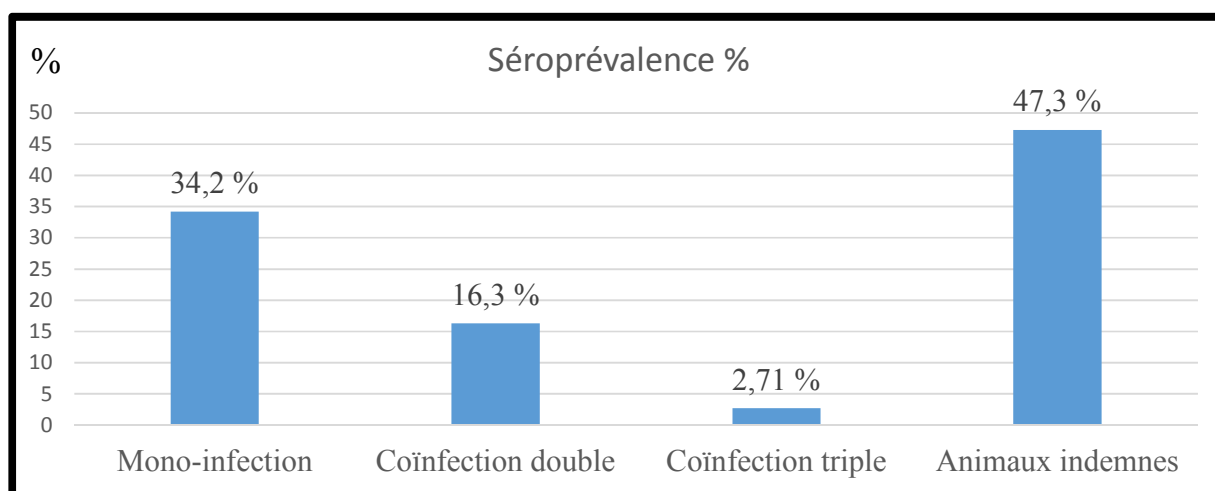


Figure 34 : Fréquence des coinfections et mono-infections par les 3 agents viraux

Tableau 8 : Séroprévalence des coinfections et mono infections par les 3 agents viraux étudiés

Type d'infection	Nbre de + (Taux de séropositivité)	IC (95%)
Mono infection	63(34.2%)	(27.4%- 40%)
BHV1 +	56 (30.43%)	(23.8% -37.1%)
BVDV +	55 (29.89%)	(23.3%-36.5%)
BHV4 +	26 (14.13%)	(9.11%-19.15%)
Infection double	30 (16.3%)	(10.5%-21.1%)
BHV1 + / BVDV +	19 (10.32%)	(5.93%-14.71%)
BHV1 + / BHV4 +	7 (3.80%)	(1.04%-6.56%)
BVDV + / BHV4 +	4 (2.17%)	(0.10%-4.24%)
Infection triple	5 (2.71%)	(0.37%-5.05%)
BHV1 +/ BVDV +/ BHV4	5 (2.71%)	(0.37%-5.05%)
Animaux indemnes	87(47,30%)	(40,02%-54.56%)

2.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des infections et coinfections par les virus BHV1-BHV4-BVDV

Un certain nombre de variable a été testé dans cette étude afin d'identifier les différents facteurs de risque qui semblent intervenir dans la séropositivité vis-à-vis des agents infectieux recherchés.

2.2.1. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BHV1

Les résultats de l'étude des facteurs de risque sont présentés dans le tableau 9. L'analyse détaillée des résultats obtenus démontrent ce qui suit :

Une différence très significative a été mise en évidence en fonction de la localisation géographique des vaches analysées pour la détection des anticorps anti-BHV1 ($p < 0,05$). En effet, les taux de séropositivité les plus élevés sont relevés dans la commune d'El-Ouricia (50 %), suivie par les communes Ain Roua (35.9%) et Ain Abessa (32,6 %). Le taux de séroprévalence le plus bas (11.1 %) a été observé dans la commune d'Ain Arnet, commune située à l'Ouest de Sétif (tableau 9).

Une différence significative a également été mise en évidence entre le taux de séropositivité vis à vis du BHV1 et le mode d'élevage ($p < 0,05$). En effet, les exploitations dont le mode d'élevage est en semi-intensif semblent plus exposées à l'infection par le BHV1, avec une séroprévalence de

35.4 % contre 19.3 % pour les exploitations dont le mode d'élevage est intensif (tableau 5). En outre, le pâturage en commun avec les bovins des autres fermes semble influencer significativement sur la séroprévalence vis à vis du BHV1 ($p < 0,01$). En effet, les vaches qui contactent les bovins des autres exploitations pendant le pâturage ont présenté une séroprévalence de 38 % contre 18.3 % chez les animaux qui pâturent isolément et ceux qui ne pâturent pas (tableau 9).

Un lien significatif ($p < 0,05$) a été également retrouvé entre la séropositivité vis-à-vis du BHV1 et le mode de reproduction. Ainsi, les vaches saillies naturellement (35.6%), sont plus infectées que celles inséminées artificiellement (21.7%) (tableau 9).

En plus, l'élevage mixte en présence des petits ruminants influent très significativement sur la séropositivité vis-à-vis du BHV1 ($p < 0,01$). En effet, la séroprévalence observée chez des vaches élevées en commun avec les petits ruminants est de 45.83% contre 25% chez les vaches élevées séparément de ces animaux (tableau 9).

La séroprévalence du BHV1 a varié de façon significative ($p < 0,05$) en fonction de l'origine de la vache. Ainsi, les vaches achetées (37.2%) semblent être plus infectées que celles nées à la ferme (23,3%) (tableau 9).

Concernant le statut sanitaire vis-à-vis de la diarrhée virale bovine, l'infection par le BVDV influence significativement ($p < 0,05$) sur la séroprévalence du BHV1. En effet, parmi les 55 sérums séropositifs au BVDV, 24 d'entre eux (43.7%) contiennent également des anticorps spécifiques du BHV1, alors que sur les 129 sérums séronégatifs vis-à-vis du BVDV, 32 contiennent aussi des anticorps spécifiques du BHV1, soit un taux de 24.8% (tableau 9).

Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre la séroprévalence vis-à-vis des anticorps anti-BHV1 et les facteurs suivants : type de production, mise en quarantaine des animaux avant introduction dans la ferme, race, âge, gestation, le stade de gestation, la parité et la séropositivité vis-à-vis du BHV4 (tableau 9).

2.2.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BVDV

Le contact avec les petits ruminants semble influencer de façon très significative la séropositivité vis-à-vis du BVDV ($p < 0,01$). En effet, 45.83 % des vaches cohabitant avec les petits ruminants sont séropositives contre 24.26 % n'ayant aucun contact avec ces animaux (tableau 9).

La séroprévalence du BVDV varie significativement en fonction de la race considérée ($p < 0,05$). En effet, les races européennes (38.8%) sont plus infectées que les races croisées (23.6%) et les races locales (0%) (tableau 9).

Concernant le statut sanitaire vis-à-vis de la rhinotrachéite infectieuse bovine, l'infection par le BHV1 influence significativement ($p < 0,05$) sur la séroprévalence vis-à-vis du BVDV. En effet, parmi les 56 sérums séropositifs au BHV1, 24 d'entre eux contenaient aussi des anticorps spécifiques du BVDV, correspondant à une séroprévalence de 42.8%, et parmi les 128 sérums séronégatifs au BHV1, 31 présentaient des anticorps spécifiques du BVDV, soit un taux de séroprévalence de 24.2% (tableau 9).

2.2.3. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BHV4

Les tests statistiques n'ont indiqué aucune association significative entre la séropositivité vis-à-vis du BHV4 et les facteurs étudiés ($p > 0,05$) (tableau 9).

Tableau 9 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition aux virus BHV1-BHV4-BVDV

Agents pathogènes	Mono infection					
	BHV1		BVDV		BHV4	
S% Variables	S %(N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%
Commune						
Ain Abessa (n=95)	32.6(31)	23.2- 42	29.5(28)	20.3-38.7	19 (18)	11.1-29.9
Ain Roua (n=39)	35.9(14)	20.8- 51	30.6(12)	16.1- 45.1	7.7 (3)	-0.7 -16.1
Ain arnet (n=36)	11.1(4)	0.8- 21.4	30.5(11)	15.5- 45.5	13.8 (5)	2.5- 25.1
El-Ouricia (n=14)	50(7)	23.8- 76.2	28.5(4)	4.9- 52.1	0 (0)	0
P	0.015 (Si)		1 (NS)		0.16(NS)	
Taille du troupeau						
<10 (n=62)	22.6(14)	12.2-33	9.7(16)	2.3-17.1	9.6(6)	2.3-16.9
>11 (n=122)	34.4(42)	26-42.8	16.4(39)	9.8-23	16.4(20)	9.8-23
P	0.099(NS)		0.388(NS)		0.216(NS)	
Mode d'élevage						
Intensif (n=57)	19.3(11)	9.1-29.5	21(12)	10.4-31.6	10.5(6)	2.4-18.2
Semi-intensif (n=127)	35.4(45)	27.1-43.7	33.8(43)	25.6-42	15.7(20)	9.5-22.1
P	0.028 (Si)		0.079 (NS)		0.34 (NS)	
Type de production						
Laitière (n=137)	32.1(44)	24.3- 39.9	27.7 (38)	20.2- 35.2	13.8(19)	8- 19.6
Mixte (n=47)	25.5(12)	13- 38	36.17 (17)	22.4- 49.9	14.9 (7)	4.7-25.1
P	0.39(NS)		0.27(NS)		0.86(NS)	
Mode de reproduction						
Naturelle (n=115)	35.6(41)	26.8-44.4	30.4 (35)	22-38.8	14.8(17)	8.3-28.3
Artificielle (n=69)	21.7(15)	12-31.4	29 (20)	18.3-39.7	13 (9)	5.1-20.9
P	0.047(Si)		0.835(NS)		0.743(NS)	
Présence de petits ruminants						
Oui (48)	45.83(22)	31.7-59.9	45.83(22)	31.7- 59.9	14.58(7)	4.6- 24.6
Non (136)	25 (34)	17.7- 32.3	24.26(33)	17.1- 31.5	13.9(19)	8.1- 19.8
p	0.007 (Si)		0.005(Si)		0.917(NS)	

N : nombre de vaches séropositives ; **S** : Séroprévalence ; **Si** : Significatif ; **NS** : Non Significatif

Tableau 9 (suite) : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition aux virus BHV1-BHV4-BVDV

Agents pathogènes	Mono infection					
	BHV1		BVDV		BHV4	
S% Variables	S %(N)	IC95 %	S %(N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%
Isolement des animaux nouvellement acquis						
Oui (n=70)	28.6(20)	18.3-39.7	27.7(22)	17.1-38.3	15.7(11)	7.3- 24.5
Non (n=114)	31.6(36)	22.8- 39.8	38.9(33)	30-47.8	13.15(15)	6.9-19.1
p	0.667(NS)		0.721(NS)		0.929(NS)	
Pâturage en commun des troupeaux						
Oui (n=113)	38 (43)	29.1- 46.9	34.5(39)	25.7- 43.3	14(16)	7.6- 20.4
Non (n=71)	18.3(13)	9.3- 27.3	22.5(16)	12.8-32.2	14.1(10)	6- 22.2
p	0.005(Si)		0.084 (NS)		0.98 (NS)	
Race						
Européenne (n=85)	29.4 (25)	19.7- 39.1	38.8 (33)	14.9- 32.9	18.6 (16)	10.4- 26.8
Croisée (n=93)	30.1(28)	20.8- 39.4	23.6 (22)	28.7- 48.1	9.7 (9)	3.8 - 15.6
Locale (n=6)	30 (3)	-6.7 - 66.7	0 (0)	0	16.7(1)	-13.1-46.5
P	0.55(NS)		0.026 (Si)		0.139(NS)	
Âge						
2-5 ans (n=95)	30.5(29)	21.2-39.8	31.6 (30)	22.3- 40.9	13.7(13)	6.8- 20.6
6-9 ans (n=75)	29.3(22)	19- 39.6	25.3(19)	15.5- 35.1	13.3(10)	5.6- 21
>10 ans (n=14)	35.7(5)	10.6- 60.8	42.8(6)	16.9- 68.7	21.4(3)	-0.1-42.9
p	0.909(NS)		0.369(NS)		0.677(NS)	
Parité						
Primipare (n=68)	32.2(22)	21.1- 43.3	33.8(23)	22.6- 45	11.7(8)	7.4- 24.8
Multipare (n=116)	29.3(23)	21- 37.6	27.6(32)	19.5-35.7	9.48(11)	6.8- 19
P	0.66(NS)		0.37 (NS)		0.51(NS)	
Origine de l'animal						
Achetée (n=94)	37.2(35)	27.6-46.8	35.1(33)	25.6-44.6	11.9(14)	5.5-18.3
Née dans la ferme (n=90)	23.3(21)	14.6-32	24.4(22)	15.5-33.3	13.3(12)	6.3- 20.3
P	0.041(Si)		0.114(NS)		0.761(NS)	

N : nombre de vaches séropositives ; **S** : Séroprévalence ; **Si** : Significatif ; **NS** : Non Significatif

Tableau 9 (suite) : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition aux virus BHV1-BHV4-BVDV

Agents pathogènes	Mono infection					
	BHV1		BVDV		BHV4	
S% Variables	S %(N)	IC95%	S %(N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%
Gestation						
Oui	36.1(13)	20.4- 51.8	22.2(8)	8.6- 35.8	16.7(6)	4.5- 28.9
Non	29(43)	21.7- 36.3	31.7(47)	24.2- 39.2	13.51(20)	8- 19
p	0.409(NS)		0.262(NS)		0.626(NS)	
Stade de gestation						
1-3 mois (n=9)	33.3(3)	4.1- 62.5	22.2(2)	-3.6-48	22.2(2)	-3.6-48
4-6 mois (n=12)	33.3(4)	6.6- 60	41.6(5)	13.7-69.5	25(3)	0.5- 49.5
7-9 mois (n=15)	40(6)	10.6- 60.8	6.6(1)	-6- 19.2	6.6(1)	-6.3- 21.5
P	1(NS)		0.102(NS)		0.45(NS)	
Séropositivité vis-à-vis du BHV1						
Séropositives (n=56)	/	/	42.8(24)	29.8- 55.8	21.4(12)	10.7- 32.1
Séronégatives (n=128)	/	/	24.2(31)	16.8- 31.6	10.9(14)	5.5- 16.3
P	/		0.011(Si)		0.065(NS)	
Séropositivité vis-à-vis du BVDV						
Séropositives (n=55)	43.7(24)	30.6- 56.8	/	/	16.3(9)	6.5- 26.1
Séronégatives (n=129)	24.8(31)	17.3- 32.3	/	/	13.1(17)	7.3- 18.9
P	0.011(Si)		/		0.570(NS)	
Séropositivité vis-à-vis du BHV4						
Séropositives (n=26)	46.1(12)	26.9- 65.3	34.6 (9)	16.3- 52.9	/	/
Séronégatives (n=158)	38.6(44)	31- 46.2	29.1(46)	31- 46.2	/	/
P	0.665(NS)		0.570(NS)		/	

N : nombre de vaches séropositives ; **S** : Séroprévalence ; **Si** : Significatif ; **NS** : Non Significatif

2.2.4. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des coïnfections par les virus BHV1-BHV4-BVDV

L'étude de l'influence de certains facteurs de risque potentiels, sur la probabilité de présenter des coïnfections doubles voire multiples (associant 2 ou 3 agents viraux), est reprise dans le tableau 10.

Les analyses statistiques ont révélé ce qui suit :

Le taux de coïnfection associant les deux virus BHV1-BVDV semble varier significativement en fonction du mode de reproduction, de la présence de petits ruminants, de l'origine de la vache et de la pratique de pâturage commun des troupeaux ($p < 0,05$) (tableau 10).

Le taux de coïnfection associant les virus BHV1-BHV4 a varié de façon significative en fonction de la mise en quarantaine des animaux avant l'introduction dans la ferme ($p < 0,05$) (tableau 10).

Les coïnfections associant les virus BVDV-BHV4 et BHV1-BVDV-BHV1 ne semblent être influencées par aucun des facteurs analysés ($p > 0,05$) (tableau 10).

Tableau 10 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une coinfection double ou triple

Agents pathogènes	Infections multiples (par 2 ou 3 agents viraux)							
	BHV1-BVDV		BHV1-BHV4		BHV4-BVDV		BHV1-BHV4-BVDV	
S %	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%
Variables								
Commune								
Ain Abessa (n=95)	9.47(9)	3.6-15.4	6.3(6)	1.4- 11.2	2.10(2)	-0.4- 6.6	4.2(4)	0.2- 8.2
Ain Roua (n=39)	10.25 (4)	0.7- 19.8	0	0	0	0	0	0
Ain Arnet (n=36)	11.11(4)	0.8- 21.4	2.77(1)	-2.6- 8.1	5.55(2)	0	2.77(1)	-2.6- 8.1
El-Ouricia (n=14)	7.1(1)	-6.4- 20.6	0(0)	0	2.7	-2.6- 8	0	0
P	0.97 (NS)		0.419 (NS)		0.499(NS)		0.737(NS)	
Taille du troupeau								
<10 (n=62)	4.8 (3)	-0.5-10.1	1.6 (1)	-1.5- 4.7	3.2 (2)	-1.2-7.6	4.2(1)	-0.8- 9.2
>11 (n=122)	13.1(16)	7.1- 19.1	4.9(6)	1.1- 8.7	1.6 (2)	-0.6- 3.8	1.1(4)	-0.8- 3
P	0.081(NS)		0.426(NS)		0.604(NS)		0.664(NS)	
Mode d'élevage								
Intensif (n=57)	5.1 (3)	-0.6- 10.8	5.1(3)	-0.6- 10.8	1.7(1)	-1.6- 5	0(0)	0
Semi-intensif (n=127)	12.7 (16)	6.9- 18.5	3.1(4)	0.1- 6.1	2.3(3)	-0.3- 4.9	4(5)	0.6-.4
P	0.131(NS)		0.680(NS)		0.974(NS)		0.326(NS)	
Type de production								
Laitière (n=137)	10.94(15)	5.7- 16.2	5.1(7)	1.4-8.8	(1)	-0.7-2.1	2.91(4)	0.1- 5.7
Mixte (n=47)	8.5 (4)	0.5-16.5	0(0)	0	6.3 (3)	-0.6-13.2	2.1(1)	-2-6.2
P	0.397(NS)		0.194(NS)		0.052(NS)		1(NS)	
Mode de reproduction								
Naturelle (n=115)	13.9(16)	7.6-20.2	4.3 (5)	0.6- 8	0.8(2)	-0.8- 2.4	1.4(4)	-0.7-3.5
Artificielle (n=69)	4.3(3)	-0.5- 9.1	2.9(2)	-1.1- 6.9	4.3(2)	-0.5- 9.1	3.4(1)	-0.9- 7.7
P	0.039(Si)		0.713(NS)		0.631(NS)		0.652(NS)	
Présence de petits ruminants								
Oui (n=48)	18.75(10)	7.7- 29.8	4.16 (2)	-1.5- 9.8	2.08(1)	-2-6.1	2.08(1)	-2- 6.1
Non (n=136)	7.35(9)	3- 11.7	3.67(5)	0.5- 6.8	2.2(3)	-0.3- 4.7	2.94(4)	0.1- 5.8
P	0.049(Si)		1(NS)		1(NS)		0.17(NS)	

N : nombre de vaches séropositives ; S : Séroprévalence ; Si : Significatif ; NS : Non Significatif

Tableau 10 (suite) : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une coinfection double ou triple.

Agents pathogènes	Infections multiples (par 2 ou 3 agents viraux)							
	BHV1-BVDV		BHV1-BHV4		BHV4-BVDV		BHV1-BHV4-BVDV	
S %	S % (N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%
Variables								
Isolement des animaux nouvellement acquis								
Oui (n=70)	11.4 (8)	7- 16.8	0 (0)	0	4.3(3)	1.2-7.4	4.3(3)	1.2- 7.4
Non (n=114)	9.6 (11)	4.2- 15	6.1(7)	1.7- 10.5	0.8 (1)	-0.8- 2.4	1.7(2)	-0.7- 4.1
P	0.70(NS)		0.045(Si)		0.155(NS)		0.37(NS)	
Pâturage commun des troupeaux								
Oui (n=113)	14.1(16)	7.7- 20.5	1.7(2)	-0.7- 4.1	2.7 (3)	-0.3- 5.7	3.5(4)	0.1- 6.9
Non (n=71)	4.2(3)	-0.5- 8.9	7(5)	1.2- 12.8	1.4(1)	-1.3- 4.1	1.4(1)	-1.3- 4.1
P	0.031(Si)		0.11(NS)		1(NS)		0.650(NS)	
Race								
Européenne (n=85)	11.6 (10)	4.8- 18.4	4.6(4)	0.1- 9.1	3.5(3)	-0.4- 7.4	2.35(2)	0.8- 10.8
croisée (n=93)	9.8(9)	3.8- 15.8	2.2(2)	-0.8- 5.2	1(1)	-1- 3	3.2(3)	0
locale (n=6)	0 (0)	0	16.7(1)	-13.1-46.5	0(0)	0	0(0)	0
P	0.902(NS)		0.143(NS)		0.431(NS)		0.46(NS)	
Âge								
(2-5) (n=95)	10.52(10)	4.4- 16.7	5.3(5)	0.8- 9.8	1.05(1)	-1- 3.1	4.20(4)	0.2- 8.2
(6-9) (n=75)	9.3(7)	2.7- 15.9	1.3(1)	-1.3- 3.9	4(3)	-0.4- 8.4	0(0)	0
>10 (n=14)	14.3(2)	-4- 32.6	7.1(1)	-6.4- 20.6	16.6(0)	-2.9- 36.1	7.1(1)	-6.4- 20.6
p	0.804(NS)		0.194(NS)		0.507(NS)		0.095(NS)	
parité								
Primipare (n=68)	11.7(8)	4.1- 19.3	7.3(5)	1.1- 13.5	1.4(1)	-1.4- 4.2	4.4(3)	-0.5- 9.3
Multipare (n=116)	9.4(11)	4.1- 14.7	1.7(2)	-0.7- 4.1	2.58(3)	-0.3- 5.5	1.7(2)	-0.7- 4.1
P	0.62(NS)		0.054(NS)		1(NS)		0.36(NS)	
Origine de l'animal								
Acheté (n=94)	14.9(14)	7.7- 22.1	4.2(4)	0.1- 8.3	1(2)	-1- 3	4.2(4)	0.1- 8.3
Né dans la ferme (n=90)	5.5(5)	0.8- 10.2	3.3(3)	-0.4- 7	3.3(2)	-0.4- 7	1.1(1)	-1.1- 3.3
P	0.037(Si)		1(NS)		1(NS)		0.369(NS)	

N : nombre de vaches séropositives ; **S** : Séroprévalence ; **Si** : Significatif ; **NS** : Non Significatif

Tableau 10 (suite) : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une coinfection double ou triple.

Agents pathogènes	Infections multiples (par 2 ou 3 agents viraux)							
	BHV1-BVDV		BHV1-BHV4		BHV4-BVDV		BHV1-BHV4-BVDV	
Variables	S % (N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%	S %(N)	IC 95%
Gestation								
Oui (n=36)	11.1 (4)	0.8- 21.4	8.3 (3)	-0.7- 17.3	0(0)	0	2.7(1)	-2.6- 8
Non (n=148)	10.1(15)	5.2- 15	2.7(4)	0.1- 5.3	2.7(4)	0.1- 5.3	2.7(4)	0.1- 5.3
P	0.769(NS)		0.137(NS)		1(NS)		1(NS)	
Stade de gestation								
1-3 mois (n=9)	0(0)	0	22.2(2)	-5- 49.4	11.1(1)	0	0(0)	0
4-6 mois (n=12)	40(3)	12.3- 67.7	0(0)	0	8.3(1)	0	8.3(1)	-7.3- 23.9
7-9 mois (n=15)	6.6(1)	-7.4- 20.6	6.6(1)	-7.4- 20.6	0(0)	0	0(0)	0
P	0.202(NS)		0.242(NS)		0.5(NS)		0.58(NS)	

N : nombre de vaches séropositives ; **S** : Séroprévalence ; **Si** : Significatif ; **NS** : Non Significatif

3. Étude épidémiologique de type cas-témoin

La corrélation entre la séroprévalence aux infections par les virus BHV1-BHV4-BVDV et la présence d'avortement a été estimée, d'abord au niveau des exploitations prélevées puis au niveau individuel.

Nous avons réalisé une étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition, la séroprévalence aux 3 agents viraux.

Un total de 26 fermes a été étudié. Sur la base d'un questionnaire épidémiologique, les fermes étaient séparées en fermes témoins et en fermes cas. Les fermes cas sont celles où des épisodes d'avortements étaient déjà survenus, phénomène non constaté dans les fermes témoins. Utilisant ce critère, 19 fermes cas et 7 fermes témoins ont été définis. Les sérums d'un total de 184 bovins (130 provenant des fermes cas et 54 issus des fermes témoins) ont été prélevés et analysés pour la détection d'anticorps spécifiques des virus BHV1-BHV4 et BVDV (tableau 11).

Tableau 11 : Caractéristiques des fermes.

Statut des fermes	Nombres de fermes prélevées (%)	Nombres d'animaux prélevés (%)	Taille moyenne (écart type)
Cas	19 (73%)	130 (70.66%)	6.84 (± 2.71)
Témoin	7 (27%)	54 (29.34%)	7.71 (± 2.36)
Total	26(100%)	184(100%)	7.07 (± 2.60)

3.1. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition le BHV1

3.1.1. Séroprévalence du BHV1 en fonction du statut des fermes

Parmi les 184 sérums analysés, 56 se sont montrés positifs au virus BHV1 en ELISA correspondant à une séroprévalence globale de 30.43% (IC 95% 23.8-37.1). Parmi les 56 sérums positifs, 44 appartenaient à des fermes cas, soit 33,8% (IC95% 25,7-41,9) et 12 provenaient des fermes témoins soit 22,2% (IC95% 11,1-33,3).

Au moins un animal séropositif au BHV1 a été trouvé dans 22 des 26 fermes étudiées soit 84,6%. Ainsi, 15 fermes cas sur 19 soit 78,9% et 7 fermes témoins sur 7 soit 100% possédaient au moins un animal séropositif. Les prévalences observées entre les fermes cas et témoins n'étaient pas significativement différentes ($p > 0,05$) (tableau 12).

Tableau 12 : Séroprévalence du BHV1 en fonction du statut des fermes

Statut de la ferme	Nombre	Fermes (+)	Ferme (-)	Séroprévalence (IC95%)
Témoin	7	7	0	100%
Cas	19	15	4	78,9% (61.7%-97.9%)
Total	26	22	4	84,6% (70.7%-98.5%)

Sur les 184 animaux prélevés dans les 26 fermes, 56 soit 30,43% présentaient des anticorps anti-BHV1. Sur les 54 animaux prélevés dans les 7 fermes témoins, 12 soit 22,2% étaient séropositifs et sur les 130 animaux prélevés dans des fermes cas, 44 soit 33,8% étaient séropositifs. Il n'y a pas de différence significative ($p=0.1$) entre les séroprévalences des animaux appartenant aux fermes cas et ceux des fermes témoins (tableau 13).

Tableau 13 : Séroprévalence vis-à-vis du BHV1 chez les animaux par type de ferme

Statut de la ferme	Nombre	Nombre de bovins prélevés (%)	Nombre de bovins séropositifs	Séroprévalence (IC95%)
Témoin	7	54(29.3)	12	22.2 (11.1- 33.3)
Cas	19	130(70.7)	44	33.8 (25.7- 41.9)
Total	26	184(100)	56	30.4 (23.7- 37)

3.1.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation

L'association entre l'exposition au BHV1 et le fait d'observer des avortements dans la ferme a été étudiée en premier lieu (tableau 14).

Tableau 14 : Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation avec comme facteur d'exposition la séropositivité au BHV1.

	Fermes	Cas	Témoin	Total
ELISA BHV1	Séropositives	15 (15.5)	7(7.5)	22
	Séronégatives	4(4.5)	0 (0.5)	4
	Total	19	7	26
	Taux d'exposition	78,94%	100%	84.61%
	Odd	3,75	infini	
	Odds Ratio (IC)	0,23* (0.01-4.9)		
	p	0.29		

* : lorsqu'une des valeurs est égale à 0, le calcul de l'OR se fait en ajoutant 0,5 à chacun des nombres.

L'étude cas-témoin montre un taux d'exposition de 78,94% pour les fermes cas comparativement à 100% pour les fermes témoins. Le calcul de l'OR montre que celui-ci n'est pas significativement différent de 1 ($p=0.29$). Il en résulte qu'il n'y a pas d'association entre la séropositivité au BHV1 et les avortements au niveau des fermes (tableau 14).

3.1.3. Étude cas-témoin au niveau individuel

Sur le plan individuel, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 1,79. L'OR n'est pas significativement différent de 1 ($p=0.12$) et donc il n'y a pas d'association entre la séropositivité au BHV1 et le fait que l'individu appartenait à une ferme cas ou une ferme témoin (tableau 15).

Tableau 15 : Étude cas-témoin au niveau individuel avec comme facteur d'exposition la séropositivité au BHV1

ELISA BHV1	Animaux	Animaux prélevés dans les fermes cas	Animaux prélevés dans les fermes témoins	Total
	Séropositifs	44	12	56
	Séronégatifs	86	42	128
	Total	130	54	184
	Taux d'exposition	33.8 %	22.22 %	19,64%
	Odd	0,51	0,28	
	Odds Ratio	1,79 (IC95% 0,86.-3,74)		
	p	0.12		

3.2. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition le BVDV

3.2.1. Séroprévalence du BVDV en fonction du statut des fermes

Parmi les 26 fermes étudiées, 24 présentaient au moins un animal positif soit 92,3%.

Parmi les 7 fermes témoins, 5 présentaient au moins un animal positif soit 71.4% et parmi les 19 fermes cas, toutes présentaient au moins un animal positif soit 100%. Néanmoins, il n'y avait pas de différences significatives entre ces séroprévalences ($p>0,05$) (tableau 16).

Tableau 16 : Séroprévalence du BVDV en fonction du statut des fermes

Statut de la ferme	Nombre	Fermes (+)	Ferme (-)	Séroprévalence (IC95%)
Témoin	7	5	2	71,4% (37,9-100%)
Cas	19	19	0	100%
Total	26	24	2	92,3% (82.1%-100%)

Au niveau individuel, parmi les 184 animaux testés, 55 soit 29,89% se sont révélés positifs aux anticorps anti-BVD. Parmi les 7 fermes témoins, 54 animaux ont été testés et 8 se sont révélés positifs soit 14,8%. Parmi les 19 fermes cas, 130 animaux ont été testés et 47 se sont révélés positifs soit 36,1%. Ces séroprévalences sont significativement différentes ($p<0,05$) (tableau 17).

Tableau 17 : Séroprévalence des animaux vis-à-vis du BVDV par type de ferme

Statut de la ferme	Nombre	Nombre de bovins prélevés (%)	Nombre de bovins séropositifs	Séroprévalence (IC95%)
Témoin	7	54(29.3)	8	14.8 (5.3- 24.3)
Cas	19	130(70.7)	47	36.1 (27.9- 44.4)
Total	26	184(100)	55	29.89 (23.3-36.5)

3.2.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation

L'association entre l'exposition au BVDV et le fait d'observer des avortements dans la ferme a été étudiée (tableau 18).

L'OR n'est pas significativement différent de 1 ($p>0,05$), il n'y a donc pas d'association entre la présence d'un animal séropositif dans une ferme et la présence d'avortements (tableau 18).

Tableau 18 : Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation avec comme facteur d'exposition le BVDV

	Fermes	Cas	Témoin	Total
ELISA BVDV	Séropositives	19 (19,5)	5 (5,5)	24
	Séronégatives	5 (5,5)	2 (2,5)	2
	Total	19	7	26
	Taux d'exposition	100%	71.4%	96%
	Odd	39	2.2	
	Odds Ratio (IC)	1.10 (0.0875-0.0875)		
	p	1		

* : lorsqu'une des valeurs est égale à 0, le calcul de l'OR se fait en ajouter à chacun des nombres.

3.2.3. Étude cas-témoin au niveau individuel

De même, l'association entre les avortements et la séropositivité des animaux dans les fermes cas et témoins a été testée au niveau individuel (tableau 19).

L'analyse statistique montre une association significative ($p<0,05$) entre le fait d'être séropositif vis-à-vis du BVDV et le fait d'appartenir à une ferme cas ou à une ferme témoin.

Tableau 19 : Cas-témoin au niveau individuel avec comme facteur d'exposition le BVDV

ELISA BVDV	Animaux	Animaux prélevés dans les fermes cas	Animaux prélevés dans les fermes témoins	Total
	Séropositifs	47	8	55
	Séronégatifs	83	46	129
	Total	130	54	184
	Taux d'exposition	36.1 %	14.81 %	29.89%
	Odd	0.56	0.17	
	Odds Ratio	3,26 (IC95% 1,42-7,49)		
	p	0.005		

3.3. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition le BHV4

3.3.1. Séroprévalence du BHV4 en fonction du statut des fermes

Sur les 26 fermes étudiées, 18 soit 69,2% hébergeaient des animaux possédant des anticorps anti-BHV4. Sur les 7 fermes témoins, 6 fermes avaient au moins un animal séropositif soit 85,7% et sur les 19 fermes cas, 12 avaient au moins un animal séropositif soit 63,2% (tableau 20). Les séroprévalences dans les fermes cas et les fermes témoins n'étaient pas significativement différentes ($p>0,05$).

Tableau 20 : Séropositivité vis-à-vis du BHV4 en fonction du statut des fermes

Statut de la ferme	Nombre	Fermes (+)	Ferme (-)	Séroprévalence (IC95%)
Témoin	7	6	1	85,7% (59.8- 100)
Cas	19	12	7	63,2% (41.5- 84.9)
Total	26	18	8	69,2% (51.5- 87)

Parmi les 184 sérums analysés, 26 se sont montrés positifs au BHV4 en ELISA correspondant à une séroprévalence globale de 14.1%. Parmi les 54 bovins prélevés dans des fermes témoins, 9 individus soit 16,7% se sont révélés séropositifs alors que 17 des 130 bovins venant de fermes cas soit 13,1% étaient séropositifs (tableau 21). La différence de séroprévalence entre les animaux des fermes cas et des fermes témoins n'était pas significativement différente ($p>0,05$).

Tableau 21 : Séroprévalence des animaux vis-à-vis du BHV4 par type de ferme

Statut de la ferme	Nombre	Nombre de bovins prélevés (%)	Nombre de bovins séropositifs	Séroprévalence (IC95%)
Témoin	7	54(29.3)	9	16.7% (6.7- 26.6)
Cas	19	130(70.7)	17	13.1% (7.3- 18.9)
Total	26	184(100)	26	14.1% (9.1-19.1)

3.3.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation

L'association entre l'exposition au BHV4 et le fait d'observer des avortements dans la ferme a été analysée (tableau 22).

Tableau 22 : Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation avec comme facteur d'exposition le BHV4

ELISA BHV-4	Fermes	Cas	Témoin	Total
	Séropositives	12	6	18
	Séronégatives	7	1	8
	Total	19	7	26
	Taux d'exposition	63.2%	85.7 %	69.2 %
	Odd	1,71	6	
	Odds Ratio (IC)	0,29 (0.00055-3.347)		
	p	0.37		

On constate que l'OR n'est pas significativement différent de 1 ($p=0,37$). Il n'y a donc pas d'association entre la séropositivité et le statut de la ferme.

3.3.3. Étude cas-témoin au niveau des individus

Si on s'intéresse à la séropositivité des individus (tableau 23) dans les fermes cas et témoins, on constate que l'OR n'est pas significativement différent de 1 ($p=0.53$).

Tableau 23 : Étude cas-témoin au niveau individuel avec comme facteur d'exposition le BHV4

	Animaux	Animaux prélevés dans les fermes cas	Animaux prélevés dans les fermes témoins	Total
ELISA BHV-4	Séropositifs	17	9	26
	Séronégatifs	113	45	158
	Total	130	54	184
	Taux d'exposition	13.1 %	16.7%	14.13%
	Odd	0.15	0.2	
	Odds Ratio	0,75 (IC 95% 0,31-1,81)		
	p	0.53		

Il n'y a donc pas d'association significative entre le fait d'être séropositif et le fait d'appartenir à une ferme cas ou à une ferme témoin.

4. Étude cas-témoin entre avortement chez la vache et exposition aux agents abortifs étudiés

Enfin, nous avons réalisé une étude épidémiologique de type cas-témoin pour étudier l'association entre l'avortement chez la vache et l'exposition aux agents abortifs sélectionnés dans cette étude.

Deux groupes de vaches (un groupe de vaches ayant avorté et un groupe n'ayant jamais avorté) ont été définis indépendamment de leur appartenance à une ferme cas ou une ferme témoin, pour mettre en évidence un lien causal entre la circulation des virus BHV1, BHV4 et BVDV et les avortements chez la population bovine étudiée.

4.1. Étude de l'association entre la séropositivité au BHV1 et l'avortement des vaches

Parmi les 184 animaux testés, 88 avaient subi un avortement soit un taux de 47,8% et 96 n'ont pas subi d'avortement soit 52,2% (tableau 24). Sur les 88 vaches ayant avorté, 36 étaient séropositives au BHV1 soit un taux de séropositivité de 40,90%. Sur les 96 vaches n'ayant pas avorté, 20 étaient séropositives, soit un taux de séroprévalence de 20,8%.

Les deux séroprévalences obtenues sont significativement différentes ($p<0,05$).

Le calcul de l'Odds Ratio a montré une valeur significativement supérieure à 1 ($p < 0,05$), ce qui signifie qu'il existe une association statistique entre le fait de posséder des anticorps anti-BHV1 et le fait d'avoir avorté (tableau 24).

L'analyse statistique a montré que l'Odds Ratio était de 2.63, la fraction attribuable chez les exposés (AF) était de 61.97% et la fraction attribuable dans la population (PAF) obtenue a été de 25.35% (tableau 24).

Tableau 24 : association entre la séropositivité au BHV1 et l'avortement chez la vache

	Vaches	Vaches ayant avorté (cas)	Vaches n'ayant pas avorté (témoin)	Total
ELISA BHV1	Séropositives	36	20	56
	Séronégatives	52	76	128
	Total	88	96	184
	Taux d'exposition	40.9%	20.8%	30.43%
	Odds Ratio (IC 95%)	2.63 (1.37-5.04)		
	P	0.004		
	AF	61.97%		
	PAF	25.35%		

AF: fraction attribuable chez les exposés ; **PAF** : fraction attribuable dans la population

Nous pouvons ainsi conclure que :

- Les vaches séropositives vis-à-vis du BHV1 étant de 2.63 fois plus susceptibles d'avorter que les vaches séronégatives.
- La fraction attribuable chez les exposés (AF) de 61.97%, signifie que sur les 36 cas d'avortement survenus chez les vaches séropositives au BHV1, 22 cas sont dus au BHV1 ($Ne = AF (0,61) \times ne (36)$, soit ne le nombre de cas de vaches ayant avorté et exposé au BHV1).
- La fraction attribuable dans la population (PAF) obtenue de 25.35% signifie que parmi les 88 cas d'avortement enregistrés dans notre étude, 25.35% sont attribuables à l'exposition au BHV1, soit 22 cas d'avortement. $Np = PAF (0,25) \times np (88)$, soit np le nombre de cas total. Cela signifie aussi que 22 parmi les 88 cas d'avortement observés auraient pu être évités si le BHV1 n'avait pas sévi dans la région étudiée.

4.2. Étude de l'association entre la séropositivité au BVDV et l'avortement chez la vache

De la même façon que pour le BHV1, nous avons étudié l'association entre la séropositivité au BVDV et le fait d'avorter (tableau 25).

On constate que sur les 88 vaches qui ont avorté récemment, 36 soit 40,9% étaient séropositives au BVDV, alors que parmi les 96 vaches n'ayant pas avorté, 19 soit 19,8% étaient séropositives. Ces séroprévalences sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Le calcul de l'odds ratio montre une valeur significativement supérieure à 1 ($p < 0,05$) témoignant de l'existence d'une association significative entre le fait qu'une vache possède des anticorps contre le BVDV et le fait qu'elle ait récemment avorté.

L'analyse statistique a ainsi montré une valeur de 2.81 pour l'Odds Ratio, une fraction attribuable chez les exposés de 64.41% et une fraction attribuable dans la population de 26.34% (tableau 25).

Tableau 25 : association entre la séropositivité au BVDV et l'avortement chez la vache

	Vaches	Vaches ayant avorté	Vaches n'ayant pas avorté	Total
ELISA BVDV	Séropositives	36	19	55
	Séronégatives	52	77	129
	Total	88	96	184
	Taux d'exposition	40.9%	19.8%	29.89%
	Odds Ratio (IC95%)	2.81 (1.46-5.42)		
	P	0.002		
	AF	64.41%		
	PAF	26.34%		

AF: fraction attribuable chez les exposés ; **PAF** : fraction attribuable dans la population

Cette association est interprétée comme suit :

- Les vaches séropositives vis-à-vis du BVDV ont 2.81 fois plus de risque d'avorter que les vaches séronégatives.

- La fraction attribuable obtenue chez les exposés (AF) de 64.41% signifie que parmi les 36 cas d'avortement survenus chez les vaches révélées séropositives vis-à-vis du BVDV, 64.41% sont attribuables à l'exposition au BVDV, soit 23 cas d'avortement.
- La fraction attribuable dans la population (PAF) de 26.34% signifie que sur les 88 cas d'avortement enregistrés dans notre étude, 26.34% sont attribuables à l'exposition au BVDV correspondant à 23 cas d'avortement. En d'autres termes, 23 parmi les 88 cas d'avortement observés auraient pu être évités si le BVDV n'avait pas sévi dans la région.

4.3. Étude de l'association entre la séropositivité au BHV4 et l'avortement chez la vache

Si on considère l'association entre la séropositivité au BHV4 et le fait d'avorter, on constate que seulement 13 animaux ayant avorté étaient séropositifs au BHV4, correspondant à un taux de séropositivité de 14,8%. Parmi les vaches n'ayant pas avorté, 13 bovins sur les 96 n'ayant pas avorté étaient séropositifs au BHV4 soit un taux de 13,5% (tableau 26). Ces séroprévalences ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$).

Le tableau 22 indique que l'OR n'est pas significativement différent de 1 ($p=0.81$), ce qui est en faveur d'une absence d'association significative entre le fait d'avoir des anticorps anti-BHV4 et le fait d'avorter.

L'analyse statistique a donc montré une valeur d'Odds ratio de 1.11 (0.48-2.55), une fraction attribuable chez les exposées de 9.9% et une fraction étiologique dans la population de 1,46% (tableau 26).

Tableau 26 : Association entre la séropositivité vis-à-vis du BHV4 et l'avortement de la vache

ELISA BHV4	Vaches	Vaches ayant avorté (cas)	Vaches n'ayant pas avorté (Témoin)	Total
	Séropositives	13	13	26
	Séronégatives	75	83	158
	Total	88	96	184
	Taux d'exposition	14.8%	13.5%	14.13%
	Odds Ratio (IC95%),	1.11 (0.48-2.55)		
	P	0.81		
	AF	9.9 % n=1		
	PAF	1.46% n=1		

AF: fraction attribuable chez les exposés ; **PAF** : fraction attribuable dans la population

Le présent résultat est interprété comme suit :

- Les vaches séropositives et séronégatives vis-à-vis du BHV4 ont presque le même risque d'avorter (OR=1.11).
- La fraction attribuable chez les exposés (AF) de 9.9 %, signifie que parmi les 13 cas d'avortement survenus chez les vaches séropositives vis-à-vis du BHV4, un seul cas est dû au BHV4.
- La fraction attribuable dans la population (PAF) de 1.46%, signifie que parmi les 88 cas d'avortement observés dans notre étude, 1.46% sont attribuables à une exposition au BHV1, soit un seul cas d'avortement dû au BHV4. Cela veut dire qu'un seul cas d'avortement parmi les 88 vaches ayant avorté aurait pu être évité s'il n'était pas exposé au BHV4.

En bilan, la fraction attribuable dans la population totale (PAFt) est de 51.17%, ce qui signifie qu'approximativement la moitié des cas d'avortement enregistrés dans notre région d'étude sont dus à l'un des 3 agents abortifs étudiés. Ce qui peut signifier que si nous éradiquons ces trois virus ultérieurement, le taux d'avortement diminuera de 51.17%.

4.4. Étude de l'association entre la coinfection (par deux ou trois virus) et l'avortement chez la vache

Enfin, nous avons étudié l'association entre les individus coinfectés (par les 2 ou 3 virus étudiés) et la présence d'avortement (tableau 27).

L'étude a montré une association significative entre le fait d'être séropositif à la fois pour le BHV1 et le BVDV et le fait d'avorter ($OR > 1$, $P < 0,05$). Les autres associations ne se sont pas montrées significatives ($P \geq 0,05$).

L'étude de l'association BHV1-BVDV a fait ressortir une valeur d'Odds Ratio de 3.44, ce qui signifie que les vaches séropositives vis-à-vis d'une coïnfection BHV1-BVDV sont 3.44 fois plus susceptibles d'avorter que les vaches séronégatives.

La fraction attribuable chez les exposés (AF) était de 70.93%, révélant que parmi les 14 cas d'avortement enregistrés chez les vaches séropositives à la fois aux BVDV et BHV1, 10 cas sont dus à la coïnfection BHV1-BVDV.

La fraction attribuable dans la population (PAF) était de 11.28 %, montrant que parmi les 88 cas d'avortement observés dans notre étude, 11.28% sont attribuables à l'exposition simultanée aux virus BHV1 et BVDV, ce qui correspond à 10 cas d'avortement imputer à la coïnfection. Cette analyse nous permet d'avancer que 10 cas d'avortement parmi les 88 enregistrés dans notre étude auraient pu être évités si cette coïnfection n'a pas eu lieu.

Tableau 27 : association entre les coïnfections et l'avortement chez les vaches

Infection double	BVDV-BHV1		BVDV-BHV4		BHV1-BHV4		BVDV-BHV1-BHV4	
Test ELISA	avorté	Non avorté	avorté	Non avorté	avorté	Non avorté	avorté	Non avorté
Exposée	14	5	5	2	1	3	4	1
Non exposée	74	91	83	94	87	93	84	95
Total	88	96	88	96	88	96	88	96
Taux d'exposition (%)	15,9%	5.2%	5.7%	2.1%	1.1%	3.1%	4.76%	1.04%
OR (IC 95%)	3.44 (1.18-10)		2.83 (0.53-14.98)		0.36 (0.04-3.49)		4.54 (0.43-227.58)	
Valeur de p	0.02 S		0.22 NS		0.38 NS		0.19 NS	
AF %	70.93		64.66		-17.7		77.97	
PAF %	11.28		3.67		-2.01		3.71	

AF: fraction attribuable chez les exposés ; PAF : fraction attribuable dans la population

DISCUSSION

III. Discussion

1. Enquête épidémiologique sur les avortements bovins

1.1. Prévalence des avortements

Cette enquête a révélé que parmi les 300 vaches enquêtées, 88 ont avorté, soit une prévalence globale de 29,33% (IC 95% 24.2% -34.5%). Ce taux est très élevé et constitue une valeur critique, car selon les experts, un taux d'avortement situé entre 5% à 8% est déjà jugé inacceptable dans un élevage bovin (Holler, 2012).

Si on compare notre taux d'avortement avec ceux obtenus dans d'autres études réalisées en Algérie, on remarque que notre prévalence est bien plus importante. En effet, Kaouche et ses collaborateurs (2011) ont renseigné un taux de 10% à Média, Ghalmi et ses collaborateurs (2012) ont trouvé un taux de 7.46% dans une étude réalisée à Sétif, Bejaia et Alger, et récemment Abdelhadi et ses collaborateurs (2015) ont rapporté un taux de 5.61% à Tiaret. En comparant la présente prévalence avec d'autres régions dans le monde, elle s'avère également plus importante que celles publiées au Maroc (10.4%) (Lucchese et al., 2016), en Ethiopie (8 %) (Geresu et al., 2016), en Belgique (0.7 %) (Czaplicki et Thiry, 1998), en Italie (1,2 %) (Cavirani et al., 2001), en Espagne (13.79 %) (Mainar-Jaime et al., 1999) et au Mexique (25%) (Garcia-Vazquez et al., 2005),

À l'échelle de l'exploitation, une prévalence d'avortement élevée a aussi été observée. En effet, environ la moitié des exploitations (47.5%) renferment au moins une vache ayant avorté. Ce taux est presque similaire à celui observé au Maroc (48%) (Lucchese et al., 2016). Cependant, il est inférieur à celui rapporté par Anka et ses collaborateurs en Malaisie (2014) (53.42%) et Chand et Chhabra (2013) en Inde (84.03%). Des taux moins importants ont été observés en Jordanie (30.64%) (Talafta et al., 2009), au Brésil dans deux études différentes (18.73%) (6.48%) (Dias et al., 2013 ; Fernandes et al., 2016) et en Ouganda (16.44%) (Makita et al., 2011).

Cette différence de prévalence entre les régions ou les pays peut être expliquée par les prévalences des maladies abortives bovines qui sont différentes. , vue que l'origine infectieuse semble la cause la plus dominante (Kirkbride, 1992 ; Hauray, 2000 ; Yamini, 2004 ; Khodakaram-Tafti, 2005 ; Ernest, 2009).

1.2. Étude des facteurs de risque liés aux avortements chez la vache

Les facteurs qui influencent la prévalence des avortements chez la vache ne sont pas tout à fait connus.

Les différents facteurs analysés en fonction de leur impact éventuel sur l'avortement chez les vaches révèlent que les facteurs tels la commune, la taille du troupeau, le mode de reproduction, la présence de petits ruminants dans la ferme, le pratique du pâturage commun des bovins, l'isolement des animaux nouvellement acquis et la source de la vache se sont montrés significativement associés à la survenue des avortements chez les vaches dans notre étude ($p < 0,05$).

L'effet de ces facteurs analysés sur l'avortement peut être lié à leur capacité de favoriser la transmission et la dissémination des maladies à caractères abortives, vue que la majorité des avortements bovins sont d'origine infectieuse (Kirkbride, 1992 ; Hauray, 2000 ; Yamini, 2004 ; Khodakaram-Tafti, 2005 ; Ernest, 2009).

a). Commune

Une différence significative a été observée entre la prévalence d'avortement et la localisation géographique des vaches (commune). Ainsi, les cas d'avortement sont très fréquents dans la commune d'Ain Arnat suivie par la commune d'El-Ouricia. Toutefois, une faible prévalence a été observée dans la commune d'Ain Roua et Ain Abessa. Cette différence de prévalence entre les régions pourrait être expliqué par la différence dans la prévalence des maladies abortives d'une région à l'autre, ainsi qu'aux facteurs de risque favorisant leur apparition.

b). Taille de troupeaux

Dans notre étude, l'importance de l'effectif fait apparaître une association significative avec la survenue des avortements chez les vaches. Cela peut être expliqué d'une part, par le fait que les avortements d'origine traumatique augmentent avec le nombre de vaches dans le troupeaux et d'autre part, par le fait que les plus grands troupeaux ont plus de chance de s'infecter et de se transmettre des agents pathogènes par l'achat d'un grand nombre de taureaux, de vaches et de génisses de remplacement dont le statut sanitaire est inconnu. De nombreuses études épidémiologiques réalisées sur les maladies abortives bovines ont décrit l'importance de l'effectif en tant que facteur de risque, telles que celles publiées sur la BVD (Mockeliuniene et al. 2004 ; Solis-Calderon et al., 2005 ; Talafha et al., 2009), sur l'IBR (Msolla et al., 1981 ; McDermott et al., 1997 ; Solis-Calderon et al., 2003), sur la neosporose (Schares et al., 2004 ; Aguiar et al., 2006; Ghalmi, 2009), sur la brucellose (Al-Majali et al., 2009 ; Makita et al., 2011), sur la chlamydiose (Yin et al., 2014) et sur la fièvre Q (Agger et Paul., 2014).

c). Mode de reproduction

Dans la présente étude, le mode de reproduction a une influence significative sur la survenue des avortements. En effet, les cas d'avortements sont plus fréquents chez les vaches saillies naturellement que chez celles inséminées artificiellement. Ceci peut suggérer la présence de certaines maladies abortives à transmission vénérienne dans les fermes bovines telle que la brucellose, la trichomonose, la vibriose ou la campylobactériose, et à moindre degré la BVD, l'IBR, la chlamydiose, la fièvre Q et la leptospirose.

d). Élevage mixte avec les petits ruminants

Le contact avec les petits ruminants semble influencer de façon significative l'avortement bovin. Ce qui explique le rôle du petit ruminant dans la transmission directe de certaines maladies abortives au bovins notamment la BVD et l'IBR, et de façon indirecte la toxoplasmose, la neosporose, la chlamydiose et la fièvre Q.

e). Pâturage commun des troupeaux

Le pâturage partagé avec les bovins d'autres fermes a aussi été analysé et les résultats montrent que ce facteur semble également influencer significativement la survenue des avortements chez les vaches. L'action de ce facteur ne peut que favoriser le contact des animaux entre eux et la transmission des agents pathogènes d'un élevage à un autre.

f). Isolement des animaux nouvellement acquis

Le non-respect de la mise en quarantaine des animaux nouvellement acquis semble influencer significativement la survenue de l'avortement chez les vaches dans notre étude. Ceci est à mettre en relation avec l'introduction d'agents infectieux abortifs avec les animaux nouvellement acquis infectés. Nous citons l'exemple des taureaux brucelliques utilisés pour la reproduction au sein des élevages indemnes entraînant la contamination du cheptel réceptive et sensible ainsi que l'apparition d'épisodes d'avortement ultérieurement.

g). Origine de l'animal

Dans notre étude, nous avons constaté que les vaches qui arrivent des marchés aux bestiaux avortent plus fréquemment que les vaches nées à la ferme. Ce constat pourrait être expliqué par l'introduction des animaux dont le statut sanitaire reste inconnu vis-à-vis des maladies infectieuses en général. D'ailleurs, ce facteur a été identifié comme un facteur de risque dans de nombreuses enquêtes épidémiologiques sur les maladies abortives telles que celles réalisées sur la neosporose (Stenlund et al., 2003; Frossling et al., 2005 ; Fernandes et al., 2016), sur

l'IBR (van Schaik et al., 2001; van Schaik et al., 2002), sur la BVD (Valle et al., 1999 ; Solis-Calderon et al., 2005 ; Talafha et al., 2009) et sur la brucellose (Chand et Chhabra, 2013).

2. Étude séro-épidémiologique de l'infection par les virus BHV1, BVDV et BHV4

La rhinotrachéite infectieuse bovine, la diarrhée virale bovine et l'infection à herpesvirus bovin 4 sont des pathologies de forte contagiosité (Dewals et al., 2006 ; Mylkens et al., 2007 ; Nandi et al., 2009) et de répartition mondiale (Lindberg et al., 2006., Thiry et al., 2006 ; Sayers et al., 2015). Ils sont à l'origine de pertes économiques considérables dans les élevages bovins, notamment à travers les avortements générés (Thiry et al., 2006 ; Radostis et al., 2007).

Dans la présente étude, nous avons utilisé le test immunoenzymatique (ELISA) de type indirect pour la mise en évidence des anticorps spécifiques dirigés contre le BHV1, le BVDV et le BHV4. Ce test est actuellement réalisé de façon quasi exclusive dans les enquêtes de dépistage et de la recherche scientifique en raison de sa haute sensibilité, sa spécificité, sa relative facilité, son rapidité d'exécution et sa capacité de traiter un grand nombre d'échantillons. En plus, leur réactifs sont généralement peu coûteux, stable et facile à préparer (Nandi et al., 2008). Malgré que le test de séro-neutralisation (SN) soit considéré comme le test de référence pour la détection des anticorps neutralisant anti-BHV1 et BVDV (Rocha et al., 2001 ; Vieira et al., 2003), il reste cependant coûteux, long (délai de 5 à 7 jours) et difficile à mettre en place à grande échelle, d'où son recours sur le terrain reste obsolète. Ce test est donc délaissé comme test de routine au profit des tests immunoenzymatiques.

Enfin, le fait que la vaccination des bovins contre le BHV1, le BVDV et le BHV4 ne soit pas pratiquée en Algérie, que les vaches importées ne soient pas vaccinées contre ces virus (selon les fiches d'identification des animaux examinés au moment des prélèvements) et que les animaux soient indemnes de toutes pathologies contagieuses (selon le certificat sanitaire délivré par le laboratoire de l'Institut National de Médecine Vétérinaire (INMV) condition à leur autorisation d'introduction au pays), les résultats de cette étude sérologique reflètent certainement une réponse naturelle à l'infection.

2.1. Étude de la séroprévalence des infections et coïnfections par les virus BHV1, BHV4 et BVDV

2.1.1. Séroprévalence du BHV1

Dans la présente recherche, 56 sur 184 vaches sont séropositives soit une prévalence de 30.43%. Cette séroprévalence est supérieure à celle obtenue par Achour et Moussa en 1996 en Algérie (21,8 %). Ces mêmes auteurs ont révélé une prévalence de 16.6 % et 20.1% dans deux régions

limitrophes à la nôtre région à savoir Bordj Bou Arreridj et Bejaia respectivement. Cependant, notre séroprévalence s'avère inférieure à celle obtenue dans une étude récente réalisée sur deux exploitations bovines souffrant de problèmes d'avortements et situées au Centre du pays, où le taux de séropositivité a atteint 50 % (Dechicha et al., 2010). Par ailleurs, et dans le cadre de la recherche des maladies respiratoires bovines, des travaux réalisés dans quelques pays voisins ont montré des taux de séroprévalences plus élevées comparées à celle obtenue dans cette étude, 62.8% au Maroc (Mahin et al., 1985) et 55.3% en Tunisie (Ghram et Minocha, 1990). Une autre étude publiée récemment au Maroc sur les maladies abortives bovines rapporte un taux de positivité au BHV1 de 50% (Lucchese et al., 2016).

Maintenant, si on compare nos résultats sur la séroprévalence du BHV1 par rapport aux autres études réalisées dans d'autres régions du monde (autre que le Maghreb), nous remarquons que notre taux de séropositivité est proche à celui rapporté par Yesilbag et ses collaborateurs (2003) en Turquie, Yan et ses collaborateurs (2008) en Chine, Nandi et ses collaborateurs (2011) en Inde, Nikbakht et ses collaborateurs (2015) en Iran et Guarino et ses collaborateurs (2008) en Uruguay où des taux de 35.8 %, 35%, 37.7%, 31.9% et 37% ont été respectivement obtenus. En revanche, notre étude a montré une séroprévalence plus importante à celles observées au Canada (20.4%) (Waldner et al., 2005), en Estonie (22.4 %) (Raaperi et al., 2011) et en Italie (5.52%) (Castrucci et al., 1997), alors qu'elle est plus faible que celles observées en Pologne (39.2%) (Rypula et al., 2012), en Belgique (61%) (Boalaert et al., 2000), en Espagne (45.7%) (Gonzalez-Garcia et al., 2009), au Sénégal (77.27%) (Kouamo et al., 2010), en Zambie (48,28%) (Mweene et al., 2003), au Brésil (59%) (Dais et al., 2013), en Équateur (43.2%) (Carbonero et al., 2011), au Costa Rica (48%) (Raizman et al., 2011), en Thaïlande (61%) (Kampa et al., 2009) et enfin, en Turquie (44.71%) (Yazici et al., 2015).

2.1.2. Séroprévalence du BVDV

Nos résultats ont montré que 55 sur les 184 échantillons sont séropositifs au BVDV soit un taux de séroprévalence de 29.89 %. En comparant la prévalence sérologique obtenue à celles rapportées dans d'autres études publiées, il en ressort que cette séroprévalence est plus élevée que celles observées en Espagne (21%) (Mainar-Jaime et al., 2001), au Mexique (14%) (Solis-Calderon et al., 2005) et au Etat Unis (7.4%) (Munoz-Zanzi et al., 2003). Elle est cependant, du même ordre de grandeur que celles observées en Jordanie (31.6%) (Talfaha et al., 2009), en Arabie saoudite (26%) (Mahmoud et Allam, 2013), en Italie (31.1%) (Luzzago et al., 2008), en Belgique (32.9%) (Sarrazin et al., 2013), en Irlande (25%) (Sayers et al., 2015) et au Costa-Rica (27%) (Raizzman et al., 2011). En revanche, des séroprévalences plus élevées ont été

rapportées en Uruguay (69%) (Guarino et al., 2008), en Argentine (70%) (Gorgoza et al., 2005), au Brésil (39.1%) (Fernandes et al., 2016), au Sénégal (47%) (Kouamo et al., 2010), en Roumanie (41.44%) (Anita et al., 2013), au Maroc (37%) (Lucchese et al., 2016) et en Iran où des taux de (54.3%) et (64.4%) ont été obtenus dans deux régions différentes du pays (Ghaemmaghani et al., 2013 ; Nikbakht et al., 2015).

2.1.3. Séroprévalence du BHV4

Cette enquête sérologique a révélé que parmi les 184 vaches prélevées, 26 sont séropositives, soit un taux de séroprévalence de 14.13%. Cette séroprévalence obtenue pour le BHV4 est très proche à celles publiées au Ghana (14 %) (Marchot et al., 1991), au Danemark (16%) et (18%) (Wellenberg et al., 1999) et en France 11.9% (Leboeuf, 2013). Elle est toutefois plus importante que celles publiées au Maroc (9.52%) (Lucchese et al., 2016), au Japon (8,9%) (Asano et al., 2003), en Suisse (4.2%) (Metzler et al., 1990) et Aux Pays-Bas (4 %) (Wellenberg et al., 2002).

En revanche, notre séroprévalence s'est révélée plus basse que celles rapportées au Zaïre (70%) (Eyanga et al., 1989), au Canada (98,2 %) (Ali et al., 2011), en Colombie (95,4 %) (Figueredo, 2009-2011), au Taiwan (23,3 %) (Kwang et al., 1999) et en Ethiopie (22,3 %) (Woldemeskel et al., 2000). Des taux de séropositivité plus élevés ont été également obtenus dans d'autres enquêtes sérologiques réalisées sur des vaches issues de troupeaux présentant des problèmes de reproduction, nous citons l'exemple du Soudan (19,3%) et (25%) (Elhassan et al., 2011), de la Turquie (56,8 %) (Bilge Dagalp et al., 2007), des Etats-Unis (36 %) (Frazier et al., 2002) et de la Serbie (84 %) (Nikolin et al., 2007).

2.1.4. Séroprévalence des coïnfections

La coïnfection double la plus fréquemment rencontrée est la combinaison BHV1-BVDV avec un taux de séroprévalence de 10.32%, suivie par l'association BHV1-BHV4 (3.80%) et enfin, BVDV-BHV4 (2.17%). Une coïnfection triple a également été relevée avec un taux de 2.71%. Une étude similaire a été menée en Turquie sur 140 vaches laitières ayant déjà avorté, elle montre des taux de 26.6%, 8.6%, 6.4% et 11.4% pour les coïnfections BHV1-BVDV, BHV1-BHV4, BVDV-BHV4 et BHV1-BVDV-BHV4 respectivement (Yildirim et al., 2011).

Pour la coïnfection double BHV1-BVDV, des taux de séropositivité plus élevés ont été obtenus dans d'autres études sérologiques réalisées au Maroc (Lucchese et al., 2016), en Roumanie (22,63%) (Anita et al., 2013), au Sénégal (43.5%) (Kouamo et al., 2010) et en Iran (23.91%) (26.2%) (Ghaemmaghani et al., 2013 ; Nikbakht et al., 2015).

Les différences régionales dans les séroprévalences des maladies à l'origine de l'avortement peuvent être le résultat d'une variété de facteurs telles que les méthodes de gestion sanitaire du troupeau, les programmes de vaccination, le climat, le mode d'élevage, l'alimentation, les facteurs géographiques, le nombre de gestation et la désinfection (Anderson et al., 1990 ; Anderson et al., 2007 ; Ozturk et al., 2011).

2.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des infections et coïnfections par les virus BHV1-BHV4-BVDV

2.2.1. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BHV1

L'analyse détaillée des résultats montre que le taux de séropositivité vis-à-vis du BHV1 semble varier significativement en fonction de la commune, du mode d'élevage, du pâturage en commun avec des bovins des autres fermes, du mode de reproduction, de la présence des petits ruminants, de la source de l'animal et de la séropositivité vis-à-vis du BVDV. L'ensemble de ces facteurs seront discutés et comparés aux données bibliographiques :

a). Commune

Une différence très significative entre la prévalence des anticorps anti-BHV1 et la localisation géographique des vaches testées. Les taux de séropositivité les plus élevés sont observés dans la commune d'El-Ouricia, suivie par les communes d'Ain Roua et Ain Abessa. Toutefois, une faible prévalence a été observée dans la commune d'Ain Arnet. En effet, La différence de la séroprévalence entre les régions et les pays est expliquée par de nombreux facteurs tels que la densité de la population bovine, la taille des troupeaux, les pratiques d'élevage, le mouvement des animaux et les mesures de contrôle de la maladie (Houe et al., 1995 ; McDermott et al., 1997).

En plus, le climat joue un rôle favorisant à l'infection par BHV1 d'après Woodbine et ses collaborateurs qui ont montré que les exploitations situées dans des zones plus froides à haute altitude sont plus exposées à l'infections par le BHV1 (Woodbine et al., 2009). Cette constatation est en accord avec notre étude qui montre une séroprévalence plus élevée dans les trois communes situées dans la zone montagneuse (plus de 1100 m d'altitude) au nord de la région enquêtée par rapport à celle enregistrée dans la commune d'Ain Arnet située dans les hautes plaines (moins de 1100 m d'altitude) au sud de la région étudiée. Cela peut être lié à la forte résistance du BHV1 aux températures froides (Straub, 2001).

b).Mode d'élevage et pâturage en commun avec des bovins des autres fermes

L'analyse statistique a révélé que les vaches élevées en mode d'élevage semi-intensif sont plus exposées à l'infection que celles élevées en mode intensif. Ceci rejoint les constatations décrites par de nombreux auteurs sur le rôle du mode intensif dans la prévention des infections externes par le BHV1 (Van Schaik et al., 1998; Van Schaik et al., 2002; Vonk Noordegraaf et al., 2004; Boelaert et al., 2005 ; Gonzalez-Garcia et al., 2009). La forte séropositivité des vaches élevées en mode semi-intensif pourrait être liée au pâturage qui favorise le contact des animaux et la transmission du BHV1 entre bovins (Dias et al., 2013). Ce résultat a été renforcé par une autre étude qui révèle une séoprévalence plus élevée chez les vaches qui pâturent en commun avec les bovins d'autres fermes que celles qui pâturent dans des parcelles isolées et celles qui ne pâturent pas, montrant ainsi le risque induit par le mélange des bovins des différents troupeaux dans la dissémination de l'IBR d'un élevage à un autre. Plusieurs auteurs ont déjà identifié le pâturage et le mélange des bovins des différents troupeaux en tant que facteurs de risque de transmission de la rhinotrachéite infectieuse bovine (McDermott et al., 1997; Van Schaik et al., 2001 ; Dias et al., 2013).

c).Mode de reproduction

Dans notre étude, un lien significatif a été retrouvé entre la séropositivité vis-à-vis du BHV1 et le mode de reproduction. En effet, les vaches saillies naturellement sont plus infectées que celles inséminées artificiellement. Un résultat similaire a été rapporté par Dias et ses collaborateurs en 2013 au Brésil. Cette observation s'est expliquée par une fréquence élevée parmi les taureaux utilisés pour la monte naturelle dans la région d'étude et qui sont infectés par le BHV1, car la transmission peut se produire par le sperme contaminé (Straub, 1990 ; Wellemanns et al., 1993 ; Wentink et al., 1993; Van Oirschot, 1995; Deka et al., 2005).

d).Présence de petits ruminants

Dans la présente étude, l'élevage mixte avec les petits ruminants influence significativement la séropositivité vis-à-vis du BHV1. Ceci est en accord avec des études expérimentales qui ont mis en évidence que le BHV1 peut infecter de nombreuses espèces de ruminants et traverser la barrière de l'espèce (Keuser et al., 2004), notamment les ovins et les caprins qui peuvent être infectés et excrètent le virus pouvant contaminer les autres bovins (Wafula et al., 1985; Whetstone et Evermann, 1988; Six et al., 2001; Thiry et Lemaire, 2001 ; Thiry et al., 2006).

e).Source de l'animale

Dans la présente recherche, la séroprévalence du BHV1 a varié de façon significative en fonction de la source de la vache. Ainsi, les vaches achetées semblent être plus exposées que celle nées à la ferme. Ce résultat est en accord avec celui observé dans une étude récente effectuée en Irlande qui a rapporté que les taureaux achetés sont trois fois plus séropositifs que ceux nés à la ferme (Martinez-Ibeas et al.,2015). Différente études ont montré que l'achat de nouveaux animaux est un facteur de risque à l'introduction de l'IBR au sein d'un troupeau (Paton et al., 1998; Van Wuijckhuise et al., 1998; Vonk Noordegraaf et al., 1998 ;Van Schaik et al., 1999 ; Van Schaik et al. 2001; Kampa et al., 2004; Boelaert et al., 2005; Nardelli et al., 2008 ; GonzalezGarcia et al., 2009 ; Dias et al., 2013). Ce résultat est principalement expliqué par deux éléments essentiels, le marché à bestiaux et le transport. En effet, le marché du bovin constitue un lieu de contact et de contamination des animaux et le transport qui est considéré comme un facteur de stimuli pouvant induire la réactivation et le déclenchement de l'IBR chez les animaux porteur latent du BHV1, ce qui rend ces animaux une source de contamination et de propagation du virus au niveau du marché et de l'exploitation à leur arrivée (Thiry et al., 2006). Concernant les bovins achetés à partir des exploitations voisines, cela est probablement lié à l'introduction des animaux en phase d'incubation ou des animaux latents (Msolla et al., 1981; Pastoret et al., 1982).

f).Statut sanitaire vis-à-vis de la diarrhée virale bovine

En ce qui concerne le statut sanitaire vis-à-vis de la diarrhée virale bovine, l'infection par le BVDV influence significativement la séroprévalence du BHV1. Ceci est en accord avec une étude menée en Estonie qui rapporte que la présence de l'infection par le BVDV est significativement associée à une plus haute séroprévalence intra-troupeau du BHV1 (Raaperi et al., 2010). D'autres études ont également révélé une forte association entre la séropositivité par les deux virus (Paton et al., 1998 ; Kampa et al., 2004 ; Nikbakht et al., 2015). Cela peut est probablement lié à l'effet immunosuppresseur de l'infection par le BVDV qui pourrait être un facteur prédisposant à d'autres infections virales ou bactériennes, incluant l'infection par le BHV1 (Potgieter, 1995 ; Al-Haddawi et al., 2007 ; Raaperi et al., 2010 ; Ridpath, 2010).

2.2.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BVDV

En somme, 16 variables ont été analysées. Les tests statistiques ont défini 3 variables significativement associées à la séroprévalence du BVDV qui sont les suivants : la présence de petits ruminants, la race et la séropositivité vis-à-vis du BHV1.

Les résultats obtenus sont discutés comme suit :

a).Présence de petit ruminant

Dans la présente étude, l'élevage mixte avec les petits ruminants influence significativement sur la séropositivité vis-à-vis du BVDV. Ceci rejoint les résultats de nombreux travaux qui montrent que le BVDV peut infecter et induire des signes cliniques chez les petits ruminants et que ces derniers une fois infectés, constituent une source importante d'excrétion du virus (brownlie, 1985 ; Chappuis, 1999 ; Liu et al., 2009 ; Krametter Froetscher et al., 2010; Khezri, 2015). Par ailleurs, une étude récente a mis en évidence la possibilité de transmission verticale du BVDV chez les ovins et la génération des agneaux immunotolérants (IPI) peuvent contaminer les bovins à l'occasion d'un contact direct (Yazicu et al., 2012).

b).Race

La séroprévalence du BVDV a varié significativement en fonction de la race. En effet, la race européenne est la plus infectée, suivie par la race croisée. La race locale s'est montrée indemne. Ceci corrobore la bibliographie qui rapporte que les races importées des pays occidentaux sont plus exposées que les races locales et croisées des pays en voie de développement en raison de leur sensibilité aux maladies et du fait de ne pas supporter les conditions d'élevage pratiquées dans ces pays (Mohamadou et al., 2003).

c).Statut sanitaire vis-à-vis de la rhinotrachéite infectieuse bovine

Même constat que pour la rhinotrachéite infectieuse bovine, l'infection par le BHV1 influence significativement sur la séropositivité vis-à-vis du BVDV, ce qui suggère que les mêmes facteurs interviennent sur le risque que les vaches soient infectées par les deux virus (Paton et al., 1998 ; Kampa et al., 2004 ; Nikbakht et al., 2015). Cela est soutenu par cette même étude qui montre que l'élevage mixte avec les petits ruminants est un facteur de risque de transmission à la fois de la BVD et de l'IBR.

2.2.3. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence vis-à-vis du BHV4

Les différents facteurs analysés en fonction de leur impact éventuel sur la séroprévalence du BHV4 n'ont montré aucune association significative, Cela peut être lié au faible nombre des animaux testés dans notre étude. Actuellement, il y a peu d'enquêtes épidémiologiques publiées sur les facteurs de risque pouvant intervenir à la séropositivité vis-à-vis du BHV4 à travers le monde, bien qu'il soit cosmopolite. Cela est probablement expliqué par le fait que le BHV4 n'est pas responsable de pathologies importantes et qu'il ait été isolé apparemment du bétail sain (Markine-Goriaynoff et al., 2003).

2.2.4. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des coïnfections par les virus BHV1-BHV4-BVDV

2.2.4.1. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence de la coïnfection BHV1-BVDV

a). Mode de reproduction

Nos résultats ont montré que le taux de séropositivité de la coïnfection double BHV1-BVDV varie significativement en fonction du mode de reproduction. Ainsi, les vaches saillies naturellement sont plus exposées que celles inséminées artificiellement. Ce résultat peut être expliqué par l'utilisation de taureaux infectés par ces deux virus lors de la monte naturelle, car en effet, la transmission peut se produire à partir de sperme contaminé par le BHV1(Straub, 1990 ; Wellemanns et al., 1993 ; Wentink et al., 1993; Van Oirschot., 1995; Deka et al., 2005 ; Dias et al., 2013), ou par le BVDV (Houe, 1999 ; Lindberg et Alenius, 1999; Fray et al., 2000 ; Gard et al., 2007 ; Quincozes et al., 2007; Rikula et al., 2008 ; Chaves et al., 2010 ; Almeida et al., 2013).

b). Présence de petits ruminants

Le contact avec les petits ruminants semble influencer de façon significative la séropositivité vis-à-vis de la coïnfection double BHV1-BVDV. Ceci va dans le même sens que les résultats discutés plus haut qui montrent la forte association de ce facteur au BHV1 et au BVDV séparément. Ce résultat n'est pas surprenant vu que ces deux virus peuvent infecter les petits ruminants qui excrètent les virus et contaminent les bovins présents dans les exploitations (Wafula et al., 1985 ; Whetstone et Evermann, 1988 ; Six et al., 2001 ; Thiry et Lemaire, 2001 ; Thiry et al., 2006 ; brownlie, 1985 ; Chappuis, 1999 ; Liu et al., 2009 ; Krametter Froetscher et al., 2010; Khezri, 2015).

c).Pâturage commun des troupeaux

Notre étude a montré que le pâturage commun des troupeaux bovins s'est avéré un facteur de risque de transmission à la fois de la BVD et de l'IBR en même temps. Ceci est justifié par le fait que les agents infectieux de la BVD et de l'IBR soient présents dans les sécrétions nasales et que le contact direct "mufle-à-mufle" au moment du pâturage est assez suffisant pour la propagation de ces infections (Brownlie et al., 1987 ; Pastoret et al., 1997 ; Van schaik et al., 2002, Callan et Metre Van, 2004 ; Vonc Noordegraaf et al., 2004).

d). Origine de l'animal

L'association BHV1-BVDV varie de façon significative en fonction de la source de la vache. Les vaches achetées semblent être plus infectées que celles nées à la ferme. Les vaches achetées semblent constituer une source importante des virus BHV1 et BVDV. Il n'existe que peu d'enquêtes épidémiologiques qui étudient les coinfections et leur facteurs de risque en épidémiologie animale (Candela et al., 2009), y compris la combinaison BHV1-BVDV (Nikbakht et al., 2015) malgré leur forte contagiosité, leur importance économique, leur distribution mondiale ainsi que leurs caractéristiques communes. Cependant, l'achat de nouveaux animaux a été identifié comme un facteur de risque dans de nombreuses enquêtes épidémiologiques effectuées sur l'IBR (Paton et al., 1998 ; Van Wuijckhuise et al., 1998; Vonk Noordegraaf et al., 1998 ; Van Schaik et al., 1999 ; Van Schaik et al., 2001; Kampa et al., 2004 ; Boelaert et al., 2005 Nardelli et al., 2008 ; GonzalezGarcia et al., 2009 ; Dias et al., 2013). et sur la BVD étudiés séparément (Valle et al., 1999 ; Mainar-Jaime et al., 2001 ; Solis-Calderon et al., 2005 ; Talafha et al., 2009 ; Saa et al., 2012 ; Fernandes et al., 2016).

2.2.4.2. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence de la coinfection BHV1-BHV4

a). Isolement des animaux nouvellement achetés

Dans notre étude, le non-respect de la mise en quarantaine des animaux nouvellement acquis est significativement associé à la séropositivité des animaux vis-à-vis de la coinfection BHV1-BHV4. Ceci est expliqué par l'introduction des animaux en phase d'incubation ou des animaux latents dans les fermes sans mis en quarantaine (Msolla et al., 1981; Pastoret et al., 1982 ; Egyed et al., 1996). En outre, ces deux virus à l'instar des autres herpesvirus, ils peuvent s'installer à l'état latent et se réactivent par différents stimuli stressants tels que le transport, le changement d'environnement, la parturition et les maladies intercurrentes chez les bovins infectés (Rock et al., 1992 ; Thiry et al., 2006 ; Pershev et Christova, 2013). De même, l'expression de signes cliniques chez ces animaux lors de la réactivation est le plus souvent fruste ou inapparente (Thiry et al., 1997 ; Callan et Metre Van, 2004), ce qui rend leur détection clinique non évidente bien qu'ils secrètent toujours les virus et contaminent les autres bovins.

2.2.4.3. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des coïnfections BVDV-BHV4 et BHV1-BVDV-BHV4

Les analyses statistiques ne montrent aucun lien significatif pour les coïnfections associant BHV1- BVDV-BHV4 et BVDV-BHV4 en fonction des différents facteurs étudiés. Cela peut être expliqué probablement par la faible taille de notre échantillon.

3. Étude épidémiologique de type cas-témoin

La corrélation entre la séroprévalence aux infections par les virus BHV1-BHV4- BVDV et la présence d'avortement a été estimée, d'abord au niveau des exploitations prélevées puis au niveau individuel afin de vérifier si le BHV1, BHV4 et/ou le BVDV étaient impliqués dans la survenue d'avortement chez les vaches. Nous avons pour cela réalisé une étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la séroprévalence vis à vis de ces 3 agents viraux abortifs.

Un total de 26 fermes bovines de la région Ouest et au Nord-Ouest de Sétif a été étudié. Sur la base d'un questionnaire épidémiologique, les fermes étaient réparties en fermes témoins et en fermes cas. Les sérums d'un total de 184 vaches (130 dans les fermes cas et 54 dans les fermes témoins) ont été prélevés et analysés pour la détection d'anticorps spécifiques du BHV1, BHV4 et/ou le BVDV. Une ferme était considérée comme positive si au moins un seul animal était positif.

L'analyse cas-témoin à l'échelle de l'exploitation n'indique aucune association significative entre le fait d'être exposé aux différents agents viraux étudiés et le fait d'avoir des avortements dans la ferme. Ceci est probablement dû au petit nombre de fermes ciblées.

Au niveau individuel, l'étude de l'association entre l'exposition des vaches aux différents agents viraux et le statut de la ferme (cas ou témoin) ne montre aucune association significative à l'exception du BVDV. En effet, pour l'étude cas témoin à l'échelle individuelle et consacrée au BVDV, le calcul de l'Odds ratio a montré une valeur de 3.26 qui est significativement différente de 1 ($p < 0,05$) ce qui est en faveur d'une association positive entre le fait d'avoir des anticorps anti-BVDV et le statut de la ferme. Ceci est encore appuyé par le taux d'exposition qui est plus élevé (36.1%) chez les animaux appartenant aux fermes cas comparativement à un taux de 14.81% chez les animaux du groupe témoin. Cette différence dans les taux d'exposition est probablement liée à l'existence des animaux IPI dans les fermes cas qui maintient la circulation virale, assurant la contamination de ces congénères et engendrent ensuite des flambées d'avortement au sein de ces troupeaux (Houe, 1999).

4. Étude cas-témoin entre avortement chez la vache et exposition aux agents abortifs étudiés

L'étude de l'association entre la séropositivité aux 3 agents viraux et le statut de la vache vis-à-vis des avortements indépendamment de son appartenance à une ferme cas ou une ferme témoin a aussi été réalisée.

L'analyse cas-témoin a révélé un lien très significatif entre le fait d'être exposée au BHV1, BVDV ainsi que l'association BHV1-BVDV et le fait d'avoir avorté. Alors qu'aucun lien significatif n'ait été retrouvé chez les vaches exposées au BHV4 et les autres coinfections possibles.

4.1. Étude de l'association entre la séropositivité au BHV1 et l'avortement des vaches

L'étude cas témoin a révélé un lien significatif ($p=0.004$) entre la séropositivité vis-à-vis du BHV1 et l'avortement chez les vaches. Ce constat est étayé par le taux d'exposition des vaches ayant avorté (40,9 %) comparées à celles n'ayant pas avorté (20.8%) et le calcul de l'OR a montré une valeur de 2.63, ce qui pourrait signifier que les vaches séropositives au BHV1 ont 2.63 fois plus de risque d'avorter que les vaches séronégatives. En comparant ce présent résultat avec d'autres études qui confirment une association significative entre la séropositivité au BHV1 et l'avortement, les travaux de Dias et ses collaborateurs (2013) réalisés au Brésil ont démontré également une relation significative mais assez faible ($OR=1,45$) entre les vaches séropositives au BHV1 et ayant avorté. En Estonie, Raaperi et ses collaborateurs (2012) ont mis en évidence une association beaucoup plus étroite entre la séropositivité au BHV1 et le fait d'avorter avec une valeur de l'OR de 7,3.

En calculant la fraction attribuable chez les exposés (AF) et la fraction attribuable dans la population (PAF) nous avons obtenus les valeurs de 61.97% et 25,35% respectivement. Ces résultats suggèrent que 25.35% de ces avortements peuvent être attribués au BHV1.

L'action abortive du BHV1 a été décrite depuis longtemps et dans de nombreux travaux (Crane et al., 1964 ; Kennedy et al., 1964 ; Kelling et al., 1974 ; Muylkens, 2007 ; Nandi et al 2009 ; Graham, 2013) entraînant des anomalies importantes dans les viscères fœtaux, un arrêt progressif de la circulation sanguine dans le placenta et sa dégénérescence (Nandi et al 2009 ; Graham, 2013).

4.2. Étude de l'association entre la séropositivité vis-à-vis du BVDV et l'avortement de la vache

L'étude cas témoin a révélé également une relation très significative entre la séropositivité au BVDV et l'avortement chez les vaches. Avec un taux d'exposition de 40,9 % chez les vaches ayant avorté contre 19.8 % chez les vaches n'ayant jamais avorté, avec un Odds Ratio de 2.81. ce qui nous incite à conclure que les vaches séropositives au BVDV sont 2.81 fois plus susceptibles d'avorter que les vaches séronégatives.

Nos résultats vont dans le même sens que d'autres travaux publiés à travers le monde qui ont également mis en évidence une corrélation significative entre la séropositivité au BVDV et l'avortement chez la vache. Cependant, pour certaines études cette relation positive était moins forte que la nôtre comme trouvé au Kenya (OR=1.5) (Okumu, 2014) et au Nouvelle Zélande (OR=2.05) (Sanhueza, 2011). Alors que d'autres travaux ont pu obtenir une association beaucoup plus étroite entre la séropositivité au BVDV et les avortements citons les résultats rapportés au Philippines (OR=27.11) (Konnai et al., 2008) et en Norvège (OR=11.6) (Fredriksen et al., 1998).

De la même façon que pour le cas du BHV1, nous avons estimé une fraction attribuable chez les exposés (AF) et une fraction attribuable dans la population qui étaient de l'ordre de 64,41 % et 26,34% respectivement, ce qui suggère que 26.34% de ces avortements peuvent être attribués au BVDV. Ce taux est plus élevé que celui rapporté par Sanhueza et ses collaborateurs en 2011 (3.5%).

Par ailleurs, plusieurs études expérimentales ont démontré l'effet abortifs du BVDV chez les bovins (Kendrick et al., 1976 ; Done et al., 1980 ; Anderson et al., 1990 ; Sprecher et al., 1991 ; Kirkbride et al., 1992 ; Woodard, 1994 ; Alves et al., 1996). Cependant, bien que le mécanisme de l'avortement par le BVDV ne soit pas clair, il semblerait que ce virus puisse provoquer des vascularites dans le placenta maternel et pénétrer dans la circulation sanguine fœtale (Fredriksen et al., 1999 ; Groom, 2004 ; Anderson et al., 2007 ; Groom et al., 2009).

4.3. Étude de l'association entre la séropositivité au BHV4 et l'avortement chez la vache

L'étude cas témoin a révélé une valeur de l'Odds Ratio égale à 1.11 (0.48-2.54). Cette valeur n'est pas significativement différente de 1 ($p > 0,05$). L'analyse statistique a montré un taux d'exposition presque similaires dans le groupe des vaches ayant avorté (14.8%) et le groupe des vaches n'ayant pas avorté (13.5%). Ainsi, aucun lien significatif entre la séropositivité au

BHV4 et l'avortement chez la vache n'a été relevé. Ce résultat ne va pas dans le même sens que celui rapporté par Czaplicki et collaborateurs (1998) qui ont annoncé une association significative entre la séropositivité au BHV4 et l'avortement. En effet, une séroprévalence de 17,2% a été obtenue chez les vaches ayant avorté contre 10% dans la population témoin de la province de Liège, avec une valeur d'Odds Ratio égale à 1.87 et une fraction attribuable dans la population de 8 %. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues dans ce travail (OR=1.11, PAF=1.46%).

Le rôle abortif du BHV4 chez les bovins est un sujet d'actualité. Cependant, il est très peu documenté par rapport à son implication aux autres pathologies de reproduction. Toutefois, Wellemans et collaborateurs (1989) ont rapporté également 14,1% de séroconversions des vaches vis à vis du BHV4 lors d'avortements. En outre, Deim et ses collaborateurs (2006) observent une destruction des cellules placentaires et une réponse immunitaire qui perturbe le rôle physiologique du placenta sur des échantillons provenant d'avortements bovins et où le BHV4 est isolé. Aussi, récemment, Delooz et collaborateurs (2014) ont démontré la possibilité de l'implication du BHV4 aux avortements dans le sud de la Belgique à travers deux études différentes. La première étude a révélé que 19,5 % de séroconversions des vaches vis à vis du BHV4 lors d'avortements, alors que dans la deuxième, le diagnostic direct de ce virus a été procédé par PCR dans la rate fœtale chez 1.1% des avortons.

Il convient de rappeler que la fraction attribuable dans la population totale (PAFt) est de 51.17%, ce qui signifie qu'approximativement la moitié des cas d'avortement enregistrés dans notre région d'étude sont dus à l'un des 3 agents abortifs étudiés. ce qui constitue un véritable obstacle pour le développement de la production laitière et viandeuse dans notre région. A cet effet, les résultats apportés par notre étude permettent de les considérer parmi les principales causes abortives qu'on devrait systématiquement rechercher ou diagnostiquer à chaque épisode d'avortement.

4.4. Étude de l'association entre la séropositivité vis-à-vis du de la coïnfection double BHV1-BVDV et l'avortement

Une association significative a été mise en évidence également entre le fait d'avoir des vaches séropositives simultanément aux BHV1 et BVDV et le fait d'avorter récemment. L'analyse du tableau montre un taux d'exposition plus élevé dans le groupe des vaches ayant avorté (73.7%) que dans le groupe sans avortement (44.8%), avec une valeur de l'Odds Ratio égale à 3.44 (1.18-10), supérieure à celles obtenues chez les vaches exposées au BHV1 (2.61) et au BVDV

(2.83) séparément. Ceci explique la synergie dans la pathogenèse et dans l'immunosuppression de ces agents infectieux (Srikumaran et al., 2007 ; Nikbakht et al., 2015).

4.5. Étude de l'association entre la séropositivité vis-à-vis de la coïnfection double BHV1-BHV4, BVDV-BHV4, la coïnfection triple BHV1- BVDV-BHV4 et l'avortement de la vache

L'analyse cas-témoin ne montre aucun lien significatif entre le fait d'être exposé aux coïnfections doubles BHV1-BHV4, BVDV-BHV4 ou triple BHV1-BVDV-BHV4 et le fait d'avorter chez les vaches. Ceci peut être expliqué probablement par la faible taille de notre échantillon.

***CONCLUSION,
RECOMMENDATIONS ET
PERSPECTIVES***

VI. Conclusion, Recommandations et Perspectives

À travers cette recherche, l'enquête épidémiologique sur les avortements nous a permis d'estimer la prévalence à l'Ouest et au Nord-Ouest de Sétif qui était de 29.33% au niveau individuel et de 47.5% à l'échelle de l'exploitation. Cette étude nous a également renseigné sur les différents facteurs de risque qui peuvent favoriser l'apparitions des avortements dans la région prospectée telle la commune, la taille du troupeau, la saillie naturelle, la présence de petits ruminants dans la ferme, le non-respect de la mise en quarantaine des bovins nouvellement acquis, le pâturage en commun et les vaches achetées et/ ou importées.

L'enquête sérologique nous a permis de déterminer les taux de séroprévalence vis-à-vis des BHV1, BVDV et du BHV4. À notre connaissance, il s'agit de la première étude réalisée en Algérie élucidant les facteurs de risque associés à la prévalence des anticorps sériques dirigés contre BHV1, BVDV et BHV4, ainsi que leurs associations éventuelles aux avortements bovins.

Cette étude a permis donc de mettre en évidence la présence des anticorps dirigés contre les virus de l'IBR, de la BVD et de l'herpèsvirus bovin de type 4, ce qui témoigne d'une circulation fréquente de ces virus dans les élevages de la région Ouest et Nord-Ouest de la wilaya de Sétif. Les résultats obtenus montrent une séroprévalence globale de 30.43 % pour le BHV1, 29.89 % pour le BVDV et 14.13 % pour le BHV4. Le taux de prévalence des coïnfections par ces différents virus montre une prédominance de la combinaison associant BHV1-BVDV (10.32%), suivie par les associations BHV1-BVDV (3.80 %), BHV1-BVDV-BHV4 (2.71%) et BVDV-BHV4 (2.17%) respectivement.

Ce travail a montré que les facteurs de risque en faveur d'une infection par le BHV1, sont la localisation géographique des vaches (la commune), le mode d'élevage semi-intensif, le pâturage commun des troupeaux, la saillie naturelle, l'élevage mixte avec les petits ruminants, l'origine de l'animal et le statut sanitaire vis-à-vis du BVDV. De plus, cette étude a montré une corrélation positive entre l'infection par le BVDV et l'élevage mixte avec les petits ruminants, la race, ainsi que la séropositivité vis-à-vis du BHV1. En revanche, aucun facteur pouvant influencer la séropositivité vis-à-vis de l'herpèsvirus bovin de type 4 chez le bovin n'a été mis en évidence. Toujours en évoquant les différents facteurs de risque, la saillie naturelle, la présence des petits ruminants, le pâturage partagé avec les animaux des autres fermes et l'achat de nouveaux animaux ont été identifiés comme des facteurs potentiels de risque pour la

coïnfection BHV1-BVDV et le facteur non-respect de la mise en quarantaine des animaux nouvellement acquis pour la coïnfection BHV1-BHV4.

L'étude épidémiologique de type cas-témoin réalisée à l'échelle de l'exploitation n'indique aucune association significative entre le fait d'être exposé aux 3 agents viraux et la présence d'avortements dans la ferme. En revanche, l'analyse au niveau individuel ne met en évidence une association significative qu'avec le BVDV.

L'étude cas-témoin appliquée aux vaches ayant avorté et exposées aux agents viraux abortifs ne montre d'associations significatives qu'avec les vaches séropositives au BHV1 et au BVDV séparément ou simultanément. Aucun lien significatif n'a été retrouvé chez les vaches exposées au BHV4 et aux autres coïnfections existantes.

Cette étude a montré aussi que 51.17% des cas d'avortement enregistrés sont dus à l'un des trois agents infectieux viraux étudiés, ce qui signifie que l'éradication de ces trois infections virales réduira le taux d'avortement de 51.17%. Ainsi, les résultats de notre étude impliquent ces virus et les considèrent comme les principaux agents abortifs dans la région Ouest et Nord-Ouest de Sétif.

Il est connu que ces 3 virus constituent de véritables obstacles pour le développement de la production laitière et viandeuse dans tous les élevages bovins dans le monde.

Au terme de ce travail, il est important de recommander des mesures de lutte appropriées contre ces infections qui consistent à éliminer les maladies et les facteurs de risque favorisant leur dissémination et renforcer les mesures de biosécurité dans les élevages. Ainsi, nous proposons les mesures suivantes :

- Un dépistage très large doit être réalisé sur l'ensemble du territoire national pour évaluer la prévalence réelle de ces infections virales en Algérie et l'abattage des animaux séropositifs pour éradiquer ces infections des troupeaux.
- Le maintien d'un troupeau fermé (la limitation du pâturage commun, empêcher le mélange des bovins de troupeaux différents et les élevages mixtes avec les petits ruminants) par des locaux séparés pour réduire le contact avec les animaux contaminés.
- La restriction du commerce de bovins et la mise en quarantaine des animaux nouvellement achetés pour quelques semaines avant leur introduction au sein du troupeau.

- l'utilisation de l'insémination artificielle pour limiter la transmission vénérienne de ces infections. Toutefois, une attention particulière sera donnée à l'insémination artificielle, car une contamination peut se produire via un sperme contaminé par ces 3 virus. Les taureaux reproducteurs doivent passer des tests de détection du virus et passer une période de quarantaine avant d'intégrer les centres d'insémination artificielle pour éviter la contamination du troupeau. En outre, les tests à intervalles réguliers des taureaux sont conseillés, pour contrôler la séroconversion et la détection du virus dans la semence, dans les centres d'insémination artificielle.

- le respect des mesures d'hygiène strictes du matériel d'injection et d'insémination afin d'éviter les risques liés à la contamination par les produits biologiques (vaccins, médicaments, sperme, embryon, colostrum) ou à la contamination indirecte (équipements, vêtements...).

De ce fait, un programme de vulgarisation des éleveurs aux différents facteurs de risque et aux mesures de préventions est nécessaire.

En ce qui concerne les avortements : tout avortement doit constituer un élément de suspicion des infections étudiées. La déclaration est obligatoire par les vétérinaires praticiens et étatiques. La femelle suspectée doit être isolée et faire l'objet d'un examen sérologique notamment vis-à-vis du BVDV et BHV1 au niveau des laboratoires de l'Institut Nationale de Médecine Vétérinaire comme pour la brucellose.

La détection précoce des agents infectieux abortifs est indispensable pour permettre l'élimination des animaux infectés, mettre en place très vite les mesures prophylactiques efficaces afin d'éviter une flambée d'avortements susceptible d'engendrer de lourdes pertes économiques dans l'élevage.

D'où la nécessité de sensibiliser les éleveurs et les vétérinaires praticiens afin de déclarer les avortements.

Cette étude épidémiologique devrait être généralisée dans tout le territoire national afin de pouvoir renseigner sur l'importance de ces infections et d'implanter un système de surveillance et de contrôle efficace.

Ces résultats méritent d'être consolidés en menant des recherches approfondies sur la caractérisation moléculaire de ces virus à partir d'avortons et de placentas bovins pour confirmer leurs implications dans l'avortement bovin, ainsi que sur l'isolement des souches virales sévissant en Algérie pour le développement de vaccins efficaces, notamment les vaccins marqués ou délétés qui vont permettre de distinguer les animaux vaccinés des animaux infectés lors de l'élaboration d'un programme d'éradication contre ces infections ultérieurement dans notre pays.

Enfin, il est intéressant de compléter ce travail par d'autres investigations visant d'autres maladies abortives chez le bovin.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- **Abdelhadi F.Z., Abdelhadi S.A., Niar A., Benallou B., Meliani S., Smail N.L., Mahmoud D.** Abortions in Cattle on the Level of Tiaret Area (Algeria). *Global Veterinaria.*, 2015, 14 (5), 638-645.
- **Achour H.A., Moussa A.** Serological and virological studies on the infectious bovine rhinotracheitis in Algeria. *J. Vet. Med.* 1996., 43, 251-256.
- **Ackermann M., Müller H.K., Bruckner L., Kihm U.** Eradication of infectious bovine rhinotracheitis in Switzerland: review and prospects. *Veterinary Microbiology.*, 1990, 23, 365–370.
- **Ackermann M.** Pathogenesis of gammaherpesvirus infections. *Veterinary Microbiology.*, 2006, 113, 211-222.
- **Agger F., Paul S.** Increasing prevalence of *Coxiella burnetii* seropositive Danish dairy cattle herds., *Acta Veterinaria Scandinavica.*, 2014, 56, 46.
- **Aguiar D.M., Cavalcante G.T., Rodrigues A.A.R., Labruna M.B., Camargo L.M.A., Camargo E.P., Gennari S.M.** Prevalence of anti*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. *Veterinary Parasitology.*, 2006, 142 (1-2), 71- 77.
- **Al-Haddawi M., Mitchell G.B., Clark M.E., Wood RD., Caswell JL.** Impairment of innate immune responses of airway epithelium by infection with bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Immunology Immunopathology.*, 2007, 116, 153-62.
- **Ali H., Keefe G.P., Cepica A.** Bovine Herpesvirus-4, a potential cause of mastitis in Canadian dairy cows. *British Journal of Dairy Sciences.*, 2011, 2, 31-34.
- **Allan P.J., Dennett D.P., Johnson R.H.** Studies on the effects of infectious bovine rhinotracheitis virus on reproduction in heifers. *Australian Veterinary Journal.*, 1975, 51 (8), 370-373.
- **Allemand, S.** Les herpesvirus bovins encéphalitogène, cas particulier du BHV-5. École nationale vétérinaire de Toulouse : Toulouse . th.Med. vet., 1998, 89.
- **Al-Majali A.M., Talafha A.Q., Ababneh M.M., Ababneh M.M.** Seroprevalence and risk factors for bovine brucellosis in Jordan. *Journal of Veterinary Science.*, 2009, 10(1), 61-5.
- **Alves D., McEwen B., Hazlett M., Maxie G., Anderson N.** Trends in bovine abortions submitted to the Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 1993–1995. *Canadian Veterinary Journal.*, 1996, 37, 287–8.
- **Anderson M., Blanchard P., Barr C., Hoffman R.** A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.*, 1990, 2, 283–7.
- **Anderson M.L.** Infectious causes of bovine abortion during mid-to late-gestation. *Theriogenology.*, 2007, 68, 474-486.
- **Anita D., Anita A., Savuta G.** Prevalence of Antibodies to BVDV and BHV1 in Dairy Herds in Southeastern Region of Romania. *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara.*, 2013, 3, 5-9.
- **Anka M. S., Hassan L., Khairani-Bejo S., Zainal M. A., bin Mohamad R., Salleh A., Adzhar A.** A Case-Control Study of Risk Factors for Bovine Brucellosis Seropositivity in Peninsular Malaysia. *PLoS One.*, 2014, 9(9), e108673.
- **Anziliero D., Santos C.M.B., Brum M.C.S., Weiblen R., Chowdurry., Flores E.F.** A recombinant bovine herpesvirus 5 defective in thymidine kinase and glycoprotein E is immunogenic for calves and confers protection upon homologous challenge and BoHV-1 challenge. *Veterinary Microbiology.*, 2011, 154, 1(2), 14-22.

- **Archambault D., Beliveau C., Couture Y., Carman S.** Clinical response and immunomodulation following experimental challenge of calves with type 2 noncytopathogenic bovine viral diarrhea virus. *Veterinary research.* 2000,31, 215–27.
- **Asano A., Inoshima Y., Murakami K., Iketani Y0, Yamamoto Y., Sentsui H.** Latency and persistence of bovine herpesvirus type 4, strain B11-41, in bovine nervous tissues. *Journal of Veterinary Medicine Sciences.*, 2003, 65, 87-93.
- **Asmare K.** Neospora caninum versus Brucella spp. exposure among dairy cattle in Ethiopia: A case control study. *Tropical Animal Health and Production.*, 2014, 46(6), 961-966.
- **Babiuk L.A., Van Drunen Littel-Van Den Hurk S., Tikoo S. K.**(1996). "Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary Microbiology.*, 1996, 53(1-2),31-42.
- **Bachofen C., Stalder H., Braun U., Hilbe M., Ehrensperger F., Peterhans E.** Co-existence of genetically and antigenically diverse bovine viral diarrhea viruses in an endemic situation. *Veterinary Microbiology.* ,2008,131, 93-102.
- **Baigent S.J., Zhang G., Fray M.D., Flick-Smith H., Goodbourn S., McCauley J.W.** Inhibition of beta interferon transcription by noncytopathogenic bovine viral diarrhea virus is through an interferon regulatory factor 3-dependent mechanism. *Journal of Virology.*, 2002, 76, 8979–8988.
- **Baker J.C.** Bovine viral diarrhea virus: A review. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 1987, 190,1499-1458.
- **Baker J.C.** The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *veterinary clinics of north america food animal practice.*, 1995, 11(3), 425-445.
- **Bandel A.** Point sur la Rhinopneumonie chez le cheval (Thèse de doctorat vétérinaire) . Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes : Nante ., 2007, 103p.
- **Baranowski E., Keil G., Lyaku J., Rijsewijk F.A., van Oirschot J.T., Pastoret P.P., Thiry E.** Structural and functional analysis of bovine herpesvirus 1 minor glycoproteins. *Veterinary Microbiology.*, 1996. 53(1-2), 91-101.
- **Bartha A., Juhasz M., Liebermann H.** Isolation of a bovine herpes virus from calves with respiratory disease and keratoconjunctivitis. A preliminary report. *Acta Vet Acad Sci Hung.*,1966, 16, 357-358.
- **Bauhofer O., Summerfield A., Sakoda Y., Tratschin J.D., Hofmann M.A., Ruggli N.** Classical swine fever virus Npro interacts with interferon regulatory factor 3 and induces its proteasomal degradation .*Journal of Virology.*, 2007, 81, 3087–3096.
- **Beuadeau F., Bellot C., Seegers H., Assiè S., Sellal E., Joly A.** Evaluation of blocking ELISA for the detection of bovine viral diarrhea virus (BVDV) antibodies in serum and milk. *Veterinary microbiology.*,2001, 80, 329-337.
- **Becher P., Orlich M., Kosmidou A., KoÈnig M.,Baroth M., Thiel H.J.** Genetic diversity of pestiviruses : identification of novel groups and implications for classification, *Virology.*,1999,262,64-71.
- **Becher P., Avalos-Ramirez R., Orlich M., Rosales S. C., König M., Baroth M., Schweizer M., Stalder H., Schirrmeier H., Thiel H. J.**Genetic and Antigenic Characterization of Novel Pestivirus Genotypes: Implications for Classification. *Virology.*, 2003, 311(1), 96-104.
- **Becher P., Thiel H.J.** Genus Pestivirus (Flaviviridae). In *The Springer Index of Viruses*, ed. CA Tidona, G Darai,2011, 483–88.
- **Bello L.J., Whitbeck J.C., Lawrence W.C.** bovine herpesvirus 1 as a live vector for expression of foreign genes. *Virology.*, 1992,190,666.
- **Benichou j.** methods of ajustment for estimating the attrubiable risk in case-control studies: a review. *Statics in médecine.* 1991, 10, 1753-1773.

- **Bennett R., Ijpelaar J.** Updated estimates of the costs associated with thirty four endemic livestock diseases in Great Britain: a note. *Journal of Agricultural Economics.*, 2005, 56, 135–144.
- **Berzal-Herranz B., Mainar-Jaime R.C., Arais P., Rojo-Vázquez F.A.** Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Preventive Veterinary Medicine.*, 2001, 52(1): 63-73.
- **Bjorkman C., Alenius S., Manuelsson U., Ugglå A.** Neospora caninum and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. *Veterinary Journal.*, 2000, 159(2), 201-206.
- **Bicknell E.J., Reggiardo C., Noon T.H., Bradley G.A., Lozano-Alarcon F.** Abortion diseases of range cattle. *Animal Care and Health Maintenance*, 1994, 31-35.
- **Bielanski A., Dubuc C., Hare W.C.D., Myers D.J., Eaglesome M.D.** Inactivation of bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in association with preimplantation bovine embryos using photosensitive agents. *Theriogenology.*, 1992, 38, 633-644.
- **Bilge-Dagalp S., Alkan F., Caliskan E., Yildirim Y., Oguzoglu T., Can Sahna K., Burgu I.** The investigation of the herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) on the occurrence of the reproductive disorders in dairy cattle herds, Turkey. *Revue de Médecine Vétérinaire.*, 2012, 163, 206-11.
- **Bilge S.** Detection of antibodies of IBR-IPV infection in blood and milk by serum neutralization test and virus isolation from milk samples in dairy cows. *Vet. Fakultesi Dergisi*, 1998, 45, 313-321.
- **Bilge Dagalp S., Demi A.B., Güngör E., Alkan F.** The seroprevalence of Bovine Herpes Virus Type 4 (BHV4) infection in dairy herds in Turkey and possible interaction with reproductive disorders. *Revue de Médecine Vétérinaire.*, 2007, 158, 4, 201-205.
- **Bitsch V.** The P24-37 modification of the infectious bovine rhinotracheitis virus- serum neutralization test. *Acta Veterinaria Scandinavica.*, 1978, 19, 497-505.
- **Blanc R.** BHV1 et reproduction. *Thèse Médecine Vétérinaire : Alfort*., 2002, 57 p.
- **Boelaert F., Speybroeck N., de Kruif A., Aerts M., Burzykowski T., Molenberghs G., Berkvens D.L.** Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. *Preventive Veterinary Medicine.*, 2000, 69, 285-295.
- **Boelaert F., Speybroeck N., de Kruif A., Aerts M., Burzykowski T., Molenberghs G.** Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity. *Preventive Veterinary Medicine.*, 2005, 69, 285–295.
- **Bolin S.R., McClurkin A.W., Cutlip R.C.** Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with non cytopathic bovine viral diarrhoea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research.*, 1985, 46, 573-576.
- **Bolin S.R., McClurkin A.W., Coria M.F.** Frequency of persistent bovine viral diarrhoea infections in selected herds. *American Journal of Veterinary Research.*, 1985, 46, 2385-2387.
- **Bolin S.R., McClurkin A.W., Cutlip R. C.** Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with non cytopathic bovine viral diarrhoea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research.*, 1985, 46, 573-576.
- **Bolin S.R., Ridpath J.F.** Specificity of neutralizing and precipitating antibodies induced in healthy calves by monovalent modified-live bovine viral diarrhoea virus vaccines. *American Journal of Veterinary Research.*, 1989, 50, 817-821.
- **Bolin S.R.** Control of bovine viral diarrhoea infection by use of vaccination. *Veterinary Clinics North America : Food Animal Practice.*, 1995, 11, 615-625.

- **Bolin S., Godkin A., Anderson N.** Severe acute bovine viral diarrhea in Ontario, 1993-1995. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1998, 10(1), 27-35.
- **Boelaert F.** Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. *Preventive Veterinary Medicine*, 2000, 45, 285-295.
- **Boerner B., Weigelt W., Buhk H.J., Castrucci G., Ludwig H.** A sensitive and specific PCR/Southern blot assay for detection of bovine herpesvirus 4 in calves infected experimentally. *Journal of Virological Methods*, 1999, 83, 169-180.
- **Bona C., Dewals B., Wiggers L., Coudijzer K., Vanderplasschen A., Gillet L.** Pasteurization of milk abolishes bovine herpesvirus 4 infectivity. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88, 3079-83.
- **Boulanger D., Mignon B., Waxweiler S., Karelle-Buithi L., Concar M., Dubuisson J.** Nouveautés sur le pestivirus BVD/MD, et sur l'infection asymptomatique qu'il provoque chez les bovins. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 1990, 134, 137-144.
- **Bradshaw B.J.F., Edwards S.** Antibody isotype responses to experimental Infection with bovine herpesvirus 1 in calves with colostrally derived antibody. *Veterinary Microbiology*, 1996, 53, 143-151.
- **Brock K.V.** Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. *Veterinary Clinics North America*, 1995, 11, 3, 549-561.
- **Brock K. V., Grooms D. L., Ridpath J., Bolin S. R.** Changes in levels of viremia in cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, 1998, 10, 22-26.
- **Brock K. V.** The many faces of bovine viral diarrhea virus. *The veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 2004, 20, 1-3.
- **Brodersen B.W., Kelling C.L.** Alteration of leukocyte populations in calves concurrently infected with bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhea virus. *viral immunology*, 1999, 12, 323-34.
- **Brodersen B.W.** Immunohistochemistry used as a screening method for persistent bovine viral diarrhea virus infection. *The veterinary clinics of north America. Food animal practice*, 2004, 20, 85-93.
- **Brownlie J., Clarke M.C., Howard J.C.** Experimental production of fatal mucoal disease in cattle. *Veterinary Record*, 1984, 114-535.
- **Brownlie J.** Clinical aspects of bovine virus diarrhea virus/ mucosal disease complex in cattle. *In Pract.*, 1985, 7, 195-202.
- **Brownlie J., M. C. Clarke, Howard C.J., Pocock D.H.** Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Annales de recherches vétérinaires*, 1987, 18(2), 157- 166.
- **Brownlie J., Clarke M. C. , Howard C. J.** Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. *Research in Veterinary Science*, 1989, 46, 307-311.
- **Brownlie J.** The pathogenesis of bovine virus diarrhea virus infections. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 1990, 9 (1), 43-59.
- **Bublot M., Van Bresse M.F., Thiry E., Dubuisson J., Pastoret P.P.** Bovine herpesvirus 4 genome : cloning, mapping and strain variation analysis. *Journal of General Virology*, 1990, 71, 133-142.
- **Callan R.J., Metre D.C.** Viral disease of the ruminant nervous system, *Veterinary Clinics of North America: Food Anim. Pract.*, 2004, 20 (2), 327-362.
- **Carbonero A., Saa L. R., Jara D. V., Garcia-Bocanegra I., Arenas A., Borge C., and Perea A.** Seroprevalence and risk factors associated to Bovine herpesvirus 1 (BHV-1) infection in non-

vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. *Preventive Medicine Veterinary.*, 2012, 100, 84–88.

- **Carman, S., van Dreumel ,T., Ridpath J., Hazlett M., Alves A., Dubovi E.,Tremblay R., Cassard H.** Infections croisées à alphaherpesvirus chez les ruminants, application au contrôle de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine. Thèse Médecine Vétérinaire : Toulouse ,2003, 159, 111 p.
- **Carpinschi V., Treilles M., Leboeuf C., Pourquier P.** Comparison of ELISA and IFF methods for the detection of BHV-4 antibodies in Bovine Serum. Poster presented at the WAVLD meeting, Madrid, 2009.
- **Casaro A.P., Kendrick J.W., Kennedy P.C.** Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhea-mucosal disease virus. *American Journal of Veterinary Research.*, 1971, 32, 1543–62.
- **Castrucci G., Frigeri F., Ferrari M., Ranucci S., Aldrovandi V., Cilli V., Rampichini L., Gatti R.** Experimental infection of calves with strains of Bovid herpesvirus-4. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.*, 1987, 10, 41-49.
- **Castrucci G., Frigeri F., Ferrari M., Aldrovandi V., Di Luca D., Gatti R.** Comparative study of two strains of bovid herpesvirus-4. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.*, 1988, 11, 143-151
- **Castrucci G., Ferrari M., Osburn B.I., Frigeri F., Barreca F., Tagliati S., Cuteri V.** A non specific defence inducer in preventing clinical signs of infectious bovine rhinotracheitis in calves. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.*, 1996, 19 (3), 163-169.
- **Castrucci G., Martin W.B., Frigeri F., Ferrari M., Salvatori D., Tagliati S., Cuteri V.** A serological survey of bovine herpesvirus-1 infection in selected dairy in herds in Northern and Central Italy. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases.*, 1997, 20(4), 315-317.
- **Cavirani .S., Cabassi C.S., Donofrio G., De Laco B., Taddei S., Flamini C.F.** Association between Chlamydia pssitaci seropositivity and abortion in Italian dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine.*,2001, 145-151.
- **Cay B., Chappuis G., Coulibaly C., Dinter Z., Edwards S., Greiserwilkei., Gunn M., Have P., Hess G., Juntti N., Liess B., Mateo A.,Mchugh P., Moennig V., Nettleton P., Wensvoort G.** Comparative analysis of monoclonal antibodies against pestiviruses: report of an International workshop. *Veterinary microbiology.*,1989, 20, 123-129.
- **Chand P., Chhabra R.** Herd and individual animal prevalence of bovine brucellosis with associated risk factors on dairy farms in Haryana and Punjab in India. *Tropical Animal Health and Production.*, 2013, 45, 1313–1319.
- **Chappuis G.** Caractéristiques du virus BVD-MD. *Bulletin des GTV.*, 1993, 4, 7.
- **Chase C.C.L., Chase S.K., Fawcett L.** Trends in the BVDV serological response in the upper Midwest. Detecting and controlling BVDV infections, Ames, Iowa, USA,. *Biological.*, 2003, 31:2, 145-151.
- **Chase C.C.L., Elmowalid G., Yousif A.A.A.** The immune response to bovine viral diarrhea virus: a constantly changing picture. *The veterinary clinics of north America. Food animal practice.*, 2004, 20, 95–114.
- **Charleson B., Hope J.C., Carr B.V., Howard C.J.** Masking of two in vitro immunological assays for Mycobacterium bovis (BCG) in calves acutely infected with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Record.*, 2001,149, 481–4.
- **Charleston B., Fray M.D., Baigent S., Carr B.V., Morrison W.I.** Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with a failure to induce type I interferon. *Journal of General Virology.*, 2001, 82, 1893–1897.

- **Chastant S., Maillard R.** BVD et troubles de la reproduction. *POINT VETERINAIRE.*, 1999, 30 (196), 59-66.
- **Chastant-Maillard S.** Impact of bovine herpesvirus 4 (BoHV-4) on reproduction. *Transboundary and Emerging Diseases.* 2015, 62, 45-51.
- **Chaves N.P., Bezerra D.C., de Sousa V.E., Santos H.P., Pereira H.M.** frequência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em bovinos leiteiros não vacinados no estado do maranhão. *Arq. Inst. Biol., São Paulo.*, 2012,79, 495-502.
- **Chen Z., Rijnbrand R., Jangra R.K., Devaraj S.G., Qu L., Ma Y.** Ubiquitination and proteasomal degradation of interferon regulatory factor-3 induced by Npro from a cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Virology* .,2007,366,277e92.
- **Chevanne É.R.C.F.** le bohv-4 chez les bovins et la place de sa recherche dans les protocoles « avortement bovin » en france : enquête auprès des laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires. *École nationale vétérinaire d'Alfort*, 2014, 28.
- **Chow L.T.** Duration of immunity in heifers inoculated with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association.*,1972,160,51-54.
- **Ciacchi-Zanella, J., Stone, M., Henderson, G., Jones, C.** The latency-related gene of bovine herpesvirus 1 inhibits programmed cell death. *Journal of Virology.*, 1999, 73(12), 9734-9740.
- **Clarke W.** L'infection par le virus BVD/MD : Synthèse bibliographique et étude comparative de tests immunoenzymatiques de diagnostic indirect et direct. *Thèse Médecine Vétérinaire.*, Lyon, 1996, n°98, 141p.
- **Claus M.P., Alfieri A.F., Folgueras-Flatschart A.V., Wosiacki S. R., Medici K.C., Alfieri A. A.** Rapid detection and differentiation of bovine herpesvirus 1 and 5 glycoprotein C gene in clinical specimens by multiplex-PCR. *Journal of Virological Methods.*, 2005, 128(1-2), 183-8.
- **Collen T., Morrison W.I.** CD = 4 T-cell responses to bovine viral diarrhoea virus in cattle. *Virus Res.*, 2000, 67, 67–80.
- **Collen T, Carr V, Parsons K, Charleston B, Morrison WI.** Analysis of the repertoire of cattle CD + 4 T cells reactive with bovine diarrhoea virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology.* 2002, 87, 235–8.
- **Collett M.S., Larson R., Belzer S.K., Retzel E.** Proteins encoded by bovine viral diarrhoea virus: the genomic organization of a pestivirus. *Virology.*, 1988,165, 200e8.
- **Corapi W.V., French T.W., Dubovi E.J.** Severe thrombocytopenia in young calves experimentally infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Virology.*, 1989,63,3934e43.
- **Corapi W.V., Elliot R.D., French T.W., Arthur D.G., Bezek D.M., Dubovi E.J.** Thrombocytopenia and hemorrhages in veal calves infected with bovine viral diarrhoea virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*,1990, 196, 590e6.
- **Cortese V.S., Whittaker R., Ellis J., Ridpath J.F., Bolin S.R.** Specificity and duration of neutralizing antibodies induced in healthy cattle after administration of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhoea. *American Journal of Veterinary Research.*, 1998, 59, 848e50.
- **Crane C.S., Lukas G.N., Watkins W.W.** Infectious bovine rhinotracheitis abortion in California beef cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association.*, 1964, 144, 13–18.
- **Cranwell M.P., Jones J.R., Wakeley P.R.** BVD virus type 2 in British cattle. *The veterinary record.*,2005,156,257-258.

- **Czaplicki G., Thiry E.** An association exists between bovine herpesvirus-4 seropositivity and abortion in cows. *Preventive Veterinary Medicine.*, 1998, 33, 235-240.
- **D'arce R.C.F., Almeida R.S., Silva T.C., Franco A.C., Spilki F., Roehe P.M., ARns C.W.** Restriction Endonuclease and Monoclonal antibody analysis of Brazilian isolates of bovine herpesviruses types 1 e 5. *Veterinary Microbiology.*, 2002, 88, 315-324.
- **Dannacher G., Perrin M., Moussa A., Fedida M.** La rhinotrachéite bovine infectieuse. *Rec. Méd. Vét.*, 1985, 161, 1069-1074.
- **Dannacher G., Moussa A.** Pathogénie et formes cliniques de l'infection par le BVD. *Revue de la Médecine Vétérinaire.*, 1986, 137, 5, 359-365.
- **Darbyshire J.H.** A serological relationship between swine fever and mucosal disease of cattle. *The Veterinary Record.*, 1960, 72, 331.
- **Daubney R., Hudson J.R., Anderson T.** Sterility. Preliminary description on a form of sterility in cattle associated with vaginitis in female stock in with chronic changes in the epididymis and in the testicles of bulls. *East African Agricultural Journal.*, 1938, 4, 31-34.
- **Davison A. J., Eberle R., Ehlers B., Hayward G.S., McGeoch D.J., Minson A.C., Pellett P.E., Roizman B., Studdert M.J., Thiry E.** The order herpesviral. *Archive of virology.*, 2009, 154, 171-177.
- **De Wergifosse B., Lemaire M., Pastoret P.P., Thiry E.** etablissement d'un plan volontaire de controle de la rhinotrachiéite infectieuse bovine en région de Wallonie de Belgique. *Annales de Medécine Vetérinaire.*, 1997, 141, 185- 196.
- **Dean H.J., Leyh R.** Cross-protective efficacy of a bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 1 vaccine against BVDV type 2 challenge. *Vaccine.*, 1999, 17, 1117- 1124.
- **Dechicha A., Gharbi S., Kebbal S., Chatagnon G., Tainturier D., Ouzrout R., Guetarni D.** Serological survey of etiological agents associated with abortion in two Algerian dairy cattle breeding farms. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health.*, 2010,2 (1), 001-005.
- **Dehan P., Hamers C., Letellier C., Couvreur B., Kerkhofs P., Pastoret P.P.** Avancées récentes en biologie moléculaire du virus de la diarrhée virale bovine *Annales de Medécine Vetérinaire.*, 2001, 145, 39-46.
- **Deim Z., Szeredi L., Egyed L.** Detection of Bovine herpesvirus 4 DNA in aborted bovine fetuses. *The Canadian Journal of Veterinary Research.*, 2007, 71, 226-229.
- **Deima Z., Szeredia L., Tompo V., Egyed L.** Detection of bovine herpesvirus 4 in aborted bovine placentas. *Microbial Pathogenesis.*, 2006, 41, 144–148.
- **Deka D., Ramneek , Maiti N.K., Oberoi M.S.** Detection of bovine herpesvirus-1 infection in breeding bull semen by virus isolation and polymerase chain reaction. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics).*, 2005, 24(3), 1085-94.
- **Delooz L., Czaplicki G., Houtain J.Y., Mullender C., Saegerman C.** Implication du BoHV-4 comme agent étiologique d'avortements chez les bovins. *Symposium AESA – 30 Novembre 2012 – Liège, Belgique.*
- **Deng R., Brock K.V.** 5' and 3' untranslated regions of pestivirus genome: Primary and secondary structures analyses. *Nucleic Acid Research.*, 1993, 21, 1949-1957.
- **Denis M., Hanon E., Rijsewijk F.A.M., Kaashoek M.J., Van Oirschot J.T., Thiry E.** The role of glycoproteins gC, gE, gI and gG in the induction cell-mediated immune response to bovine herpesvirus 1. *Veterinary Microbiology.*, 1996, 53, 121-132.
- **Denis M., Splitter G., Thiry E., Pastoret P.P., Babiuk L.A.** Infectious bovine rhinotracheitis (Bovine Herpesvirus 1) : Helper T Cells, Cytotoxic T Cells and NK Cells. In : *GODDEERIS BM, MORRISON WI. Cell-mediated immunity in ruminants. London, Tokyo, CRC Press, 1994, 157-172.*

- **Denis M., Thiry E., Pastoret P.P.** La réponse immune des bovins envers le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. In : NAVETAT H, ESPINASSE J. Les infections à herpesvirus chez les bovins – Journée SFB et GRDEPV, Veyrier-du-Lac, 3 novembre 1994, Société Française de Buiatrie, Toulouse, 20-24.
- **Denis M., Hanon E., Rijsewijk F.A.M., Kaashoek M.J., van Oirschot J.T., Thiry E., Pastoret P.P.** The role of glycoproteins gC, gE, gI and gG in the induction of cell-mediated immune responses to bovine herpesvirus 1. *Veterinary Microbiology*, 1996, 53, 121-132.
- **Deregt D., Bolin S.R., Van Den Hurk J., Ridpath J.F., Gilbert S.A.** Mapping of a type 1-specific and a type-common epitope on the E2 (gp53) protein of bovine viral diarrhea virus with neutralization escape mutants. *Virus Research*, 1998, 53, 81-90.
- **Deregt D., Loewen K.G.** Bovine viral diarrhea virus: biotypes and disease. *Can. Vet. J.*, 1995, 36, 371-378.
- **Deregt D.** Introduction and history. In: Goyal SM, Ridpath JF, editors. *Bovine viral diarrhea virus: diagnosis, management and control*. Ames, IA: Blackwell Publishing; 2005. p. 3-34.
- **Dewals B., Thirion M., Markine-Goriaynoff N., Guillet L., de Fays K., Minner F., Daix V., Sharp P., Vanderplasschen A.** Evolution of bovine herpesvirus 4: recombination and transmission between African buffalo and cattle. *Journal of General Virology*, 2006, 87, 09-19.
- **Dias J.A., Alfieri A.A., Ferreira-Neto J.S., Gonçalves V.S., Muller E.E.** Seroprevalence and risk factors of bovine herpesvirus 1 infection in cattle herds in the state of Paraná, Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2013, 60, 39-47.
- **D'offray J.M., Mock R.E., Fulton R.W.** Isolation and characterization of encephalitic bovine herpesvirus type 1 isolates from cattle in North America. *American Journal of Veterinary Research*. 1993, 54, 534-539.
- **Done J.T., Terlecki S., Richardson C., Harkness J.W., Sands J.J., Patterson D.S., Sweasey D., Shaw I.G., Winkler C.E., Duffell S.J.** Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus : pathogenicity of the foetal calf following maternal infection. *Veterinary Record*, 1980, 106, 473-479.
- **Donis R.O., Dubovi E.J.** Characterization of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus-specific proteins in bovine cells. *Journal of General Virology*, 1987, 1597, 605.
- **Donis R.O.** Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interactions with the host. *Veterinary Clinics of North America, Food animal Practice*, 1995, 11, 393-423.
- **Donofrio G., Flammini C., Scatozza F., Cavarani S.** Detection of bovine herpesvirus 4 (BoHV-4) DNA in the cell fraction of milk of dairy cattle with history of BoHV-4 infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, 38, 68-71.
- **Donofrio G., Cavarani S., Van Santen V., Flammini C.** Potential secondary pathogenic role for bovine herpesvirus 4. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, 43, 3421.
- **Donofrio G., Colleoni S., Galli C., Lazzari G., Cavarani S., Flammini C.F.** Susceptibility of bovine mesenchymal stem cells to bovine herpesvirus 4. *Journal of Veterinary Methods*, 2005, 127, 168-170.
- **Donofrio G., Franceschi V., Capocefalo A., Taddei S., Sartori C., Bonomini S., Cavarani S., Cabassi C., Flammini C.** Cellular targeting of engineered heterologous antigens is a determinant factor for bovine herpesvirus 4-based vaccine vector development. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2009, 16, 75-86.
- **Douart A., Simon A.** Diagnostic et contrôle de l'infection par le BVDV. *POINT VETERINAIRE*, 1997, 28 (187), 1985-1993.
- **Douart A., Simon A.** Diagnostic et contrôle de l'infection par le BVDV. *POINT VETERINAIRE*, 1997, 28 (187), 1985-1993.

- **Douart A.** Infection des bovins par le virus BVD : données virologiques et cliniques. Bulletin des GTV., 2000, 6, 29-34.
- **Dove A.D.D., Condit R., Spindler K.** This Week In Virology. [en ligne], Adresse URL : <http://www.twiv.tv/virus-structure/>, consulté le 26/ 06/ 2015.
- **Drake J.W. Holland J.J.** Mutations rates among RNA viruses. Proceedings of the National Academy of Sciences., 1999, 96, 13910-13913.
- **Drew T.W., Sandvik T., Wakeley P., Jones T., Howard P.** BVD virus genotype 2 detected in British cattle. The veterinary record., 2002,151,551.
- **Dubovi E.J.** The diagnosis of Bovine Viral Diarrhoea infection: a laboratory view. Veterinary Medicine., 1990, 1133-1139.
- **DSA** direction des services agricoles de la willaya de Sétif, 2015.
- **Dubovi E.J.** Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus. Biologicals., 2013,41, 8e13.
- **Dubuisson J., Thiry E., Bublot M., Pastoret P.P.** Intervention du complément dans la neutralisation du Bovid herpesvirus 4. Annale de Médecien Vétérinaire, 1987, 131, 69-73.
- **Dubuisson J., Boulanger D., Bublot M., Thiry E., Pastoret P.P.** (a). Proteins specified by bovine herpesvirus type 4 : structural proteins of the virion and identification of two major glycoproteins by using monoclonal antibodies. Journal of General Virology., 1989, 70, 1743-1753.
- **Dubuisson J., Guillaume J0, Boulanger D., Thiry E., Bublot M., Pastoret P.** Neutralization of bovine herpesvirus type 4 by pairs of monoclonal antibodies raised against two glycoproteins and identification of antigenic determinants involved in neutralization. Journal of General Virology., 1990, 71, 647-653.
- **Dufour B., Repiquet A.** Place des études économiques dans les décisions de santé animale : exemple de rapport coût/ bénéfice de l'éradication de la diarrhée virale bovine en France. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)., 1999,18 (2), 520-532.
- **Durham P.J.K, Hassard L.E.** Prevalence of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3, bovine respiratory syncytial, and bovine viral diarrhea viruses in cattle in Saskatchewan and Alberta. Canada Veterinary Journal.,1990, 31, 815-820.
- **Ealy A.D., Yang Q.E.** Control of interferon-tau expression during early pregnancy in ruminants. American Journal Of Reproductive Immunology 2009, 61:95–106.
- **Edwards S., Newman R.H.** Detection of antibodies to bovid herpesvirus 4 by ELISA. Veterinay Microbiology.,1985, 10, 149-154.
- **Edwards S., Wood L., Brockman S., Ibata G.** Clinical and virological observations of a mucosal disease outbreak with persistently-infected seropositive survivors. Archives of Virology. Supplementa., 1998, 3, 125-132.
- **Egyed L., Ballagi-Pordany A., Bartha A., Belak S.** Studies of in vivo distribution of bovine herpesvirus type 4 in the natural host. Journal of Clinical Microbiology., 1996, 34,1091-1095.
- **Egyed L., Kluge J., Bartha A.** Histological studies of bovine herpesvirus type 4 infection in non-ruminant species. Veterinary Microbiology., 1997, 51, 283-289.
- **Egyed L., Bartha A.** PCR studies on the potential sites for latency of BHV-4 in calves. Veterinary Research Communications ., 1998, 22, 209-216.
- **Egyed L., Berencsi G., Bartha A.** Periodic reappearance of bovine herpesvirus type 4 DNA in the sera of naturally and experimentally infected rabbits and calves. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases., 1999, 22, 199- 206.
- **Egyed L.** Bovine herpesvirus type 4: a special herpesvirus (review article); Acta Veterinaria. Hungaricae., 2000, 48 (4), 501-513.

- **Egyed L., Sassi G., Tibold J., Mádl I., Szenci O.** Symptomless intrauterine transmission of bovine herpesvirus 4 to bovine fetuses. *Microbial Pathogenesis.*, 2011, 50, 322-325.
- **Elbers K., Tautz N., Becher P., Stoll D., Rumenapf T., Thiel H.J.** Processing in the pestivirus E2-NS2 region: identification of proteins p7 and E2p7. *Journal of virology.*, 1996,p 4131-4135.
- **Elhassan A.M., Fadol M.A., El-Hussein A.M.** Seroprevalence of bovine herpes virus-1, bovine herpes virus-4 and bovine viral diarrhea virus in dairy cattle in Sudan. *Pak. Veterinary Journal.*, 2011, 31, 317-320.
- **Ellis J.A., Davis W.C., Belden E.L., Pratt D.L.** Flow cytofluorimetric analysis of lymphocyte subset alterations in cattle infected with bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Pathology.*, 1988, 25,231-6.
- **Ellis J., West K., Cortese V. Konoby C., Weigel D.** Effect of maternal antibodies on induction and persistence of vaccine-induced immune responses against bovine viral diarrhea virus type II in young calves. *Journal of American Veterinary Medical Association.*, 2001, 219, 351–6.
- **Endsley J.J., Ridpath J.F., Neill J.D., Sandbulte M.R., Roth JA.** Induction of T lymphocytes specific for bovine viral diarrhea virus in calves with maternal antibody. *Viral Immunology.*, 2004,17,13e23.
- **Engels M., Steck F., Wyler R.** Comparaison of the genomes of infectious rhinotracheitis pu bovine and infectious pustular vulvovaginitis virus strains by restriction endonuclease analysis. *Archives of Virology.*, 1981, 67, 169-174.
- **Engels M., Ackermann M.** Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Veterinary Microbiology.*, 1996, 53, 3-15.
- **Entrican G., Dand A., Nettleton P. F.**A double monoclonal-antibody ELISA for detecting pestivirus antigen in the blood of viraemic cattle and sheep. *Veterinary Microbiology.*,1994, 43, 65-74.
- **Ernesto R.K., Tania R.P., Daura R.E., Stoffelo P.M., Roehe M.C.R., Vanete T.S.** Bovine Herpesvirus 4 in Parana State, Brazil: case report, viral isolation, and molecular identification. *Brazilian Journal of Microbiology.*, 2015, 1678-4405.
- **Ernst P.B.** bovine viral diarrhea- an update. *Compend. Cont. Ed.*, 5,1983, S581-S598.
- **Eskra L, Splitter GA.** Bovine herpesvirus-1 infects activated CD4+ lymphocytes. *Journal of General Virology.*, 1997, 78, 2159-2166.
- **Essmail M., Baker D., Collins J., Vandewoude S., Salman M., Hegazy A.A.** Dot Immunobinding assay for detection of bovine herpesvirus 4 antibodies in rabbits. *Journal of Veterinary Diagnosctic Investigation.*, 1999, 11, 237-239.
- **Esteves P.A., Spilki F.R., Franco A.C., Silva T. C., Oliveira E. A., Moojen V., Esmeraldino, A. M., Roehe, P. M.** Bovine herpesvirus type 5 in the semen of a bull not exhibiting clinical signs. *Veterinary Records.*, 2003, 152(21), 658-9.
- **Eyanga E., Jetteur P., Thiry E., Wellemans G., Dubuisson J., Van Opdenbosch E.** Recherche des anticorps dirigés contre les BHV-1, BHV-2, BHV-4, le virus BVD-MD, les adénovirus A et B, le rotavirus et le coronavirus bovins chez les bovins de l'Ouest du Zaïre : résultats complémentaires. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux.*, 1989, 42, 155-161.
- **Fabian K., Egyed L.** Detection of bovine gammaherpesviruses by a nested duplex PCR. *Journal of Virological Methods.*, 2004, 115, 93-98
- **Fabian K.L., Makrai K., Sachse L., Szeredi L., Egyed.** An investigation of the aetiological role of bovine herpesvirus 4 in bovine endometritis. *Veterinary Journal.*, 2008, 177, 289 292.
- **Fernandes L.G., Nogueira A.H.C., De Stefano E., Pituco E.M. Ribeiro C.P., Alves C.J., Oliveira T.S., Clementino I.J., de Azevedo S.S.** Herd-level prevalence and risk factors for

bovine viral diarrhea virus infection in cattle in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. *Tropical Animal Health and production.*, 2016, 48(1),157-65.

- **Fetzer C., Tews B.A., Meyers G.** The carboxy-terminal sequence of the pestivirus glycoprotein E(rns) represents an unusual type of membrane anchor. *Journal of Virology* ,2005, 79, 11901e13.
- **Figlerowicz M., Alejska M., Kurzyńska-Kokorniak A.** Genetic variability: the key problem in the prevention and therapy of RNA-based virus infections. *Medicinal Research Reviews.*, 2003, **23** (4) ,488-518.
- **Figueredo G.M.** Serological survey of bovine infectious causes of reproductive disorders in Colombia. PhD Animal Health. Parme, 2009-2011.
- **Finlay B.B., McFadden G.** Anti-immunology: evasion of the host immune system by bacterial and viral pathogens. *Cellule.*, 2006,124, 767–782.
- **Flint S.J., Racaniello V.R., Enquist L.W., Skalkaa M., Krug R.M.** Principle of Virology : molecular biology, pathogenesis, and control. American Society for Microbiology : Washington, D. C., 2000b, 804.
- **Flores, E.F.** Vírus da diarréia viral bovina (BVDV). *Biológico, São Paulo.*, 2003, 65, 3-9.
- **Franco A.C., Roehe P.M.** Herpesviridae, in: Flores, E.F., *Virologia Veterinária*, Santa Maria-RS, Ed. Da UFSM., 2007,17, 433-488.
- **Frazier K.M., Pence M.J., Mauel A., Liggett M.E., Hines L. Sangster H.D. Lehmkuhl, D., Miller E., Styer J., West C.A., Baldwin.** Endometritis in postparturient cattle associated with bovine herpesvirus-4 infection: 15 cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation .*, 2001. 13, 502–508.
- **Frazier K., Baldwin C.A., Pence M., West J., Bernard J., Liggett A., Miller D., Hines M.E.** Seroprevalence and comparison of isolates of endometriotropic Bovine Herpesvirus-4 *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.*, 2002, 14, 457–462.
- **Fray M.D., Paton D.J., Alenius S.** The effects of bovine viral diarrhea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Animal Reproduction Science.*,2000, 60- 61,615e27.
- **Fredriksen B., Odegaard S.A., Løken T.** The effect of bovine virus diarrhoea virus on reproduction in recently infected Norwegian dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica.*, 1998, 39, 99–108.
- **Frolich K., Jung S., Ludwig A., Lieckfeldt D., Gibert P., Gauthier D. Hars, J.** Detection of a newly described pestivirus of Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) in France. *Journal of Wildlife Diseases.*, 2005, 41, 606-610.
- **Frossling J., Ugglä A.** Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. *Veterinary Parasitology.*, 2005, **128**(3-4), 209-218.
- **Fuchs M., Hübert P., Detterer J., Rziha H.J.** Detection of bovine herpesvirus type 1 in blood from naturally infected cattle by using a sensitive PCR that discriminates between wild-type virus and virus lacking glycoprotein E, *Journal of Clinical Microbiology.*, 1999, 37, 2498–2507.
- **Fulton R.W., Briggs R.E., Payton M.E., Confer A.W., Saliki J.T, Ridpath J.F.** Maternally derived immunity to bovine viral diarrhea virus (BVDV) 1a, BVDV1b, BVDV2, bovine herpesvirus-1, parainfluenza-3 virus, bovine respiratory syncytial virus, Mannheimia haemolytica and Pasteurella multocida in beef calves: antibody decline by half-life studies and effect on response to vaccination. *Vaccine.*,2004,22,644e50.
- **Fulton R.W.** Viral diseases of the bovine respiratory tract: bovine herpesvirus-1, parainfluenza-3 virus, bovine respiratory syncytial virus, bovine adenoviruses, bovine coronavirus, and bovine viral diarrhea virus. In: Anderson DE, Rings DM, editors. *Current veterinary therapy-food animal practice*. Saunders Elsevier., 2008., , vol 5,p. 171e91.
- **Fulton R.W.** Host response to bovine viral diarrhea virus and interactions with infectious agents in the feedlot and breeding herd. *Biologicals.*, 2013, 41, 31e38.

- **Fux, R., Wolf, G.** Transient elimination of circulating bovine viral diarrhea virus by colostral antibodies in persistently infected calves: a pitfall for BVDV-eradication programs?. *Veterinary Microbiology*, 2012, 161, 13–19.
- **Ganée A., Poyet-Gelas F., Grosz S., Mabilat C.** Nucleic acid sequence-based amplification to detect bovine viral diarrhea virus on individual and pooled plasma, sera and ear notch samples. *Revue de la Médecine Vétérinaire*, 2011, **162**, 5, 252-257.
- **Garcia-Vazquez Z., Rosario-Cruz R., Ramos-Aragon A., Cruz-Vazquez C., Mapes-Sanchez G.** Neospora caninum seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 2005, 134, 61–65.
- **Gardeux F.** Recherche du virus BHV1 dans les ganglions trijumeaux des bovins dans le cadre de la gestion nationale de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR). Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Faculté de Médecine de Toulouse, 2007.
- **Gardiner A.C., Barlow R.M., Rennie J.C., Keir W.A.** Experiments in Border disease. 5 preliminary investigations on the nature of the agent. *Journal of Comparative Pathology*, 1972, **82**, 159-161.
- **Garoussi M.T., Mehrzad J.** Effect of bovine viral diarrhoea virus biotypes on adherence of sperm to oocytes during in-vitro fertilization in cattle. *Theriogenology*, 2011, **75**, 1067–1075.
- **Geiser V., Inman M., Zhang Y., Jones C.** The latency-related gene of bovine herpesvirus-1 can inhibit the ability of bICP0 to activate productive infection. *Journal of General Virology*, 2002, **83**, 2965-2971.
- **Geresu M.A., Ameni G., Kassa T., Tuli G., Arenas A., Kassa G.M.** Seropositivity and risk factors for Brucella in dairy cows in Asella and Bishoftu towns, Oromia Regional State, Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research*, 2016, **10**(7), 203-213.
- **Ghaemmaghami S., Ahmadi M., Deniko A., Mokhberosafa L., Bakhshesh M.** Serological study of BVDV and BHV-1 infections in industrial dairy herds of Arak, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 2013, **5**(2), 53-61.
- **Ghalimi F., China B., Ghalimi A., Hammitouche D., Losson B.** Study of the risk factors associated with Neospora caninum seroprevalence in Algerian cattle populations. *Research in Veterinary science*, 2012, **93**, 655-661.
- **Giangaspero M., Harasawa R.** Genetic Variety of Bovine viral diarrhea virus 2 Strains Isolated from sheep. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2004, **66** (3), 323-326.
- **Giangaspero M., Harasawa R., Weber L., Belloli A.** Genoepidemiological evaluation of Bovine viral diarrhea virus 2 species based on secondary structure in the 5' untranslated region. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2008, **70** (6) : 571-580.
- **Gillepsie J.H., Coggins L., Thompson J.** Comparison by neutralisation tests of strains of virus isolated from virus diarrhea and mucosal disease. *Cornell Veterinarian Journal*, 1961, **51**, 155.
- **Gillet L., Minner F., Detry B., Farnir F., Willems L., Lambot M.** Investigation of the susceptibility of human cell lines to bovine herpesvirus 4 infection: demonstration that human cells can support a nonpermissive persistent infection which protects them against tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis. *Journal of Virology*, 2004, **78**, 2336-2347.
- **Givens M.D.** Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants. *Journal of veterinary internal medicine/American College of veterinary internal medicine*, 2010, **24**, 476-486.
- **Givens M.D., Marley M.S.D.** Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology*, 2008, **70**, 270-285.
- **Glew E.J., Carr B.V., Brackenbury L.S., Hope J.C., Charleston B., Howard C.J.** Differential effects of bovine viral diarrhoea virus on monocytes and dendritic cells. *Journal of General Virology*, 2003, **84**(7), 1771–80.

- **Godfroid J., Czaplicki G., Kerkhofs P., Weynants V., Wellemans G., Thiry E., Letesson J.J.** Assessment of the cell-mediated immunity in cattle infection after bovine herpesvirus 4 infection, using an in vitro antigen-specific interferon-gamma assay. *Veterinary Microbiology.*, 1996, 53, 133-141.
- **Godin A.C., Björkman C., Englund S., Johansson K., Niskanen R., Alenius S.** Investigation of *Chlamydophila* spp. in dairy cows with reproductive disorders. *Acta Veterinaria Scandinavica.*, 2008, 50, 39.
- **Goetgheluck V.**, Bilan comparatif des plans de lutte contre le syndrome de la BVD/MD dans les troupeaux bovins en France et en Europe. Thèse Méd. Vét., Nantes, 2002, n°29, 87p.
- **Gogorza L.M., Moran P.E., Larghi J.L., Segui R., Lissarrague C., Saracco M., Braun M., Esteban E.N.** Detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in seropositive cattle. *Preventive Veterinary Medicine.*, 2005, 72, 49–54.
- **Gonzalez-Garcia M.A., Arenas-Casas A., Carbonero-Martinez A., Borge Rodriguez C., Garcia-Bocanegra I., Maldonado J.L., Gomez-Pacheco J.M., Perea-Remujo J.A.** Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus type 1 (BHV1) infection in nonvaccinated cattle herds in Andalusia (South of Spain). *Spanish Journal of Agricultural Research .*, 2009, 3, 550-554.
- **Goyal S., Ridpath J.F.** Bovine Viral Diarrhoea Virus Diagnosis, management and control. Ames, Blackwell Publishing., 2005, 261 pages.
- **Graham D.A., McNeill GJ., Calvert V., Mawhinney K., Curran W., Ball N.W., Todd D.** Virological and serological evidence of bovine herpesvirus 4 in cattle in Northern Ireland. *Journal of the British Veterinary Association.*, 2005, 157, 539-543.
- **Graham D., Clegg T.A., Lynch M., More S.J.** Herd-level factors associated with the presence of bovine viral diarrhoea virus in herds participating in the voluntary phase of the Irish national eradication programme. *Preventive Veterinary Medicine.*, 2013, 112, 99–108.
- **Granzow H., Weiland F., Jons A., Klupp B.G., Karger A., Mettenleiter T.C.** Ultrastructural analysis of the replication cycle of pseudorabies virus in cell culture : a reassessment. *Journal of Virology.*, 1997, 71, 2072-2082.
- **Grassmann C.W., Isken O., Behrens S.E.** Assignment of the multifunctional NS3 protein of bovine viral diarrhoea virus during RNA replication: an in vivo and in vitro study. *Journal of Virology.*, 1999, 73, 9196-9205.
- **Grassmann C.W., Isken O., Tautz N., and Behrens S.E.** Genetic Analysis of the Pestivirus Nonstructural Coding Region: Defects in the NS5A Unit Can Be Complemented in trans, *Journal of Virology.*, 2001, 75(17), 7791–7802.
- **Greig A.S., Bannister G.L., Mitchell D. Barker C.A.V.** Cultivation in tissue culture of an infectious agent from coital exanthema of cattle. A preliminary report. *Canadian journal of comparative medicine and veterinary science.*, 1958, 12, 119-122.
- **Griffin S.D., Harvey R., Clarke D.S., Barclay W.S., Harris M. Rowlands D.J.** A conserved basic loop in hepatitis C virus p7 protein is required for amantadine-sensitive ion channel activity in mammalian cells but is dispensable for localization to mitochondria. *Journal of General Virology.*, 2004, 85, 451-461.
- **Grooms D.L.** Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.*, 2004, 20, 5-20.
- **Grooms D.L., Baker J.C., Ames T.R.** Diseases caused by Bovine Virus Diarrhoea Virus. In : SMITH B.P. Large animal internal medicine, 4th edition, Mosby, 2009, 791-798.

- **Gu B., Liu C., Lin-Goerke J., Maley D.R., Gutshall L.L., Feltenberger C.A.** The RNA helicase and nucleotide triphosphatase activities of the bovine viral diarrhea virus NS3 protein are essential for viral replication. *Journal of Virology.*, 2000, 74, 1794-800.
- **Guarino, H., Nunez A., Repiso M.V., Gil A., Dargatz D.A.** Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhea virus in beef cattle in Uruguay. *Preventive Veterinary Medicine.*, 2008, 85(1-2), 34-40.
- **Guerin D.** L'assainissement anti-IBR des estives. *Bulletin des GTV.*, 2000, 6, 65-68.
- **Gunn h.** Role of fomites and flies in the transmission of viral diarrhea virus, *Veterinary Record.*, 1993, 132, 584-585.
- **Guo W.Z., Shen D.T., Evermann J.F., Gorham J.R.** Comparison of an enzyme linked immunosorbent assay and a complement fixation test for the detection of IgG to bovine herpesvirus type 4 (bovine cytomegalovirus). *American Journal of Veterinary Research.*, 1988, 49, 667-670.
- **Guo K.K., Tang Q.H., Zhang Y.M., Kang K., He L.** Identification of two internal signal peptide sequences: critical for classical swine fever virus nonstructural protein 2 to trans-localize to the endoplasmic reticulum. *Journal of Virology.*, 2011, 8:236.
- **Gür S.** Prevalence of bovine viral diarrhoea, bovine herpesvirus type 1 and 4 infections in repeat breeding cows in Western Turkey. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* ., São Paulo., 2011, 48, 228-233.
- **Guy J.S., Potgielter L.N.** Bovine herpesvirus-1 infection of cattle: kinetics of antibody formation after intranasal exposure and abortion induced by the virus. *American Journal of veterinary Research.*, 1985, 46, 893-898.
- **Guy J.S., Potgieter L.** Kinetics of antibody formation after the reactivation of bovine herpesvirus-1 infection in cattle. *American Journal of veterinary Research.*, 1985, 56, 179-192.
- **Hamers C., Dehan P., Couvreur B., Letellier C., Kerkhofs P., Pastoret P.** Diversity among bovine pestiviruses, *The Veterinary journal.*, 2001, 161, 112-122.
- **Harpin, S., Elahi S. M., Cornaglia E., Yolken R. H., Elazhary Y.** The 5' untranslated region sequence of a potential new **genotype** of bovine viral diarrhea virus. *Archives of Virology.*, 1995, 40, 1 285-1 290.
- **Hauray K.** avortements d'origine alimentaire chez les bovins. *Ecole nationale vétérinaire de Lyon*, thèse, 2000, 98.
- **Hausmann Y., Roman-Sosa G., Thiel H.J., Rumenapf T.** Classical swine fever virus glycoprotein Erns is an endoribonuclease with an unusual base specificity. *Journal of Virology.*, 2004, 78, 5507-5512.
- **Heinlein A.S., Metzler A.E., Weiblen R., Berrios P., Schudel A.A., Rodriguez M.** Molecular characterization of South American Bovine herpesvirus-1 isolates with monoclonal antibodies and SDS-PAGE. *Zentralbl Veterinarmed B.*, 1993, 40, 125-130.
- **Henderson G., Zhang Y., Inman M., Jones D., Jones C.** Infected cell protein 0 encoded by bovine herpesvirus 1 can activate caspase 3 when overexpressed in transfected cells. *Journal of General Virology.*, 2004, 85, 3511-3516.
- **Hewicker-Trautwein M., Liess B., Trautwein G.** Brain lesions in calves following transplacental infection with bovine-virus diarrhoea virus. *Journal of Veterinary Medicine.*, 1995, B 42:65-77.
- **Hietala P.H.D, Claudia A., Muñoz-Zanzi D.V.M, Sharon K., Mark C., Thurmond, Wesley O., Johnson .** Quantification, risk factors, and health impact of natural congenital infection with bovine viral diarrhea virus in dairy calves. *American Journal of Veterinary Research.*, 2003, 64(3): 358-365.

- **Hilton L., Moganeradj K., Zhang G., Chen Y.H., Randall R.E., McCauley J.W., Goodbourn, S.** The NPro product of bovine viral diarrhea virus inhibits DNA binding by interferon regulatory factor 3 and targets it for proteasomal degradation. *Journal of Virology*, 2006, 80, 11723–11732.
- **Holler L.D.** Ruminant abortion diagnostics. *Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice*, 2012, **28**, 407-418.
- **Homan E.J., Easterday B.C.** Isolation of bovine herpesvirus 1 from trigeminal ganglia of clinically normal cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 1980, 41, 1212– 1213.
- **Houe H.** Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics North America : Food Animal Practice*, 1995, 11, 521–47.
- **Houe H.** Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Veterinary Microbiology*, 1999, 64, 89-107.
- **Houe H., Baker J.C., Maes R.K., Lloyd J.W., Enevoldsen C.** Comparison of the prevalence and incidence of infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in Denmark and Michigan and association with possible risk factors. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1995, 36, 521-531.
- **Houe H., Lindberg A.** Test strategies in bovine viral diarrhea virus control and eradication campaigns in Europe. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2006, 18(5), 427-436.
- **Hovingh E.** Abortions in Dairy Cattle - I Common Causes of Abortions, Cooperative Extension Virginia, 2009, 404-288.
- **Howard C.J., Clarke M.C., Sopp P., Brownlie J.** Immunity to bovine virus diarrhea virus in calves: the role of different T-cell subpopulations analysed by specific depletion in vivo with monoclonal antibodies. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 1992, 32, 303e14.
- **Huemer H.P., Larcher C., Van Drunen Little-Van Der Hurk S., Babiuk L.A.** Species selective interaction of Alphaherpesvirinae with the “unspecific” immune system of the host. *Archives of Virology*, 1993, 130, 353-364.
- **Hurtado A., Garcia-Pérez A.L., Aduriz G., Juste R.A.** Genetic diversity of ruminant pestiviruses from Spain. *Veterinary Research*, 2003, 92, 67-73.
- **Hutchings D.L., Van Drunen LITTLE-Van Der Hurk S., Babiuk L.A.** Lymphocyte proliferative responses to separated bovine herpesvirus 1 proteins in immune cattle. *Journal of Virology*, 1990, 64, 5114-5122.
- **Inman M., Lovato L., Doster A., Jones C.** A mutation in the latency-related gene of bovine herpesvirus 1 leads to impaired ocular shedding in acutely infected calves. *Journal of Virology*, 2001, 75, 8507-8515.
- **Isken O., Grassmann C.W., Yu H., Behrens S.E.** Complex signals in the genomic 3' nontranslated region of bovine viral diarrhea virus coordinate translation and replication of the viral RNA. *Rna*, 2004, 10, 1637e52.
- **Izumi Y., TSuduku S., Murakami K., Tsuboi T., Konishi M., Haritani M.** Characterization of Bovine Herpesvirus type 4 isolated from cattle with mastitis and subclinical infection by the virus among cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2006, 68, 189-193.
- **Janeway C.A., Medzhitov R.** Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology*, 2002, 20, 197e216.
- **Jeffrey M., Wells G.A.H., Bridges A.W., Sands J.J.** Immunocytochemical localization of border disease virus in the spinal cord of foetal and newborn lambs. *Neuropathology And Applied Neurobiology*, 1990, 16, 501-510.
- **Jiang Y., Hossain A., Winkler M.T., Holt T., Doster A., Jones C.** A protein encoded by the Latency-Related gene of Bovine Herpesvirus 1 is expressed in trigeminal ganglionic neurons of

latently infected cattle and interacts with cyclin-dependent kinase 2 during productive infection. *Journal of Virology*, 1998, **72** (10), 8133–8142.

- **Jones C.** Herpes simplex virus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. *Clinical Microbiology Review.*, 2003, **16**, 79-95.
- **Jones C., Geiser V., Henderson G., Jiang Y., Meyer F., Perez S., Zhang Y.** Functional analysis of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) genes expressed during latency. *Veterinary Microbiology.*, 2006, **113**(3-4).
- **Kaashoek M.J., Straver P.H., Quak J., van Oirschot J.T.** Virulence, immunogenicity and reactivation of seven bovine herpesvirus 1.1 strains: clinical and virological aspects. *Veterinary Record*, 1996, v. **139**, p. 416-421.
- **Kaashoek M.J., Rijsewijk F.A., Van Oirschot J.T.** Persistence of antibodies against bovine herpesvirus 1 and virus reactivation two to three years after infection. *Veterinary Microbiology.*, 1996, **53** (1-2), 103-110.
- **Kaashoek M.J., Riksewijk F., Ruuls R.C., Keil G.M., Thiry E., Pastoret P.P.** Virulence, immunogenicity and reactivation of bovine herpesvirus 1 mutants with a deletion in the gC, gG, gI, gE, or in both the gI and gE gene. *Vaccine.*, 1998, **16**, 802-809.
- **Kampa J., Ståhl K., Moreno-López J., Chanlun A., Aiumlamai S., Alenius S.** BVDV and BHV-1 infections in dairy herds in Northern and Northeastern Thailand. *Acta Veterinaria Scandinavica.*, 2004, **45**, 181-192.
- **Kaouche S., Bououdina M., Ghezali S.** Diagnosis of constraints for the development of dairy cattle breeding in Algeria: the case of Medea. 6th Research Workshop on Animal Production, by University M. Mammeri, Tizi-Ouzou on 9 and 10 May. Algeria. 2011.
- **Kelling CL, Toppliff CL.** Bovine maternal, fetal and neonatal responses to bovine viral diarrhea virus infections. *Biologicals.*, 2013, **41**, 20–25.
- **Kelling K.C., Schipper I.A., Strum G.E., Tilton J.E., Carlson R.B.** Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) abortion observations on incidence on non-vaccinated and exposed cattle. *Cornell Veterinarian Journal.*, 1973, **63**, 383–389.
- **Kennedy P.C., Richards W.P.C.** The pathology of abortion caused by the virus of infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Pathology.*, 1964, **1**, 7–17.
- **Keuser V., Schynts F., Detry B., Collard A., Robert B., Vanderplasschen A., Pastoret P.P., Thiry E.** Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine, caprine, and cervine Alpha herpesviruses related to Bovine Herpesvirus 1. *Journal of Clinical Microbiology.*, 2004, **42** (3), 1228–1235.
- **Khezri M.** Bovine viral diarrhea (BVD): A review emphasizing on Iran perspective. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research.*, 2015, **2**(3), 240-251.
- **Khodakaram-Tafti A, Ikede B.O.** A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada, from 1990 to 2001. *The Canadian veterinary journal.*, 2005, **46**(7), 635–637.
- **King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Iqbal K.** Virus taxonomy : Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- **Kirkbride C.A.** Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.*, 1992, **4**, 374–379.
- **Kirkland P.D., Frost M.J., Finlaison D.S., King K.R., Ridpath J.F., Gu X.** Identification of a novel virus in pigs, Bungowannah virus: a possible new species of pestivirus. *Virus Research.*, 2007, **129**, 26–34.
- **Konnai S., Mingala C. N., Sato M., Abes N.S., Venturina F.A., Gutierrez C.A., Sano T., Omata Y., Cruz L.C., Onuma M., Ohashi K.** A survey of abortifacient infectious agents in

livestock in Luzon, the Philippines, with emphasis on the situation in a cattle herd with abortion problems. *Acta Tropica*, 2008, 105, 269–273.

- **Kouamo S., Habimana R., Alambedji Bada G.J., Sawadogo G.A., Ouedraogo F.** Séroprévalences de la brucellose, de la BVD et de l'IBR et impact sur la reproduction des femelles zébus Gobra et croisements inséminées en milieu traditionnel dans la région de Thiès au Sénégal. *Revue de la Médecine Vétérinaire*, 2010, 161, 7, 314-321.
- **Krametter-Froetscher R., Duenser M., Preyler B., Theiner A., Benetka V., Moestl K., Baumgartner W.** Pestivirus infection in sheep and goats in West Austria. *Veterinary Journal*, 2012, 186, 342-346.
- **Kramps J.A., Perrin B., Edwards S. Van Oirschot, J.T.** A European interlaboratory trial to evaluate the reliability of serological diagnosis of bovine herpesvirus 1 infections. *Veterinary Microbiology*, 1996, 53, 153-61.
- **Krey T., Thiel H.J., Rümenapf T.** Acid-resistant bovine pestivirus requires activation for pH triggered fusion during entry. *Journal of Virology*, 2005, 79, 4191–200.
- **Krey T., Moussay E., Thiel H.J., Rümenapf T.** Role of the low-density lipoprotein receptor in entry of bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Virology*, 2006, 80, 10862–67.
- **Kuhne S., Schroeder C., Holmquist G., Wolf G., Horner S., Brem G.** Detection of bovine viral diarrhoea virus infected cattle e testing tissue samples derived from ear tagging using an ERNS capture ELISA. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 2005, 52, 272e7.
- **Kummerer B.M., Meyers G.** Correlation between point mutations in NS2 and the viability and cytopathogenicity of bovine viral diarrhoea virus strain Oregon analyzed with an infectious cDNA clone. *Journal of Virology*, 2000, 74, 390e400.
- **Kwang M.J.** Virus isolation and serological investigation of bovine herpesvirus type 4 in Taiwan. *Journal of the Chinese Society of Veterinary Science*, 1999, 25, 50-54.
- **La Rocca S.A., Herbert R.J., Crooke H., Drew T.W., Wileman T.E., Powell P.P.** Loss of interferon regulatory factor 3 in cells infected with classical swine fever virus involves the N-terminal protease, Npro. *Journal of Virology*, 2005, 79, 7239–7247.
- **Lackner T., Müller A., Pankraz A., Becher P., Thiel H.J., Gorbalenya A.E.** Temporal modulation of an autoprotease is crucial for replication and pathogenicity of an RNA virus. *Journal of Virology*, 2004, 78, 10765e75.
- **Lackner T., Müller A., König M., Thiel H.J., Tautz N.** Persistence of bovine viral diarrhoea virus is determined by a cellular cofactor of a viral autoprotease. *Journal of Virology*, 2005, 79, 9746–55.
- **Lai V.C., Kao C.C., Ferrari E., Park J., Uss A.S. Wright-Minogue J.** Mutational analysis of bovine viral diarrhoea virus RNA-dependent RNA polymerase. *Journal of Virology*, 1999, 73, 10129e36.
- **Lars F.** Comment protéger un élevage sain de BVD ? In : Comptes rendus des journées nationales des GTV. Vichy, 21-23 mai 1997, 377-380.
- **Le Drean E., Pelletier C., Daly S., Moine S., Chevalier G., Magnee D.** Génotypage à grande échelle de souches de virus BVD circulant en France métropolitaine. In : Compte-rendu du Congrès des GTV, Lille, 2010, 305-310.
- **Le Tallec B., Guerin B.** L'IBR : les vaccins contre la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine. *Bulletin des GTV*, 2000, 6, 61-64.
- **Leboeuf C.** Enquête dans la Manche : le BoHV-4 circule notamment chez les avortées. *Le Point Vétérinaire*, 2009, 294, 18-19.
- **Leboeuf C.** Six pour-cent d'avortements positifs en PCR pour le BoHV-4 dans la Manche. *Le Point Vétérinaire*, 2013, 332, 60-64.

- **Lecot S., Belouzard S., Dubuisson J., Rouillé Y.** Bovine viral diarrhea virus entry is dependent on clathrin-mediated endocytosis. *Journal of Virology.*, 2005, 79, 10826–29.
- **Lemaire M., Thiry E.** Les bovins séronégatifs porteurs latents. In : NAVETAT H, ESPINASSE J. Les infections à herpesvirus chez les bovins – Journée SFB et GRDEPV, Veyrierdu-Lac, 3 novembre 1994, Société Française de Buiatrie, Toulouse, 20-24.
- **Lemaire M., Meyer G., Ernst E., Vanhereweghe V., Limbourg B., Pastoret P.P.** Latent bovine herpesvirus 1 infection in calves protected by colostral immunity. *Veterinary Record.*, 1995, 137, 70-71.
- **Lemaire M., Schynts F., Meyer G., Thiry E.** Antibody response to glycoprotein E after bovine herpesvirus type 1 infection in passively immunised, glycoprotein E-negative calves. *Veterinary Record.*, 1999, 144 (7), 172-176.
- **Lemaire M., Schynts F., Meyer G., Georgin J.P., Baranowski E., Gabriel A.** Latency and reactivation of a glycoprotein E negative bovine herpesvirus type 1 vaccine : influence of virus load and effect of specific maternal antibodies. *Vaccine.*, 2001, 19, 4795- 4804.
- **Lemaire M., Pastoret P.P., Thiry E.** Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Annales de Médecine Vétérinaire.*, 2004, 138, 167-180.
- **Leon N.D., Potgieter.** Immunology of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.*, 1995, 11, 501-515.
- **Li Y., McNally J.** Characterization of RNA synthesis and translation of bovine viral diarrhea virus (BVDV). *Virus Genes.*, 2001, 23, 149e55.
- **Liang D, Sainz IF, Ansari IH, Gil LH, Vassilev V, Donis RO.** The envelope glycoprotein E2 is a determinant of cell culture tropism in ruminant pestiviruses. *Journal of General Virology.*, 2003, 84, 1269e74.
- **Liess B., Frey H.R., Kittsteiner H., Baumann F., Neumann W.** Bovine mucosal disease, an immunobiological explainable late stage of BVD-MD virus infection with criteria of a " slow virus infection" *Dtsch tierärztl. Wochenschr.*, 1974, **81**, 481-487.
- **Liess B.** Bovine Viral Diarrhea Virus in : Dinter Z., Morein B., Horzinec MC, *Virus infections of vertebrates. Volume 3. Virus infections of Ruminants.* Elsevier Science Publishers, Amsterdam., 1990, 572p, 247-266.
- **Lin T.M., Shi G.Y., Jiang S.J., Tsai C.F., Hwang B.J., Hsieh C.T., Wu H.L.** Persistent infection of bovine herpesvirus type 4 in bovine endothelial cell cultures. *Veterinary Microbiology.*, 1999, 70, 41-53.
- **Limbourg B., Kerkhofs P., Massard C., Michelet S., Saegerman C., Thiry E.** Avantages et inconvénients d'un plan de lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine en Belgique. *Annales de Médecine Vétérinaire.*, 2002, 147, 57-69.
- **Lindberg A.L.E., Alenius S.** Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle population. *Veterinary Microbiology.*, 1999, 64, 197-222.
- **Lindberg A., Houe H.** Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhea virus (BVDV) of relevance to control. *Prev Vet Med.*, 2005, 72, 55e73. Discussion 215e9.
- **Lindberg A., Brownlie J., Gunn G.J., Houe H., Moennig V., Saatkamp H.W., Sandvik T., Valle P.S.** The control of bovine viral diarrhea virus in Europe: today and in the future. *Revue scientifique et technique. international office of Epizootics.*, 2006, 25, 961-979.
- **Liu L., Xia H., Wahlberg N., Belak S., Baule C.** Phylogeny, classification and evolutionary insights into pestiviruses, *Virology.*, 2009, 385, 351-357.
- **Lovato L., Inman M., Henderson G., Doster A., Jones C.** Infection of cattle with a bovine herpesvirus 1 strain that contains a mutation in the latency-related gene leads to increased

apoptosis in trigeminal ganglia during the transition from acute infection to latency. *Journal of Virology*., 2003, 77(8), 4848-4857.

- **Lucchese L., Benkirane A., Hakimi I., El Idrissi A., Natale A.** Seroprevalence study of the main causes of abortion in dairy cattle in Morocco. *Veterinaria Italiana*., 2016, **52** (1), 13-19.
- **Luini M., Fioni E.** Frequency of bovid-herpesvirus-4 (BHV-4) infection in cattle in Lombardia and Emilia Romagna (Abstract). *Atti. Societa It. Buiat.*, 1986, 18, 329-339.
- **Luzzago C., Frigerio M., Piccinini R., Dapra' V., Zeconi A.** A scoring system for risk assessment of the introduction and spread of bovine viral diarrhoea virus in dairy herds in Northern Italy. *Veterinary Journal*., 2008, 177(2), 236-241.
- **Lyaku J.R.S., Nettleton P., Msolla P.M. Scott, C.R.** Prevalence of antibody to bovine herpesvirus- 1(BHV-1) in Tanzanian cattle. *Tropical Animal Health and Production*., 1991, 23, 106-107.
- **Machiels B., Lété C., Guillaume A., Mast J., Stevenson P., Vanderplasschen A., Guillet L.** antibody evasion by gammaherpesvirus o-glycan shield. *PLOS Pathogens*., 2011,7,1-15.
- **Madic J., Magdalena J., Quak J., Van Oirschot J.T.** Isotype-specific antibody responses to bovine herpesvirus 1 in sera and mucosal secretions of calves after experimental reinfection and after reactivation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*., 1995, 47, 81-92.
- **Madin S. H., York C. J. McKercher D.G.** Isolation of the infectious bovine rhinotracheitis virus. *Sciences*., 1956, 124, 721.
- **Mahin L., Wellemans G., Shimi'A.** Prevalence of antibodies to bovid herpesvirus 1 (ibr-ipv), bovine virus diarrhoea, bovine respiratory syncytial parainfluenza 3, adeno a and adeno b viruses in indigenous and imported moroccan cattle. *Annals of veterinary research*.,1985, 16(03), 279-283.
- **Mahmoud M.A.et Allam A.M.** Seroprevalence of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Bovine Herpes Virus Type 1 (BHV-1), Parainfluenza Type 3 Virus (PI-3V) and Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) among non Vaccinated Cattle. *Global Veterinaria*, 2013, 10, 348-353.
- **Maillard R.** Le virus de la diarrhée virale bovine ou maladie des muqueuses BVD/MD. Cours dispensé aux étudiants de l'ENVA, mars 2003.
- **Maillard R., Chastand-Maillard S.** Maladies virales et troubles de la reproduction. *Le Point Vétérinaire*., 2006, **37** (268), 28-33.
- **Mainar-Jaime R.C., Thurmond M.C., et al.** Seroprevalence of Neospora caninum and abortion in dairy cows in northern Spain. *Veterinary Record*., 1999, 145(3): 72-75.
- **Makita K., Fèvre E.M., Waiswa C., Eisler M.C., Thrusfield M., Susan C., Makita W.** Herd prevalence of bovine brucellosis and analysis of risk factors in cattle in urban and peri-urban areas of the Kampala economic zone, Uganda. *BMC Veterinary Research*., 2011, 7, 60.
- **Marchot P., Thiry E., Jetteur P., Leroy P.** Enquête sérologique sur la prévalence de l'infection par l'herpèsvirus bovin type 4 dans les troupeaux bovins des plaines d'Accra au Ghana. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*., 1999, 44, 405-406
- **Markine-Goriaynoff N., Minner F., De Feays K., Gillet L., Thiry E., Pastoret P.P.** L'herpèsvirus bovin 4. *Annales de Médecine Vétérinaire*., 2003, 147, 215-247.
- **Martin S.W., Meek A.H., Willeberg P.** *Veterinary Epidemiology*. Iowa State University Press, Ames, IA., 1987, 128-134.
- **Masounave L.M.** Les pestivirus chez les animaux sauvages – Étude bibliographique. Thèse Méd Vét, École Nationale Vétérinaire de Toulouse., Toulouse,2008, 38p.

- **Matzener P., Magkouras I., Rumenapf T., Peterhans E., Schweizer M.** The viral RNase E(rns) prevents IFN type-I triggering by pestiviral single- and doublestranded RNAs. *Virus Research.*, 2009,140,15e23.
- **Maurer K., Krey T., Moennig V., Thiel H.J., Rümenapf T.** CD46 is a cellular receptor for bovine viral diarrhea virus. *Journal of Virology.*,2004, 78,1792–99.
- **McDermott J.J., Kadohira M., O’Callaghan C.J., Shoukri M.M.** A comparison of different models for assessing variations in the sero-prevalence of infectious bovine rhinotracheitis by farm, area and district in Kenya. *Preventive Veterinary Medicine.*, 1997, 32, 219-234.
- **McGowan M.R., Kirkland P.D., Richards S.G., Littlejohns I.** Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. *Veterinary Record.*, 1993, 133, 39–43.
- **McKercher, D. G., Straub, O. C., Saito, J.K. and Wada, E.M.** Comparartive studies of etiological agents of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustilar vaginitis. *Canadian Journal of Comparative Medicine.*, 1959, 23,320-328.
- **Mettenleiter T.C.** Herpesvirus assembly and egress. *Journal of Virology.*, 2002, 76, 1537-1547.
- **Meyer, G.; Hanon, E.; Georlette, D.; Pastoret, P. P.; Thiry, E.** Bovine herpesvirus type 1 glycoprotein H is essential for penetration and propagation in cell culture. *Journal of General Virology.*,1998, 79, 1983-7.
- **Metzler A.E., Ossent P., Guscelli F., Rubel A., Lang E.M.** Serological evidence of herpesvirus infection in captive Asian elephants (*Elephas maximus*). *Journal Wildlife Diseases.*, 1990, 26, 41-49.
- **Meyer G., D’Offray J., Thiry E.** Les encéphalites à herpèsvirus bovins. *Point Vétérinaire.*, 2000, 31, 49-56.
- **Meyer G., Lemaire M., Ros C., Belak K., Gabriel A., Cassart D., Coignoul F., Belak S., Thiry E.** Comparative pathogenesis of acute and latent infections of calves with bovine herpesvirus types 1 and 5. *Archives Virology.*, 2001, 146, 633-652.
- **Miller N. J.** Infectious necrotic rhinotracheitis of cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association.*, 1995, 26, 463-467.
- **Miller J.M., Whetsone C.A., Bello L.J.** Determination of ability of a thymidine kinasenegative deletion mutant of bovine herpesvirus-1 to cause abortion in cattle. *American Journal of Veterinary Research.*, 1991, 52, 1038-1043.
- **Miller J.M., Whetstone C.A., Bello L.J., Lawrence W.C., Whitbeck J.C.** Abortion in heifers inoculated with a thymidine kinase-negative recombinant of bovine herpesvirus 1. *American Journal of Veterinary Research.*, 1995, 56, 870-874.
- **Misra V., Bratanich A.C., Carpenter D., O’Hare P.** Protein and DNA elements involved in transactivation of the promoter of the bovine herpesvirus (BHV) 1 IE-1 transcription unit by the BHV alpha gene transinducing factor. *Journal of Virology.*, 1994, 68, 4898– 4909.
- **Mockeliūniene V., Salomskas A., Mockeliūnas R., Petkevicius S.** Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. *Veterinary Microbiology.*, 2004, 99(1), 51-57.
- **Moennig V., Plagemann P.G.W.** The pestivirus. *Adv Virus Res.*,1992, **41** : 53-83.
- **Moennig V., Liess B.** Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.*, 1995, 11,477–87.
- **Moes L., Wirth M.** The internal initiation of translation in bovine viral diarrhea virus RNA depends on the presence of an RNA pseudoknot upstream of the initiation codon. *Virology Journal.*,2007,4, 124.

- **Mohamadou L.** Bilan de la mise en place du schéma de certification des élevages bovins vis-à-vis de l'IBR : 1997 – 2001. Thèse Médecine Vétérinaire : Alfort , 2003-089, 167 p.
- **Monge A., Elvira L., Gonzalez J.V., Astiz S., Wellenberg G.J.** Bovine herpesvirus 4-associated postpartum metritis in a Spanish dairy herd. *Research Veterinary Science.*, 2006., 80, 120- 125.
- **Montgomery D.L.** Distribution and cellular heterogeneity of bovine viral diarrhea viral antigen expression in the brain of persistently infected calves: a new perspective. *Veterinary Pathology.*, 2007, 44,643–54.
- **Morán P.E., Pérez S.E., Odeón A.C. Verna A.E.** Herpesvirus bovino 4 (BoHV-4): aspectos generales de su biología y situación en la República Argentina. *Revista Argentina de Microbiología.*, 2015, 47,155-166.
- **Mouffok C.** Diversité des systèmes d'élevage bovin laitier et performances animales en région semi aride de. Mémoire de magister. Ecole Nationale supérieur d'Agronomie. Alger, 2007, 16-17p.
- **Munoz-Zanzi C.A., Thurmond M.C., Johnson W.O., Hietala S.K.** Predicted ages of dairy calves when colostrum-derived bovine viral diarrhea virus antibodies would no longer offer protection against disease or interfere with vaccination. *Journal of American Veterinary Medical Association.*,2002,221,678–85.
- **Munoz-Zanzi C. A., S. K. Hietala, Thurmond M.C., Johnson W.O.** Quantification, risk factors, and health impact of natural congenital infection with bovine viral diarrhea virus in dairy calves. *American Journal of Veterinary Research.*, 2003, 64(3), 358-365.
- **Murray C.L., Marcotrigiano J., Rice C.M.** Bovine viral diarrhea virus core is an intrinsically disordered protein that binds RNA. *Journal of Virology.*, 2008, 82, 1294e304.
- **Muylkens B., Meurens F., Schynts F., Thiry E.** Les facteurs de virulence des alphaherpesvirus. *Virology.*, 2003, 7, 401-415.
- **Muylkens B., Meurens F., Schynts F., Farnir F., Pourchet A., Bardiau M.** Intraspécifique bovine herpesvirus 1 recombinants carrying glycoprotein E deletion as a vaccine marker are virulent in cattle. *Journal of General Virology.*, 2006, 87, 2149-2154.
- **Muylkens B., Thiry J., Kirten P., Schynts F., Thiry E.** Bovine Herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Research.*, 2007, 38, 181-209.
- **Mweene A.S., Okazaki K., Hiroshi K.** Detection of viral genome in non-neural tissues of cattle experimentally infected with bovine herpesvirus 1, *Japanese Journal of Veterinary Research.*, 1996, 44, 165–174.
- **Mweene A.S., Fukushi H., Pandey G.S., Syakalima M., Simuunza M., Malamo M., Nambota A., Samui K.L., Tsubota T., Nakazato Y., Onuma M., Yasuda J.** The prevalence of bovine herpesvirus-1 in traditional cattle in Southern Province, Zambia. *Revue scientifique et technique: Office international des Epizootie.*, 2003, 22 (3), 873-877.
- **Naeem K., Goyal S.M.** A dot immunobinding assay on nitrocellulose for the detection of bovid herpesvirus- antibodies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.*, 1990, 2, 107-110.
- **Nandi S., Pandey A.B., Sharma K .** Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in cattle of an organized farm by indirect ELISA. *The Indian Cow.*, 2007, 7, 50–53.
- **Nandi S., Pandey A.B., Manohar M.** Serosurveillance of infectious bovine rhinotracheitis in cow bulls and buffalo bulls in India. *Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases.*, 2008, 28, 1–3.
- **Nandi S., Kumar M., Manohar M.** Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews.*,2009., 10(1), 85–98.

- **Nandi S., Kumar M., Yadav V., Chander V.** Serological evidence of bovine herpesvirus-1 infection bovines of organized farms in India. *Transboundary and Emerging Disease.*, 2011, 58,105–109 .
- **Nardelli S., Farina G., Lucchini R., Valorz C., Moresco A., Dal Zotto R.** Dynamics of infection and immunity in a dairy cattle population undergoing an eradication programme for infectious bovine rhinotracheitis (IBR). *Preventive Veterinary Medicine.*, 2008, 85, 68–80.
- **Neill J.D.** Molecular biology of bovine viral diarrhea virus.biological.,2013 ,41, 2-7.
- **Nikolin V.M., Donofrio G., Milosevic B., Taddei S., Radosavljevic V., Milicevic V.** First serbian isolates of bovine herpesvirus 4 (BoHV-4) from a herd with a history of postpartum metritis. *New Microbiologica.*, 2007, 30, 53-57.
- **Mohanty S.B., Hammond R.C., Lillie M.G.** A new bovine herpes virus and its effects on experimentally infected calves. *Arch Gesamte Virusforsch.*,1971, 34, 394-395.
- **Nettleton P.F., Entrican G.** Ruminant pestiviruses. *Br Vet J.*, 1995,151,615e42.
- **Niskanen R., Lindberg A.** Transmission of bovine diarrhea virus by unhygienic vaccination procedure, ambient air, and from contaminated pens.*The Veterinary Journal.*, 2003, 165, 125–130.
- **Njaa B.L., Clark E.G., Janzen E., Ellis J.A., Haines D.M.** Diagnosis of persistent bovine viral diarrhea virus infection by immunohistochemical staining of formalin fixed skin biopsy specimens. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.*, 2000,12, 393e9.
- **Nobiron I., Thompson I., Brownlie J., Collins M.E.** DNA vaccination against bovine viral diarrhoea virus induces humoral and cellular responses in cattle with evidence for protection against viral challenge. *Vaccine.*, 2003,21,2082e92.
- **O’Grady L., O’Neill R., Collins D., Clegg T., More S.** Herd and within-herd BoHV-1 prevalence among Irish beef herds submitting bulls for entry to a performance testing station. *Irish Veterinary Journal.*, 2008, 61, 809–815.
- **Olafson P., Mac Callum A.D., Fox A.** An apparently new transmissible disease of cattle. *The Cornell veterinarian Journal.*, 1946, 36, 205-213.
- **Olafson P., Rickard CG.** Further observations on the virus diarrhea (new transmissible disease) of cattle. *Cornell veterinarian Journal.*, 1947, 37, 104.
- **Okumu T.A.** infectious abortion and associated risk factors in dairy cattle farms in nakuru district, Faculty of Veterinary Medicine, kenya university of nairobi. 2014, 38.
- **Osorio F.A., Rock D.L., Reed D.E.** Studies on the pathogenesis of a bovine cytomegalo-like virus in an experimental host. *Journal of General Virology.*,1985, 66, 1941-1951.
- **Ozturk D., Kale M., Pehlivanoglu F., Hasircioglu S., Turutoglu H.** Evaluation for Some Bacterial and Viral Abortions of Dairy Cattle Farms in Burdur District of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*,2012, 18(2),255-258.
- **Paisley L.G., Tharaldsen J., Jarpe J.** A retrospective analysis of the infectious bovine rhinotracheitis (bovine herpes virus-1) surveillance program in Norway using Monte Carlo simulation models. *Preventive Veterinary Medicine.*, 2001, 50, 109–125.
- **Pande A., Carr B.V., Wong S.Y.C., Dalton K., Jones I.M., McCauley J.W., Charleston B.**The glycosylation pattern of baculovirus expressed envelope protein E2 affects its ability to prevent infection with bovine viral diarrhoea virus. *Virus Research.*, 2005, 114, 54–62.
- **Parks J.B., Kendrick J.W.**The isolation and partial characterization of a herpes virus from a case of bovine metritis. *Arch Gesamte Virusforsch.*, 1973, 41, 211-215.
- **Pastoret P., Hamers C., Lecomte C., Lambot M.** Biologie et épidémiologie de l’infection par le virus de la diarrhée virale bovine BVD/MD. *POINT VETERINAIRE.*, 1997, 28 (187), 1979-1983.

- **Pastoret P.P., Aguilar-Setien A., Burtonboy G., Mager J., Jetteur P., Schonenaers F.** Effet de la cyclophosphamide sur la latence du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovid Herpesvirus 1). *Annales de Médecine Vétérinaire.*, 1980, 124, 55-67.
- **Pastoret P.P., Thiry E., Brochier B., Derboven G.** bovid herpesvirus 1 infection of cattle : pathogenesis, latency, consequences of latency. *Annales de Médecine Vétérinaire.*, 1982, 13, 3, 221-235.
- **Pastoret P.P., Vannier P.** la vaccination dans le contrôle des herpesvirose. *Les entretiens de bougelat*, Lyon, 1995, 13-23.
- **Paton D.J.** Pestivirus diversity. *Journal of Comparative Pathology.*, 1995, 112, 215-236.
- **Paton D.J., Christiansen K.H., Alenius S., Cranwell M.P., Pritchard G.C., Drew T.W.** Prevalence of antibodies to bovine virus diarrhoea virus and other viruses in bulk tank milk in England and Wales. *Veterinary Record.*, 1998, 142, 385-391.
- **Peek S.F., Bonds M.D., Schaele P., Weber S., Friedrichs K., Schultz R.D.** Evaluation of antiviral activity and toxicity of recombinant human interferon alfa-2a in calves persistently infected with type 1 bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research.*, 2004, 65, 865-870.
- **Pelletier C.** Génotypage de 48 souches de BVDV isolées en Bourgogne. *Bulletin des GTV* ., 2007, 38.
- **Pellett P.E., Roizman B.** The Family Herpesviridae: A brief introduction. Chapter 66 In: Knipe DM, Howley PM (Eds.), *Fields Virology*, Wolters Kluwer, Philadelphia., 2007, 2479- 2499.
- **Pershev R., Christova L.** Bovine Herpes virus 4 (BHV4) infection induced by stress in imported cows. *Revue de Médecine Vétérinaire.*, 2013, 164, 112-119.
- **Pestova T.V., Hellen C.U.** Internal initiation of translation of bovine viral diarrhoea virus RNA. *Virology.*, 1999, 258, 249e56.
- **Peterhans E., Jungi T.W., Schweizer M.** BVD virus and innate immunity. *Biologicals* ., 2003, 31, 107-12.
- **Peterhans E., Jungi T.W., Schweizer M.** How the bovine viral diarrhoea virus outwits the immune system. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.*, 2006, 113, 124e9.
- **Peterhans E., Schweizer M.** Pestiviruses: how to outmaneuver your hosts. *Veterinary Microbiology.*, 2012, 142, 18-25 .
- **Petit H.** Différentes stratégies de lutte contre la BVD menées en France par les Groupements de Défense Sanitaire., 2003, 5p.
- **Pritchard G.C., Cook N., Banks M.** Infectious pustular vulvovaginitis / infectious pustular balanoposthitis in cattle. *Veterinary Record.*, 1997, 140, 587.
- **Potgieter, L.N.** Immunology of bovine viral diarrhoea virus. *The Veterinary Clinics of North America. Food animal practice.*, 1995, 11, 501-520.
- **Potgieter L.N., McCracken M.D.** Comparison of the pneumopathogenicity of two strains of bovine diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research.*, 1985, 46, 151-3.
- **Potgieter L.N., McCracken M.D., Hopkins F.M., Walker R.D.** Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *American Journal of Veterinary Research.*, 1984, 45, 687-90.
- **Quadros V.L., Mayer S.V., Vogel F.S., Weiblen R., Brum M.C., Arenhart S.** search for RNA insertions and NS3 gene duplication in the genome of cytopathic isolates of bovine viral diarrhoea virus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.*, 2006, 39, 935-944.
- **Raaperi k., Bougeard S., Aleksejev A., Orro T., Viltrop A.** Association of herd BRSV and BHV-1 seroprevalence with respiratory disease and reproductive performance in adult dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica.*, 2012, 54, 4.

- **Raaperi K., Nurmoja I., Orro T., Viltrop A.** Seroepidemiology of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) infection among Estonian dairy herds and risk factors for the spread within herds *Preventive Veterinary Medicine.*, 2010, 96, 78–81.
- **Radostits, O. M., Done S. H. Done.** *Veterinary medicine : a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.* New York, Elsevier Saunders.
- **Raizman E.A., Pogranichniy R., Negron M., Schnur M., Tobar-Lopez D.E.** Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhea virus type 1 and type 2 in non-vaccinated cattle herds in the Pacific Region of Central Costa Rica. *Tropical Animal Health and Production*, 2011, 43, 773-778.
- **Ramsey F.K., CHIVERS W.H.** Mucosal disease of cattle. *North America Veterinary.*, 1953, 34, 629-633.
- **Rebordosa X., Pinol J., Perez-Pons J.A., Lleras J., Naval J., Serra-Hartmann X.** Glycoprotein E of bovine herpesvirus type 1 is involved in virus transmission by direct cell-to-cell spread. *Virus Research.*, 1996, 45, 59-68.
- **Reed S.M., Toribio R.E.** Equine herpesvirus 1 and 4. In *Veterinary Clinics of North American Equine Practitioners.*, 2004, 20, 631-642.
- **Renard A., Schmetz D., Guiot C., Brown S.S., Dagenais L., Pastoret P.P. Dinn D., Martial J.A.** Molecular cloning of the bovine viral diarrhea virus genomic RNA. *Annales de recherches vétérinaires.*, 1988, 18, 121-125.
- **Rezaeisaber A.P., Nikniaz H., Davatgar Badie A.** Comparison of bovine viral diarrhea virus infection between sarabian and holstein dairy cows in relation to abortion. *Annals of Biological Research.*, 2013,4,88-91.
- **Ridpath J.F. Bolin S.R., Dubovi E.J.** Segregation of bovine viral diarrhea virus into genotypes. *Virology.*, 1994, 205, 66-74.
- **Ridpath J.F., Qi F., Bolin S.R., Berry E.S.** Natural recombination in bovine viral diarrhea viruses. *Archives of Virology. Supplementa.*, 1994,9,239e44.
- **Ridpath J.F., Neill J.D., Frey M., Landgraf J.G.** Phylogenetic, antigenic and clinical characterization of type 2 BVDV from North America. *Veterinary microbiology.*, 2000, 77, 145-155.
- **Ridpath J.F., Neill J.D., Endsley J., Roth J.A.** Effect of passive immunity on the development of a protective immune response against bovine viral diarrhea virus in calves. *American Journal of Veterinary Research.*, 2003,64,65–9.
- **Ridpath J.F.** Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: impact of biotype and genotype on U.S. control programs. *Preventive Veterinary Medicine.*, 2005,72,17e30.
- **Ridpath J.F., Fulton R.W., Kirkland P.D., Neill J.D.** Prevalence and antigenic differences observed between bovine viral diarrhea virus subgenotypes isolated from cattle in Australia and feedlots in the southwestern United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.*, 2010,22 : 184-191.
- **Ridpath J.F.** The Contribution of Infections with Bovine Viral Diarrhea Viruses to Bovine Respiratory Disease. *The veterinary clinics of the north America, food animal practice.*, 2010, 26, 335-348.
- **Ridpath J.F.** Immunology of BVDV vaccines. *Biologicals.*, 2013, 41; 14e19.
- **Roux D.** infection expérimentale par le virus de la diarrhée virale bovine (BVDV) : évaluation de la protection fœtale induite par un vaccin vivant atténué .THESE médecine vétérinaire Toulouse : 2009 – TOU 3 – 4080.

- **Rivera-Rivas J.J., Kisiela D., Czuprynski C.J.** Bovine Herpesvirus type 1 infection of bovine bronchial epithelial cells increases neutrophil adhesion and activation. *Veterinary Immunology and Immunopathology.*, 2009, 131, 167-176.
- **Rocha M.A.** Pesquisa de anticorpos para IBR em amostragem de demanda no Estado de Minas Gerais, 1990-1999. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*, 2001, 53, 6.
- **Rock D., Lokensgard J., Lewis T., Kutish G.** Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent Bovine Herpesvirus 1. *Journal of Virology.*, 1992, 66 (4), 2484-2490.
- **Rodning S.P., Givens M.D., Marley M.S.D., Zhang Y., Riddell K.P., Galik P.K., Hathcock T.L., Gard J.A., Prevatt J.W., Owsley W.F.** Reproductive and economic impact following controlled introduction of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus into a naive group of heifers. *Theriogenology.*, 2012, 78, 1508–1516.
- **Roeder P., Jeffrey M., Cranwell M.** Pestivirus fetopathogenicity in cattle : changing sequella with fetal maturation. *Veterinary Record.*, 1986, 118, 44–8.
- **Roehe P.M., da Silva T.C., Nardi N.B., Oliveira L.G., Almeida Rosa J.C.** Diferenciação entre os vírus da Rinotraqueíte infecciosa bovina (BHV-1) e herpesvírus da encefalite bovina (BHV-5) com anticorpos monoclonais. *Pesquisa Veterinária Brasileira.*, 1997, 17, 41-44.
- **Roizman B., Baines J.** The diversity and unity of herpesviridae. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases.*, 1991, 14, 63-79.
- **Rumenapf T., Unger G., Strauss J.H., Thiel H.J.** Processing of the envelope glycoproteins of pestiviruses. *Journal of Virology.*, 1993, 67, 3288e94.
- **Rümenapf T., Thiel H.J. 2008.** Molecular biology of pestiviruses. In *Animal Viruses: Molecular Biology*, ed. TC Mettenleiter, F Sobrino. Norwich, UK: Caister Acad. Press., 2008, 39–96 p.
- **Saliki J.T., Dubovi E.J.** laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. the veterinary clinics of north america. *Food animal practice.*, 2004, 20, 69-83.
- **Rockhill B., Newman B., Weinberg C.** Use and misuse of population attributable fractions. *American Journal of Public Health.*, 1998, 88(1), 15–19.
- **Roels S., Charlier G., Letellier C., Meyer G., Schynts F., Kerkhofs P.** Natural case of bovine herpesvirus 1 meningoencephalitis in an adult cow. *Veterinary Record.*, 2000, 146, 586- 588.
- **Roizman B., Baines J.** The diversity and unity of herpesviridae ; *Comparative Immunology Microbiology Infectious Diseases.*, 1991, 14, 63-79.
- **Roizman B., Desrochers R.C., Fleckenstein b., Lopez C., Minson, A.C., Studdert M.J.** the family herpesviridae: an update. The herpesvirus study group of the international committee on taxonomy of viruses. *Archives of Virology.*, 1992, 123, 3-4, 425-449.
- **Roizman B., Knipe D.** Herpes simplex viruses and their replication. In: Knipe, D., Howley, P.M. (Eds.), *Fields Virology*. fourth ed. 2001, pp. 2399–2460.
- **Rouse B.T.** Role of neutrophils in antiviral immunity. *Advances in Experimental Medicine and Biology.*, 1981, 137, 263 278.
- **Rypula K., Ploneczka-Janeczko K., Kita J., Kumala A., Zmudziński J.F.** Seroprevalence of BHV-1 (bovine herpesvirus type 1) among non-vaccinated dairy cattle herds with respiratory disorders. *Polish Journal of Veterinary Sciences.*, 2012., 3, 561-563.
- **Samaille J.P., Thibault J.C.** La vaccination contre l'IBR (2). *L'action Vétérinaire.*, 1996, 1376, 39.
- **Sandik T.** Selection and use of laboratory diagnosis assays in bvd control programmes. *Preventive veterinary medicine.*, 2005, 72, 215-219.

- **Sanhueza J.M.** The Role of Infectious Pathogens on Reproductive Loss in New Zealand Beef Cattle. Institute of Veterinary, Animal and Biomedical Sciences Massey University Palmerston North : New Zealand, 2011, 20-25.
- **Sarrazin S., Veldhuis A., Méroc E., Vangeel I., Laureyns J., Dewulf J., Caij A.B., Piepers S., Hooyberghs J., Ribbens S., Van Der Stede Y.** Serological and virological BVDV prevalence and risk factor analysis for herds to be BVDV seropositive in Belgian cattle herds. Preventive Veterinary Medicine., 2013, 108, 28-37.
- **Sayers R., Byrne N., O'Doherty E., Arkins S.** Prevalence of exposure to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) in Irish dairy herds. Research in Veterinary Science., 2015, 100, 21-30.
- **Schang L.M., Hossain A., Jones C.** The latency-related gene of bovine herpesvirus 1 encodes a product which inhibits cell cycle progression. Journal of Virology., 1996, 70(6), 3807-3814.
- **Schares G., Bärwald A., Staubach C., Ziller M., Klöss D., Schröder R., Labohm R., Dräger K., Fasen W., Hess R. G., Conraths F. J.** Potential risk factors for bovine Neospora caninum infection in Germany are not under the control of the farmers. Parasitology., 2004, 129, 301–309.
- **Schelcher F., Valarcher J.F.** Aspects cliniques de l'infection des bovins par le virus de la maladie des muqueuses (BVDV). Bulletin des GTV., 1993, 23-29.
- **Schelcher F., Foucras G., Meyer G., Valarcher J.F.** Vaccins et vaccination contre le virus B.V.D. Bulletin des GTV., 2006, 35-41.
- **Schelcher F.** L'infection par le virus BVD-MD. In : Maladie des Bovins, 4^e édition, Paris, Edition France Agricole., 2008, 16-29.
- **Schirrmeier H., Strebelow G., Depner K., Hoffman N.B., Beer M.** Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species. Journal of General Virology., 2004, 85, 3647-3652.
- **Schneider R., Unger G., Stark R., Schneider-Scherzer E., Thiel H.J.** Identification of a structural glycoprotein of an RNA virus as a ribonuclease. Science., 1993, 261, 1169–1171.
- **Schreiber P., Coppe Ph., Collard A.** Diagnostic antigénique du BVDV chez le veau infecté permanent immunotolérant (IPI) sous protection colostrale. Bulletin des GTV., 1998, 595, 27-30.
- **Schrijver R.S. Kramps J.A.** Critical factor affecting the diagnostic reliability of enzymelinked immunosorbent assay formats. Revue scientifique et technique : Office International des epizootie., 1998, 17, 550-551.
- **Schroeger R.J., Moys M.D.** An acute respiratory infection of dairy cattle. Journal of the American Veterinary Medical Association., 1954, 125, 471-472.
- **Schwyser M., Fischer-Bracher C., Fraefel C., Bachi T., Nunez R., Engels M.** Transduction of Vero cells and bovine monocytes with a herpes simplex virus-1 based amplicon carrying the gene for the bovine herpesvirus-1 Circ Protein. Veterinary Microbiology., 1996, 53, 165-174.
- **Schweizer M., Peterhans E.** pestivirus; Annual Review of Animal Biosciences., 2014, 2, 141-63.
- **Schwyzer M., Ackermann M.** Molecular virology of ruminant herpesviruses. Veterinary Microbiology., 1996, 53, 1-2, 17-29.
- **Schweizer M., Ma'tzener P., Pfaffen G., Stalder H.P., Peterhans E.** "Self" and "nonself" manipulation of interferon defense during persistent infection: bovine viral diarrhea virus resists alpha/beta interferon without blocking antiviral activity against unrelated viruses replicating in its host cells. Journal of Virology., 2006, 80, 6926–6935.
- **Schweizer M., Peterhans E.** BVDV: a pestivirus inducing tolerance of the innate immune response. Biologicals., 2013, 41, 39–51.
- **Sellal E.** Le BVD vu par le laboratoire de diagnostic. Conférence donnée à l'ENVA. Mars 2004.

- **Sellal E., Merchie-Pociello B.** Le diagnostic de la BVD/MD par utilisation de kits ELISA anticorps totaux, Antigènes et PCR. Bulletin des GTV., 1993,4, 73-81.
- **Siegler H.H., Marschang F., Morscher H.** Beobachtungen über Zusammenhänge zwischen Virusinfektionen und bovine Mastitis. Tierärztl. Umschau., 1984, 39, 602-604.
- **Siegwart N., Hilbe M., Hassig M., Braun U.** Increased risk of BVDV infection of calves from pregnant dams on communal Alpine pastures in Switzerland. The Veterinary Journal., 2006, 172, 386–388.
- **Six A., Banks M., Engels M., Bascunana C.R., Ackermann M.** Latency and reactivation of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) in goats and of caprine herpesvirus 1 (CapHV-1) in calves. Archives of Virology., 2001, 146 (7), 1325-1335.
- **Smith B.** Large Animal Internal Medicine, Londres, The C.V. Mosby Company, 1990, 1787.
- **Smith R.** Veterinary Clinical Epidemiology. CRC Press, Boca Raton, FL, 1995, 98–100.
- **Solis-Caldeiron J. J., Segura-Correa V. M., Segura-Correa J.C.** Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: Seroprevalence and risk factors. Preventive Veterinary Medicine., 2005, 72, 253-262.
- **Sprecher D.J., Baker J.C., Holland R.E., Holland, R.E., Yamini B.** An outbreak of foetal and neonatal losses associated with the diagnosis of bovine viral diarrhea virus. Theriogenology., 1991, 36, 597-606.
- **Srikumaran S., Kelling C.L., Ambagala A.** Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. Animal Health Research Reviews., 2007, 8, 215–229.
- **Ståhl K., Riverab H., Vagsholm I., Moreno-Lopez J.** Bulk milk testing for antibody seroprevalence to BVDV an BHV-1 in a rural region of Peru. Preventive Veterinary Medicine., 2002, 56, 193-202.
- **Ståhl K., Kampa J., Alenius S., Persson Wadman A., Baule C., Aiumlamai S., Belák S.** Natural infection of cattle with an atypical 'HoBi'-like pestivirus-implications for BVD control and for the safety of biological products. Veterinary Research., 2007,38, 517–523.
- **Ståhl K., Alenius S.** BVDV control and eradication in Europe—an update. The japonese journal of veterinary research., 2012,60, 31-39.
- **Stalder H.P., Meier P., Pfaffen G., Wageck-Canal C., Rüfenacht J., Schaller P., Bachofen C., Marti S., Vogt H.R., Peterhans E.** Genetic heterogeneity of pestiviruses of ruminants in Switzerland. Preventive Veterinary Medicine., 2005,72, 37–41.
- **Steenland K., Armstrong B.** An overview of methods for calculating the burden of disease due to specific risk factors. Epidemiology., 17(5), 512–519.
- **Stenlund S., Kindahl H., Ugglä A., Björkman C.** "A long-term study of Neospora caninum infection in a Swedish dairy herd. Acta Veterinarian Scandinavica., 2003., 44(1-2), 63-71.
- **Stoffregen B., Bolin S.R., Ridpath J.F., Pohlenz J.** Morphologic lesions in type 2 BVDV infections experimentally induced by strain BVDV2–1373 recovered from a field case. Veterinary Microbiology., 2000,77,157–62.
- **Storz J., Ehlers B., Todd W.J., Ludwig H.** Bovine cytomegaloviruses : identification and differential properties. Journal of general Virology., 1984, 65, 697-706.
- **Straub O.C.** BHV1 infections : relevance and spread in Europe. Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases., 1991, 14, 175-186.
- **Straub O.C.** Infectious bovine rhinotracheitis virus. History and recent developments. Developments in Biological Standardization., 1975, 28, 530-533.
- **Straub O.C.** Infectious bovine rhinotracheitis virus. In: Morin ZdaB (ed.) Virus Infections of Ruminants. Amsterdam: Elsevier, pp. 71–109., 1990.

- **Straub O.C.** Advances in BHV1 (IBR) research. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.*, 2001,108, 419-422.
- **Strong R., La Rocca S.A., Ibata G., Sandvik T.** Antigenic and genetic characterization of Border disease viruses isolated from UK cattle. *Veterinary Microbiology.*, 2010, 141 , 208-215.
- **Swasdipan S., McGowan M., Phillips N., Bielefeldt-Ohmann H.** Pathogenesis of transplacental virus infections: pestivirus replication in the placenta and fetus following respiratory infection. *Microbiology Pathogens.*, 2002,32,49e60.
- **Szymanski M.R., Fiebach A.R., Tratschin J.D., Gut M., Ramanujam V.M.S, Gottipati K., Patel P. Ye M., ruggli N., Choi K.H.** Zinc Binding in Pestivirus Npro Is Required for Interferon Regulatory Factor 3 Interaction and Degradation, *Journal of molecular biology.*,2009, Volume 391, 2, 438-449.
- **Talafha A. Q., Hirche S. M., Ababneh M.M., Al-Majali A. M.** Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhea virus infection in dairy herds in Jordan. *Tropical Animal Health and Production.*,2009, 41,499–506.
- **Tautz N., Kaiser A., Thiel H.J.** NS3 serine protease of bovine viral diarrhea virus: characterization of active site residues, NS4A cofactor domain, and proteasecofactor interactions. *Virology.*, 2000,273,351e63.
- **Teichmann U, Liebler-Tenorio E, Pohlenz J.F.** Ultrastructural changes in follicles of small-intestinal aggregated lymphoid nodules in early and advanced phases of experimentally induced mucosal disease in calves. *American Journal of Veterinary Research.*, 2000, 61, 174–82.
- **Thabti F., Letellier C., Hammami S., Pépin M., Ribière M., Mesplède A., Kerkhofs P., Russo P.** Detection of a novel border disease virus subgroup in Tunisiansheep. *Archives of Virology.*,2005, 150, 215–229.
- **Thibault J.C., Crevat D.** Caractéristiques et performances de nouvelles techniques de diagnostic en BVD/MD. *Bulletin des GTV.*, 1993, 4, 53-59.
- **Thiry E., Wellemans G., Limbourg B., Broes A., Pastoret P.P.** Effect of repeated intradermal injections of bovine herpesvirus type 1 antigen on seronegative cattle. *Veterinary Record.*, 1992, 130, 372-375.
- **Thiry E., Lemaire M., Pastor P.P.** L'infection du fœtus et du veau nouveau-né par le virus de la rhinotrachéite infectieuse. In : NAVETAT H, ESPINASSE J. Les infections à herpesvirus chez les bovins – Journée SFB et GRDEPV, Veyrier-du-Lac, 3 novembre 1994, Société Française de Buiatrie, Toulouse, 12-19.
- **Thiry E., Lemaire M., Schyts F., Vanderheijden N., Meyer G., Dispas M., Pastoret P.P.** La rhinotrachéite Infectieuse Bovine : caractéristiques du virus, l'infection et ses manifestations cliniques. *Bulletin des GTV.*, 1997, 4, 7-16.
- **Thiry E., Lemaire M., Schynts F., Meyer G., Dispas M., Gogev S.** Les conséquences de l'infection des bovins par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Point Vét.*, 1999, 30, 19-149.
- **Thiry E.** Maladies virales des ruminants, le point vétérinaire, collection virologie clinique, 2000.
- **Thiry E., Markine-Goriaynoff N., Minner F., Pastoret P.P., Vanderplasschen A.** L'herpèsvirus bovin de type 4 : virus pathogène ou passager ?. *Le Point Vétérinaire.*, 2000, 31, 49-55.
- **Thiry E., Lemaire M.** Infection de ruminants par des herpèsvirus hétérologues. *Le Point Vétérinaire.*, 2001, 32 (217), 20-25.
- **Thiry E.** Stratégies de prévention des avortements provoqués par les herpèsvirus et les pestivirus de ruminants. *Ann. Méd. Vét.*, 2002, 146, 161-168.

- **Thiry E., Lemaire M., Keuser V., Schynts F.** Recent developments in infectious bovine rhinotracheitis, *Cattle Practice.*, 2002, 10 (1), 43-49.
- **Thiry E., Meurens F., Muylkens B., McVoy M., Gogev S., Thiry J., Vanderplasschen A., Epstein A., Keil G., Schynts F.** Recombination in alphaherpesviruses. *Reviews in Medical Virology.*, 2005, 15(2), 89-103.
- **Thiry J., Keuser V., Muylkens B., Meurens F., Gogev S., Vanderplasschen A.** Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Veterinary Research.*, 2006, 37, 169-190.
- **Thiry E.** *Virologie clinique des Ruminants.* 2ème ed., Les Editions du Point Vétérinaire, 2007, 301p.
- **Tikoo S.K., Campos M., Babiuk L.A.** Bovine herpesvirus 1(BHV-1): biology, pathogenesis and control. *Advances in Virus Research.*, 1995, 45, 191-223.
- **Toma B., Dufour B., Sanaa M., Benet J.J., Shaw A., Moutou F. et Louza A., 2001.** *Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures.* Alfort, France aeema. 2eme Edit. 68p.
- **Treilles M., Benoit F., Carpinski V., Leborgne M., Blanchard B.** Progrès dans la mise en évidence du BoHV-4 en routine. *Le Point Vétérinaire.*, 2013, 332, 66-68.
- **Turin L., Russo S., Poli G.** BHV-1: New molecular approaches to control a common and widespread infection. *Molecular Medicine.*, 1999, 5, 261-284.
- **Turin L., Russo S.** BHV-1 infection in cattle: an update. *Veterinary Bulletin.*, 2003, 73, 16-21.
- **Vaast R. R.** Les perstiviroses des ovins en Aveyron (1984-1986). *Pestiviroses des Ovins et des Bovins*, Ste Française de Buiatrie, Paris, France **27**, 23-31.10.
- **Valle, P. S., Martin S.W., Tremblay R., Bateman K.** Factors associated with being a bovine-virus diarrhoea (BVD) seropositive dairy herd in the More and Romsdal County of Norway. *Preventive Veterinary Medicine.*, 1999, 40 , 165-177.
- **Van Drunen Littel-Van der Hurk S., Van Donkersgoed J., Kowalski J., Dan Den Hurk J., Harland R., Babiuk L.A.** A subunit gIV vaccine produced by transfected mammalian cells in culture, induces mucosal immunity against bovine herpesvirus 1 in cattle. *Vaccine.*, 1994, 12, 1295-1302.
- **Van Drunen Littel-Van Der Hurk S., Giford G.A., Babiuk L.A.** Epitope specificity of protective immune response induced by individual bovine herpesvirus-1 glycoproteins. *Vaccine.*, 1990, 8, 358-368.
- **Van Oirschot J.T.** Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. *Veterinary Quarterly.*, 1995, 17, 29-33.
- **Van Oirschot J.T., Kaashoek M.J., Rijsewijk F.A.M.** Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. *Veterinary Microbiology.*, 1996, 53, 43-54.
- **Van Oirschot J.T.** Social isolation may influence responsiveness to infection with BHV1 in veal calves. *Veterinary Microbiology.*, 2000, 75, 135-143.
- **Van Opdenbosch E., Wellemans G., Theys H., Verhees I.** Occurrence of subclinical virus infection in veal calves and their influence on weight gain. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, 1986, 50, 17-20.
- **Van Opdenbosch E., Wellemans G., Ooms L.A., Degryse A.D.** BHV4 (bovine herpes virus 4) related disorders in Belgian cattle : a study of two problem herds. *Veterinary Research Communications.*, 1988, 12, 347-353.
- **Van Malderen G., Van Opdenbosch E., Wellemans G.** Bovine herpesvirus 1 and 4 : a sero-epidemiological survey of the Belgian cattle population. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, 1987, 55, 17-20.

- **Van Reeth K., Adair B.** Macrophages and respiratory viruses. *Pathologie Biologie.*, 1997,45,184–92.
- **Vanderley B. Ridpath J, Sweiger S.** Comparison of detection of Bovine virus diarrhea virus antigen in various types of tissue and fluid samples collected from persistently infested cattle. *Journal of veterinary diagnosis investigation: official publication of the American association of veterinary laboratory diagnosticians.*, 2011, 23,84-86.
- **Van Schaik G., Schukken Y.H., Nielen M., Dijkhuizen A.A., Benedictus G.** Risk factors for introduction of BHV1 into BHV1-free Dutch dairy farms: A case-control study. *Veterinary Quarterly.*, 2001, 23, 71-76.
- **Van Schaik G., Dijkhuizen A.A., Huirne R.B.M., Schukken Y.H., Nielen M., Hage H.J.** Risk factors for existence of bovine herpes virus 1 antibodies on nonvaccinating Dutch dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 1998, 34, 125–136.
- **Vanderplasschen A., Bublot M., Bubuisson J., Pastoret P.P., Thiry E.** Attachment of the gammaherpesvirus bovine herpesvirus 4 is mediated by the interaction of gp8 glycoprotein with heparinlike moieties on the cell surface. *Virology.*, 1993, 196, 232-240.
- **Vanderplasschen A., Goltz M., Lyaku J., Benarafa C., Buhk H.J., Thiry E.** The replication in vitro of the gammaherpesvirus bovine herpesvirus is restricted by its DNA synthesis dependence on the S phase of the cycle. *Virology.*, 1995, 213, 328-340.
- **Vieira S. S Vieira, de Brito W., Souza W.J.** Anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (bhv-1) em bovinos do estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira.*, 2003, 4, 131-137.
- **Vilcek S.** Secondary structure of the 5'-noncoding region of border disease virus genome RNAs. *Vet Med (Praha).*,1997,42(5),125-8.
- **Vilcek S., Urkovi B., Kolesárová M., Greiser-Wilke I., Paton D.** Genetic diversity of international bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates: identification of a new BVDV-1 genetic group, *Veterinary Research.*, 2004, 35, 609–615.
- **Vilcek S., Ridpath J.F., Van Campen H., Cavender J.L., Warg J.** Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope. *Virus Research.*,2005,108, 187–193.
- **Vilcek S., Nettleton P. F.** Pestiviruses in wild animals. *Veterinary Microbiology.*, 2006, 116, 1-12.
- **Vonk Noordegraaf A, Buijtel JA, Dijkhuizen AA, Franken P, Stegeman JA, Verhoeff J.** An epidemiological and economic simulation model to evaluate the spread and control of infectious bovine rhinotracheitis in The Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine.*, 1998, 36(3), 219-38.
- **Vonk Noordegraaf A.V., Jalvingh A.W., De Jong M.C., Franken P., Dijkhuizen A.A.** Evaluating control strategies for outbreaks in BHV1-free areas using stochastic and spatial simulation. *Preventive Veterinary Medicine.*,2000, 44, 21-42.
- **Vonk Noordegraaf A., Labrovic A., Frankena K., Pfeiffer D.U., Nielen M.** Simulated hazards of losing infection-free status in a Dutch BHV1 model. *Preventive veterinary medicine.*,2004, 62, 51-8.
- **Van Wuijckhuise L., Bosch J., Franken P., Frankena K., Elbers A.R.W.** Epidemiological characteristics of bovine herpesvirus 1 infections determined by bulk milk testing of all Dutch dairy herds. *Veterinary Record.*, 1998, 142, 181–184.
- **Wafula J.S., Mushi E.Z., Wamwayi H.** Reaction of goats to infection with infectious 924 bovine rhinotracheitis virus. *Research in Veterinary Science.*, 1985, 39, 84-86.
- **Waldner C.L.** Serological status for N. caninum, bovine viral diarrhoea virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. *Animal Reproduction Science.*, 2005, 90, 219-242.

- **Wang C., Splitter G.A.** CD4+ Cytotoxic T-Lymphocyte Activity against Macrophages Pulsed with Bovine Herpesvirus 1 Polypeptides. *Journal of Virology.*, 1998, 72, 7040-7047.
- **Warrener P., Collett M.S.** Pestivirus NS3 protein possesses RNA helicase activity. *Journal of virology.*, 1995, p. 1720-1726.
- **Weber F., Wagner V., Rasmussen S.B., Hartmann R., Paludan S.R.** Double-stranded RNA is produced by positive-strand RNA viruses and DNA viruses but not in detectable amounts by negative-strand RNA viruses. *Journal of Virology.*, 2006, 80, 5059–5064.
- **Weiblen R., Kreutz L.C., Canabarro T.F., Schusc L.F., Rebelatto M.C.** Isolation of bovine herpesvirus 1 from preputial swabs and semen of bulls with balanoposthitis. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation.*, 1992, 43, 341-343.
- **Weiland E., Ahl R., Stark R., Weiland F., Thiel H.J.** A second envelope glycoprotein mediates neutralization of a pestivirus, hog cholera virus. *Journal of Virology.*, 1992, 66, 3677e82.
- **Weiland F., Weiland E., Unger G., Saalmuller A., Thiel H.J.** Localization of pestiviral envelope proteins E(rns) and E2 at the cell surface and on isolated particles. *Journal of General Virology.*, 1999, 80, 1157e65.
- **Weiskircher E., Aligo J., Ning G., Konan K.V.** Bovine viral diarrhea virus NS4B protein is an integral membrane protein associated with Golgi markers and rearranged host membranes. *Virology Journal.*, 2009, 6, 185.
- **Wellemans G., Vanopdenbosch E., Oudewater J.** Isolement d'un virus BHV1 dans le sperme de deux taureaux séropositifs. *Annals de Médecine Vétérinaire.*, 1993, 137, 119-120.
- **Wellemans G., Van Opdenbosch E., Mammerickx M.** Experimental inoculation of bovine herpesvirus 4 (strain LVR 140) in pregnant and nonpregnant cows. *Annals of veterinary research* ., 1986, 17, 89-94.
- **Wellenberg G.J., Van Rooij E.M.A., Maissan J., Van Oirschot J.T.** Evaluation of a newly developed immunoperoxidase monolayer assays for detection of antibodies against bovine herpesvirus 4. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.*, 1999, 6, 447-451.
- **Wellenberg G.J., Mars M.H., Van Oirschot.** Antibodies against bovine herpesvirus (BHV) 5 may be differentiated from antibodies against BHV1 in a BHV1 glycoprotein E blocking ELISA. *Veterinary Microbiology.*, 2001, 78, 79-84.
- **Wellenberg G.J., Van Der Poel W.H.M., Van Oirschot J.T.** Viral infections and bovine mastitis : a review. *Veterinary Microbiology.*, 2002, 88, 24-45.
- **Wentink G.H., Van Oirschot J.T., Verhoeff.** Risk of Infection with Bovine Herpesvirus 1 (BHV1) : a review. *Veterinary Quarterly.*, 1993, 15, 30-33.
- **Whetstone C.A., Evermann J.F.** Characterization of bovine herpesviruses isolated from six sheep and four goats by restriction endonuclease analysis and radioimmunoprecipitation. *American Journal of Veterinary Research.*, 1988, 49, 781-785.
- **Wild P., Schraner E.M., Peter J., Loepfe E., Engels M.** Novel entry pathway of bovine herpesvirus 1 and 5. *Journal of Virology.*, 1998, 72(12), 9561-6.
- **Windisch J.M., Schneider R., Stark R., Weiland E., Meyers G., Thiel H.J.** RNase of classical swine fever virus: biochemical characterization and inhibition by virus-neutralizing monoclonal antibodies. *Journal of Virology.*, 1996, 70, 352e8.
- **Winkler M.T., Schang L.S., Doster A., Holt T., Jones C.** Analysis of cyclins in trigeminal ganglia of calves infected with bovine herpesvirus-1. *Journal of General Virology.*, 2000, 81, 2993–2998.
- **Winkler M.T.C., Doster A., Sur J.H., Jones C.** Analysis of bovine trigeminal ganglia following infection with bovine herpesvirus 1. *Veterinary Microbiology.*, 2002, 86 (1-2), 139-155.

- **Woldemeskel M., Kebede E., Yigezu L., Potgieter L.N.** Prevalence of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine herpesvirus-4 (BHV-4) in cattle from Ethiopia. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 2000, 107, 464-466.
- **Woodard L.** BVD virus associated with outbreaks of abortion, stillbirths, and weak calves. *Veterinary Medicine*, 1994, 89, 379-84.
- **Xue F., Zhu Y.M., Li J., Zhu L.C., Ren X.G., Feng J.K.** Genotyping of bovine viral diarrhoea viruses from cattle in China between 2005 and 2008. *Veterinary Microbiology*, 2010, 143 (2-4), 379-383.
- **Yamane D., Kato K., Tohya Y., Akashi H.** The relationship between the viral RNA level and upregulation of innate immunity in spleen of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Microbiology*, 2008, 129, 69-79.
- **Yamini B., Mullaney T., Patterson J.S.** Causes of bovine abortion in North-Central United States: survey of 1618 cases (1983-2001). *The Bovine practitioner*, 2004, 38, 59-64.
- **Yan B.F.** Serological survey of bovine herpesvirus type 1 infection in China. *Veterinary Microbiology*, 2008, 127, 136-141.
- **Yates W.D.G.** A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1982, 46, 225-263.
- **Yavru S., Oztürk F., Simsek A., Yapkiç O., Yildiz C.** Isolation of Bovine Herpesvirus type 1 from bovine semen in Turkey. *Revue de Médecin Vétérinaire*, 2001, 152 (8/9), 633-636.
- **Yazici Z., Serdar M.S., Gumusova S.O., Albayrak H.** Molecular diagnosis and seroepidemiology of pestiviruses in sheep. *Veterinarski Arhiv*, 2012, 82, 35-45.
- **Yesilbag K., Bilge-Dagalp S.** Studies on herpesvirus infections of goats in Turkey: prevalence of antibodies to bovine herpesvirus 1. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2003, 152(12), 772-774.
- **Yildirim Y., Yilmaz V., Kalaycioğlu A.T., Dağalp S.B., Faraji Majarashin A.R., Çelebi,Ö., Akça.D.** An Investigation of A Possible Involvement of BVDV, BHV-1 and BHV-4 Infections in Abortion of Dairy Cattle in Kars District of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, 2011, 17 (6), 879-883.
- **Yin L., Schautteet K., Kalmar I.D., Bertels G., Van Driessche E., Czaplicki G., Borel N., Longbottom D., Frélin D., Dispas M., Vanrompay D.** Prevalence of Chlamydia abortus in Belgian ruminants *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 2014, 83.
- **Young N.J., Thomas C.J., Thompson I., Collins M.E., Brownlie J.** Immune responses to non-structural protein 3 (NS3) of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in NS3DNA vaccinated and naturally infected cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 2005, 72, 115-20.
- **Youngquist R.S., Threlfall W.R., Walter R.** Current therapy in large animal, *Theriogenology* 2. 2nd Edition, Paris : Lavoisier, 2007, 1061.
- **Yu H., Isken O., Grassmann C.W., Behrens S.E.** A stem-loop motif formed by the immediate 5' terminus of the bovine viral diarrhoea virus genome modulates translation as well as replication of the viral RNA. *Journal of Virology*, 2000, 74, 5825-35.
- **Zhong W., Gutshall L.L., Del Vecchio A.M.** Identification and characterization of an RNA-dependent RNA polymerase activity within the nonstructural protein 5B region of bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Virology*, 1998, 72:9365-9.
- **Zimmer G. M., Van Maanen C., De Goey I., Brinkhof J., Wentink G. H.** The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples. *Veterinary Microbiology*, 2004, 100, 145-149.

- **Zimmermann W., Broll H., Ehlers B., Buhk H., Rosenthal A., Goltz M.** Genome sequence of bovine herpesvirus-4, a bovine Rhadinovirus, and identification of an origin of DNA replication. *Journal of Virology.*, 2001, 75, 1186-1194.

ANNEXES

Annexe 1

Questionnaire épidémiologique destiné aux éleveurs bovins

Les informations concernant l'exploitation

*** Commune :**

*** Type de production ?**

☐ Viandeuse

☐ Laitière

☐ Mixte

☐ Allaitant

*** Mode d'élevage ?**

☐ Extensif

☐ Semi-extensif

☐ Intensif

*** Taille du troupeau ?**

☐ ≤10

☐ >10

*** Présence de petits ruminants ?**

☐ Oui

☐ Non

*** État d'hygiène général de l'exploitation ?**

☐ Bon

☐ Moyen

☐ Mauvais

*** Mode de reproduction ?**

☐ Naturelle

☐ Artificielle

*** L'isolement des animaux nouvellement acquis ?**

☐ Oui

☐ Non

*** Pâturage en commun avec d'autres troupeaux ?**

☐ Oui

☐ Non

Informations sur l'animal prélevé

*Numéro de l'animal prélevé s'il existe :.....

*Race :.....

*Age :.....

*Source de la vache ?

☐ Née dans la ferme

☐ Achetée

*Gestante ?

☐ Oui

☐ Non

Si gestante ?

☐ Primipare

☐ Multipare

*Le mois de gestation.....

*Avortement ?

☐ A déjà avorté

☐ Jamais avorté

*Stade de gestation au moment de l'avortement ?

☐ Entre 1-3mois

☐ Entre 3-6mois

☐ Entre 6-9mois

Annexe 2.

BIO-X TROUSSE ELISA AVORTEMENT

Trousse pour le diagnostic sérologique chez le bovin des virus BoHV-1 (IBR/IPV), BVDV, BHV-4 par la méthode ELISA

Test indirect pour sérums sanguins

I. Introduction.

Déterminer la cause d'un avortement chez le bovin est une tâche en général assez difficile. La plupart du temps, cet avortement est la conséquence d'un événement qui est survenu des semaines, voire des mois plus tôt. Très souvent, le fœtus est maintenu dans l'utérus des heures et parfois même des jours après sa mort. Lorsqu'il est enfin évacué, il a subi des lésions d'autolyse telles qu'il est difficile de le soumettre à une quelconque analyse. Il faut encore ajouter que de nombreuses causes d'avortement chez le bovin restent encore inconnues à l'heure actuelle. Par ailleurs, certains agents sont trop rarement recherchés parce qu'ils sont difficiles ou dangereux à manipuler (*Coxiella burnetii*, *Chlamydia psittaci* ..). Les agents pathogènes

directement ou indirectement responsables d'avortements sont par ailleurs nombreux et variés, ce qui complique bien évidemment le diagnostic. Pour ne citer que les principaux agents responsables d'avortements et sans chercher à être exhaustifs, on peut retrouver des virus (BoHV-1, BVDV, BHV-4), des bactéries (*Brucella abortus*, *Corynebacterium pyogenes*, colibacille, streptocoque, *Coxiella burnetii*, *Leptospira hardjo*, *Ureaplasma diversum*, *Campylobacter foetus*, *Borrelia coriaceae*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Chlamydia psittaci*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* et *Haemophilus somnus*), des parasites (*Distoma hepatica*, *Trichomonas*, *Sarcocystis*, *Neospora*), des champignons (*Aspergillus fumigatus*, *Mortierella wolfii*, ainsi que les genres *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*) et des levures du genre *Candida*.

La trousse ELISA Avortement de Bio-X ne reprend à l'heure actuelle, que les 3 valences virales, c'est-à-dire le virus de la diarrhée bovine (BVDV), le virus BHV-4 et le virus de la rhinotrachéite infectieuse (BoHV-1). Cette trousse vise à mettre en évidence l'existence de séroconversions vis-à-vis des 3 virus cités, chez le bétail adulte, c'est-à-dire chez la bête qui a avorté mais surtout chez les autres animaux du troupeau, idéalement 10 % du cheptel ou de l'étable. En effet, au moment où l'avortement survient, le titre sérique de la mère a très fréquemment, déjà atteint son maximum et il n'est dès lors plus possible de mettre en évidence de séroconversion. Il est donc préférable de tester les autres animaux du troupeau de manière à vérifier que l'infection suspectée est toujours bien active au sein du troupeau. Si plusieurs animaux font une séroconversion franche vis-à-vis d'un des trois agents pathogènes de la trousse, on pourra attribuer la cause de l'avortement à cet agent.

II. Principe du test.

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par les 3 agents pathogènes recherchés. La répartition des agents pathogènes sur la microplaque est la suivante : Lignes A et E : BoHV-1, Lignes B et F : BVDV, Lignes C et G : BHV-4, Lignes D et H : témoin négatif.

Les lignes D et H contiennent un lysat de cellules rénales bovines, lignée qui a servi de substrat pour la multiplication des virus. On dispose de la sorte d'un témoin négatif véritable qui permet de différencier les anticorps spécifiques des anticorps dirigés contre des déterminants antigéniques des cellules rénales qui ont servi à la multiplication virale. L'utilisation d'un tel témoin permet de limiter dans des proportions importantes les résultats faussement positifs.

Les sérums sanguins sont dilués dans le tampon de dilution. Après incubation et lavage de la préparation, on ajoute le conjugué, un anticorps monoclonal spécifique des IgG1 bovines couplé à la peroxydase. A l'issue d'une seconde incubation d'une heure à 21°C +/- 3°C et d'un second lavage, on ajoute la solution de révélation (TMB monocomposant). Ce chromogène présente le double avantage d'être plus sensible que les autres chromogènes de la peroxydase et de ne pas être cancérigène. En cas de présence d'immunoglobulines spécifiques dans les sérums testés, le conjugué reste fixé sur la cupule correspondante et l'enzyme catalyse la transformation du chromogène incolore en un produit bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la teneur en anticorps spécifiques présents dans l'échantillon. Le signal enregistré sur la cupule négative sensibilisée par les cellules rénales de bovin est retranché du signal des cupules positives sensibilisées par les 3 antigènes viraux. Il est possible d'attribuer à ces échantillons un niveau de positivité compris entre 0 et +++++.

III - Composition de la trousse.

- Microplaques : 2 microplaques de 96 puits. La répartition des antigènes est représentée sur le schéma suivant.

Ligne A: BoHV-1

Ligne B: BVDV

Ligne C : BHV-4

Ligne D : témoin négatif

Ligne E : BoHV-1

Ligne F : BVDV

Ligne G : BHV-4

Ligne H : témoin négatif

Solution de lavage : 1 flacon de solution de lavage concentrée 20 fois. La solution cristallise spontanément à froid. En cas d'utilisation partielle, amener le flacon à 21°C +/- 3°C jusqu'à disparition complète des cristaux, mélanger la solution et prélever le volume nécessaire. Diluer 20 fois le tampon dans de l'eau distillée ou déminéralisée. Stocker la solution diluée entre +2°C et +8°C.

Tampon de dilution : 1 flacon de tampon de dilution concentré 5 fois. Le contenu du flacon est à diluer dans de l'eau distillée ou déminéralisée. Cette solution est utilisée pour la dilution des sérums sanguins et du conjugué. En cas d'apparition d'un dépôt dans le fond du récipient, filtrer la solution sur un filtre en papier de type Whatman.

Conjugué : 1 flacon de conjugué anti-immunoglobulines de bovin couplé à la peroxydase (anticorps monoclonal anti-IgG1 bovines couplé à la peroxydase de raifort).

Sérum positif : 1 flacon contenant le sérum positif. Reconstituer ce sérum avec 0,5 ml d'eau distillée ou déminéralisée. Après reconstitution, le sérum se conserve à -20°C. Répartir ce réactif en plusieurs fractions avant de le congeler afin d'éviter les cycles de congélation-décongélation. Si ces précautions sont respectées, le réactif peut être conservé plusieurs mois.

Solution de TMB Monocomposant : 1 flacon de chromogène TMB (tétraméthylbenzidine). Ce réactif se conserve entre +2°C et +8°C. À l'abri de la lumière. Il est prêt à l'emploi.

Solution d'arrêt : 1 flacon de solution d'arrêt contenant de l'acide phosphorique (H₃PO₄) 1 M.

	BIO K 072/2
Microplaques	2
Solution de lavage	1 X 100 ml (20 X)
Tampon de dilution	1 X 50 ml (5 X)
Conjugué	1 X 0,5 ml (50 X)
Sérum positif	1 X 0,5 ml (1 X) lyophilisé
Solution TMB mono-composant	1 X 25 ml (1 X)
Solution d'arrêt	1 X 15 ml (1 X)

IV- Matériel supplémentaire et équipements requis

Eau distillée, cylindres gradués, Berlins, tubes en plastic, portoir pour tubes, pointes, réservoir à réactifs pour pipettes multicanaux, couvercle, adhésif pour microplaques, pipettes automatiques graduées (mono et multicanaux), lecteur de microplaque, laveur et agitateur de microplaques (optionnel).

V - Précautions d'utilisation.

- Ce test ne peut être utilisé que pour un diagnostic "in vitro" et il est à usage strictement vétérinaire.
- Les réactifs doivent être conservés entre +2°C et +8°C. Le sérum de contrôle doit après reconstitution être conservé à -20°C. Les réactifs ne peuvent être garantis si leur date de péremption est dépassée et/ou s'ils n'ont pas été conservés dans les conditions décrites dans cette notice.
- La solution de lavage et le tampon de dilution concentrés peuvent être stockés à température ambiante. Après dilution, ces solutions ont une stabilité de 6 semaines entre +2°C et +8°C.
- Les barrettes non utilisées doivent être stockées immédiatement dans l'enveloppe d'aluminium en veillant à conserver le dessicant bien sec et en fermant hermétiquement l'enveloppe. Si ces précautions sont scrupuleusement respectées, il est possible de préserver l'activité des barrettes jusqu'à la date de péremption de la trousse.

- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres trousse.
- Il est important de veiller à la qualité de l'eau utilisée pour préparer les diverses solutions de la trousse. Ainsi, il ne faut pas utiliser d'eau susceptible de contenir des agents oxydants (hypochlorite de soude) ou des sels de métaux lourds car ils pourraient réagir avec le chromogène.
- Ecarter les solutions contaminées par des bactéries ou des champignons.
- La solution d'arrêt contient de l'acide phosphorique 1 M. Manipuler ce produit avec prudence.
- Le matériel utilisé qui a été en contact avec les échantillons doit être considéré comme potentiellement infectieux et être éliminé en respectant la législation en vigueur du pays.
- Pour garantir la fiabilité des résultats, il importe de respecter parfaitement le protocole. On veillera particulièrement à respecter les temps et les températures d'incubation ainsi que la précision des volumes et des dilutions.

VI. Mode opératoire.

- 1- Amener l'ensemble des réactifs à 21°C +/- 3°C avant utilisation.
- 2- Retirer la microplaque de son emballage.
- 3- Distribuer 1 ml de tampon de dilution, préparé suivant les modalités décrites au chapitre "composition de la trousse", dans des tubes à hémolyse de 5 ou de 10 ml. Ajouter dans chacun de ces tubes 10 µl des échantillons sériques et agiter brièvement sur un agitateur mécanique. Procéder de la même manière pour le sérum positif.
- 4- Distribuer les échantillons dilués au 1/100 à raison de 100 µl par puits en respectant la disposition suivante : sérum de référence positif dans les 4 puits A, B, C, D de la colonne 1, échantillon 1 dans les 4 puits E, F, G, H de la colonne 1, échantillon 2 dans les 4 puits A, B, C, D de la colonne 2 etc... Incuber la plaque à 21°C +/- 3°C durant une heure. Utiliser un couvercle.
- 5- Rincer la plaque à l'aide de la solution de lavage préparée selon les modalités définies au chapitre "composition de la trousse". Pour ce faire, éliminer le contenu de la microplaque en la retournant vigoureusement au-dessus d'un évier. Egoutter la microplaque à l'envers sur une feuille de papier absorbant propre de manière à bien éliminer tout le liquide. A l'aide d'une pissette ou par immersion dans un récipient de dimension adéquate, remplir les cupules utilisées avec la solution de lavage puis vider à nouveau la plaque par retournement au-dessus d'un évier. Répéter deux fois toute l'opération en évitant tout particulièrement la formation de bulles dans les cupules. A l'issue de ces 3 lavages, passer au point suivant. L'utilisation d'un laveur de plaques (automatique ou manuel) est également conseillée. Il est cependant nécessaire de régler

la profondeur d'immersion des aiguilles de manière à ne pas altérer la couche de réactifs adsorbés sur le fond des puits.

6- Diluer au 1/50 le conjugué dans le tampon de dilution (par exemple pour une plaque, diluer 250 µl de la solution mère de conjugué dans 12,25 ml de solution de dilution). Distribuer la solution diluée de conjugué à raison de 100 µl par puits. Incuber 1 heure à 21°C +/- 3°C. Utiliser un couvercle.

7- Laver la plaque comme décrit au point 5.

8- Distribuer le révélateur sur la microplaque à raison de 100 µl par puits. La solution de révélateur doit être parfaitement incolore lors de la distribution sur la plaque. Si une coloration bleue devait être visible, cela indiquerait une contamination de la solution ou de la pipette.

9- Incuber 10 minutes à 21°C +/- 3°C. à l'obscurité et sans couvrir. Ce temps n'est donné qu'à titre indicatif car dans certaines circonstances, il pourra être utile de l'allonger ou de le raccourcir.

10- Distribuer la solution d'arrêt à raison de 50 µl par puits.

11- Enregistrer les densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre pour plaques en utilisant un filtre de 450 nm. Les résultats doivent être enregistrés le plus rapidement possible après l'application de la solution d'arrêt. En effet, en cas de signal élevé, le chromogène peut cristalliser et conduire à des mesures erronées.

VII. Interprétation des résultats

Pour chaque échantillon, calculer la densité optique nette en déduisant de chaque résultat obtenu pour les puits des lignes A, B et C, la densité optique du témoin correspondant (ligne D) et pour les puits des lignes E, F et G, la densité optique du témoin correspondant (ligne H). Noter les résultats obtenus (Delta D.O.). Pour effectuer ce calcul, tenir compte de l'existence éventuelle de valeurs négatives. Procéder à la même opération pour le sérum positif de référence. Le test ne peut être validé que si le sérum positif fournit des différences de densité optique en dix minutes supérieures aux valeurs suivantes :

BoHV-1: 1,000

BVDV : 0,600

BHV-4 : 0,800

Diviser chaque valeur obtenue par la valeur correspondante obtenue avec le sérum positif et multiplier ce résultat par 100 pour l'exprimer sous la forme d'un pourcentage.

$$\text{Val} = \frac{\text{Delta DO éch} * 100}{\text{Delta DO pos}}$$

En utilisant le tableau ci-dessous, pour déterminer le niveau de positivité des sérums.

	0		+		++		+++		++++		+++++
BoHV-1	Val ≤	20 %	< Val ≤	45 %	< Val ≤	60 %	< Val ≤	85 %	< Val ≤	110 %	< Val
BVDV	Val ≤	37 %	< Val ≤	74 %	< Val ≤	111 %	< Val ≤	148 %	< Val ≤	185 %	< Val
BHV-4	Val ≤	27 %	< Val ≤	54 %	< Val ≤	81 %	< Val ≤	108 %	< Val ≤	135 %	< Val

Seule la mise en évidence d'une séroconversion franche réalisée à partir de deux échantillons sériques couplés prélevés à 2-3 semaines d'intervalle peut fournir un diagnostic fiable. Le premier prélèvement devra être effectué durant la phase aiguë de l'affection. On considère qu'il y a séroconversion franche lorsqu'il y a un accroissement du signal de 2 croix (par exemple : ++ -> ++++ ou + -> +++).

Un échantillon doit être considéré comme positif s'il fournit un résultat supérieur ou égal à une croix (+).

