



# INFECTIONS CROISÉES À ALPHAHERPÈSVIRUS CHEZ LES RUMINANTS : APPLICATION AU CONTRÔLE DE LA RHINOTRACHÉITE INFECTIEUSE BOVINE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2003  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Hervé, Max, Louis CASSARD**  
Né, le 15 novembre 1977 à LILLE (Nord)

---

**Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Gilles MEYER**

---

**JURY**

PRESIDENT :  
**M. Jacques IZOPET**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :  
**M. Gilles MEYER**  
**M. François SCHELCHER**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	<b>P. DESNOYERS</b>
Directeurs honoraires.....	: M.	<b>R. FLORIO</b>
	M.	<b>J. FERNEY</b>
	M.	<b>G. VAN HAVERBEKE</b>
Professeurs honoraires.....	: M.	<b>A. BRIZARD</b>
	M.	<b>L. FALIU</b>
	M.	<b>C. LABIE</b>
	M.	<b>C. PAVAUX</b>
	M.	<b>F. LESCURE</b>
	M.	<b>A. RICO</b>
	M.	<b>A. CAZIEUX</b>
	Mme	<b>V. BURGAT</b>
	M.	<b>D. GRIESS</b>

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **CHANTAL Jean**, *Pathologie infectieuse*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **GUELFY Jean-François**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **EECKHOUTTE Michel**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**PROFESSEURS 2<sup>e</sup> CLASSE**

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

**PROFESSEUR ASSOCIE**

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*

**INGENIEUR DE RECHERCHES**

- M. **TAMZALI Youssef**, *Clinique équine*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*  
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAITRE DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**MAITRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mlle **CADIERGUES Christelle**, *Dermatologie*  
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*  
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*  
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la reproduction*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*  
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*  
M. **VALARCHER Jean-François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

**MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS**

- M. **DESMAIZIERES Louis-Marie**, *Clinique équine*  
M. **LEON Olivier**, *Elevage et santé en productions avicoles et porcines*

**MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE**

- M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie chirurgicale*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

**A Notre Jury de thèse :**

**A Monsieur le Professeur IZOPET**

Professeur des universités

Praticien hospitalier

Bactériologie-Virologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse

Hommages respectueux

**A Monsieur le Docteur MEYER**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie des Ruminants

Qui nous a soutenu patiemment pendant la réalisation de cette thèse. Qu'il trouve ici le témoignage de notre sincère reconnaissance

**A Monsieur le Professeur SCHELCHER**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie des Ruminants

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse. Qui a éveillé en nous le goût de la médecine bovine, qu'il trouve ici le témoignage de notre sincère gratitude et de notre profond respect



A mes parents  
Qui m'ont aimé et soutenu durant toutes ces années

A mes sœurs,  
Pour la complicité qui nous lie

A ma grand-mère,  
Pour son affection

A Mylène,  
Mon rayon de soleil, tout mon amour

A Baldak, Fabien, Max, Pat, Titi, Tony, Daubi  
La *dream team* de ces six années d'école

A Phiphine, Domi, Petra, et Sophie  
Pour tous les bons moments passés ensemble

A Stéphane et Julie, Vincent, Sandrine et Maxime, Didier, Nico  
Pour leur amitié inébranlable malgré la distance qui nous sépare





A mes grands parents, trop tôt disparus



# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>17</b>
<b>PREMIERE PARTIE : HERPESVIRUS BOVIN DE TYPE 1 ET ALPHAHERPESVIRUS APPARENTES .....</b>	<b>19</b>
<b>1/ CLASSIFICATION .....</b>	<b>21</b>
1.1/ FAMILLE DES <i>HERPESVIRIDAE</i> .....	21
<b>2/ HISTORIQUE .....</b>	<b>23</b>
2.1/ L'HERPESVIRUS BOVIN DE TYPE 1 (BHV-1).....	23
2.2/ L'HERPESVIRUS BOVIN DE TYPE 5 (BHV-5).....	24
2.3/ L'HERPESVIRUS CAPRIN DE TYPE 1 (CAPHV-1) .....	25
2.4/ L'HERPESVIRUS DU CERF (CERHV-1) .....	25
2.5/ L'HERPESVIRUS DU RENNE (RANHV-1) .....	27
<b>3/ STRUCTURE DU VIRION .....</b>	<b>27</b>
<b>4/ GENOME.....</b>	<b>29</b>
4.1/ ORGANISATION GENOMIQUE.....	29
4.1.1/ Organisation générale.....	29
4.1.2/ Profils et cartes de restriction .....	29
4.1.2.1/ Principe .....	29
4.1.2.2/ Application aux alphaherpèsvirus des ruminants .....	30
4.1.3/ Séquençage.....	31
4.2/ COMPARAISON DES GENOMES DU BHV-1 ET DES ALPHAHERPESVIRUS APPARENTES.....	31
4.2.1/ Grâce aux profils et cartes de restriction.....	31
4.2.2/ Grâce au séquençage.....	33
<b>5/ CYCLE DE MULTIPLICATION VIRALE .....</b>	<b>35</b>
<b>6/ GLYCOPROTEINES VIRALES .....</b>	<b>37</b>
<b>7/ PATHOGENIE.....</b>	<b>39</b>
7.1/ PRIMO-INFECTION.....	39
7.1.1/ Pénétration dans l'organisme .....	39
7.1.2/ Dissémination dans l'organisme .....	39
7.1.2.1/ Virémie .....	39
7.1.2.2/ Voie neuronale .....	40
7.1.2.3/ Transmission de cellule à cellule .....	40
7.1.3/ Manifestations cliniques.....	41
7.1.3.1/ L' infection par le BHV-1 .....	41
7.1.3.2/ La méningo-encéphalite à BHV-5 .....	42
7.1.3.3/ L'infection par le CapHV-1 .....	43
7.1.3.4/ La conjonctivite herpétique du cerf .....	44
7.1.3.5/ L'infection par le RanHV-1 .....	44
7.2/ LATENCE .....	44

7.3/ REACTIVATION ET REEXCRETION VIRALES .....	45
<b>8/ REPONSE IMMUNITAIRE DE L'HOTE .....</b>	<b>47</b>
8.1/ REPONSE NON SPECIFIQUE .....	47
8.2/ REPONSE CELLULAIRE .....	48
8.3/ REPONSE HUMORALE.....	48
<b>DEUXIEME PARTIE : LE CONTROLE DE L'IBR.....</b>	<b>51</b>
<b>1/ ENJEUX ET OBJECTIFS DU CONTROLE DE L'IBR .....</b>	<b>53</b>
1.1/ ENJEUX.....	53
1.2/ OBJECTIFS .....	53
<b>2/ LE DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE DE L'IBR.....</b>	<b>54</b>
2.1/ DIAGNOSTIC DIRECT.....	54
2.1.1/ Prélèvements .....	54
2.1.1.1/ Sur animal vivant .....	54
2.1.1.2/ Sur animal mort .....	54
2.1.2/ Techniques .....	55
2.1.2.1/ Recherche des antigènes viraux .....	55
2.1.2.2/ Isolement viral sur cultures cellulaires .....	56
2.1.2.3/ PCR.....	56
2.2/ DIAGNOSTIC INDIRECT.....	56
2.2.1/ Prélèvements .....	56
2.2.2/ Techniques .....	56
2.2.2.1/ Le test de séroneutralisation .....	56
2.2.2.2/ Les tests ELISA .....	57
2.2.2.3/ Les autres tests .....	59
2.2.3/ Comparaison des performances des tests sérologiques.....	59
2.2.3.1/ Spécificité .....	59
2.2.3.2/ Sensibilité.....	59
<b>3/ VACCINATION.....</b>	<b>61</b>
3.1/ LES DIFFERENTS TYPES DE VACCINS DISPONIBLES .....	61
3.1.1/ Les vaccins conventionnels.....	61
3.1.2/ Les vaccins marqués .....	62
3.1.3/ Les vaccins de troisième génération .....	62
3.1.3.1/ Les vaccins sous-unitaires .....	62
3.1.3.2/ Les vaccins recombinants .....	62
3.1.3.3/ Le transfert de gènes <i>in vivo</i> .....	63
3.2/ PROTOCOLES DE VACCINATION .....	63
3.2.1/ Objectifs de la vaccination .....	63
3.2.2/ Protocole classique.....	65
3.2.3/ Protocole de vaccinations répétées.....	65
<b>4/ PREVALENCE DE L'INFECTION PAR LE BHV-1 ET STRATEGIES DE CONTROLE DE L'IBR.....</b>	<b>67</b>
4.1/ SITUATION AU SEIN DE L'UNION EUROPEENNE.....	67
4.1.1/ Pays à prévalence nulle ou très faible .....	67
4.1.2/ Pays à prévalence moyenne .....	69

4.1.3/ Pays à forte prévalence.....	71
4.2/ SITUATION EN FRANCE .....	73
4.2.1/ Prévalence .....	73
4.2.2/ Système de certification des cheptels.....	75
<b>TROISIEME PARTIE : INFECTIONS CROISEES A ALPHAHERPESVIRUS CHEZ LES RUMINANTS ET CONSEQUENCES SUR LES PLANS DE CONTROLE DE L'IBR.....</b>	<b>77</b>
<b>1/ PROBLEMATIQUE.....</b>	<b>79</b>
<b>2/ MISE EN EVIDENCE DE RELATIONS ANTIGENIQUES ENTRE LES ALPHAHERPESVIRUS DES RUMINANTS .....</b>	<b>79</b>
2.1/ GRACE AUX TESTS DE SERONEUTRALISATION CROISEE.....	79
2.2/ GRACE AUX TESTS ELISA.....	83
<b>3/ LE PROJET FAIR1-PL95-0316.....</b>	<b>83</b>
3.1/ OBJECTIFS .....	83
3.2.1/ Protocole d'infection et de réactivation .....	85
3.2.2/ Prélèvements .....	85
3.2.2.1/ Ecouvillons nasaux .....	85
3.2.2.2/ Prélèvements sanguins .....	85
3.2.2.3/ Prélèvements post-mortem .....	85
3.2/ RESULTATS.....	87
3.2.1/ Infection des bovins par les alphaherpèsvirus apparentés au BHV-1 .....	87
3.2.1.1/ BHV-5.....	87
3.2.1.2/ Alphaherpèsvirus hétérologues.....	87
3.2.2/ Infection des autres espèces de ruminants par le BHV-1 .....	89
3.2.2.1/ Primo-infection .....	89
3.2.2.2/ Réactivation virale .....	89
3.3/ DISCUSSION.....	91
3.3.1/ Mise en évidence d'espèces réservoirs de BHV-1 .....	91
3.3.2/ Existence de bovins infectés par des alphaherpèsvirus hétérologues .....	92
3.3.3/ Conséquences sur les plans de contrôle de l'IBR .....	92
3.3.3.1/ Dépistage des ovins et caprins infectés par le BHV-1 .....	92
3.3.3.2/ Dépistage des bovins infectés par le BHV-5, le CapHV-1 ou le RanHV-1 .....	92
3.3.3.3/ Mise au point de tests spécifiques.....	93
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>94</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>97</b>



# TABLE DES ILLUSTRATIONS

## TABLEAUX

Tableau 1 : herpèsvirus dont les hôtes naturels sont des ruminants [38,141].....	22
Tableau 2: caractéristiques génomiques du BHV-1, BHV-5, CapHV-1 et RanHV-1 .....	28
Tableaux 3 et 4: % de similarité entre les différentes séquences obtenues pour le gène codant pour gB et gD [112] .....	32
Tableau 5 : Caractéristiques et fonctions des glycoprotéines du BHV-1 [119].....	36
Tableau 6: Interprétation qualitative des tests sérologiques dépistant les anticorps anti-BHV-1 [63] .....	58
Tableau 7: Table de contingence décrivant les différents effectifs d'un échantillon de population selon les critères de présence ou d'absence d'infection et de réaction positive ou négative à un test sérologique [63].....	58
Tableau 8: avantages et inconvénients des vaccins inactivés et atténués utilisés contre l'IBR [79] .....	60
Tableau 9 : objectifs de la vaccination selon le statut sérologique de l'animal [139] .....	63
Tableau 10: Protocole de vaccinations répétées appliqué dans le cadre d'un plan de lutte contre l'IBR [139] .....	64
Tableau 11: Protocole de vaccinations répétées appliqué dans le cadre d'un plan de lutte contre l'IBR à l'aide de vaccins marqués [139].....	64
Tableau 12: modalités de dépistage des animaux infectés par le BHV-1 lors du plan d'éradication suédois.....	66
Tableau 13: résultats des enquêtes sérologiques réalisées en Styrie entre 1995 et 1997 [54].	66
Tableau 14: Résultats des enquêtes épidémiologiques organisées en 1990-1991 dans la province italienne de Bolzano [157] .....	69
Tableau 15: résultats des enquêtes épidémiologiques menées en 1999 dans les régions portugaises <i>Entre-Douro et Minho</i> [5].....	69
Tableau 16: Evolution de la prévalence de bovins séropositifs envers le BHV-1 en Belgique [63] .....	71
Tableau 17: Résultats des enquêtes épidémiologiques réalisées aux Pays-Bas.....	73
Tableau 18: Modalités d'acquisition et de maintien de l'appellation A [30] .....	74



Tableau 19 : Modalités d'acquisition et de maintien de l'appellation B [30].....	74
BHV-1 .....	80
Tableau 20: résultats des tests de séroneutralisations entre le BHV-1, le CapHV-1 et le RanHV-1 [107].....	80
Tableau 21: résultats des tests de séroneutralisation (log de l'index de neutralisation)entre le BHV-1, souches Cooper et Oxford, le CapHV-1 et le CerHV-1 [69] .....	80
Tableau 22: résultats des tests ELISA (unités de DO) pour les sérums de référence du BHV-1, CapHV-1 et du CerHV-1 (sérums dilués au 1/100) [87] .....	82
Tableau 23 : protocoles expérimentaux utilisés lors du projet FAIR1-PL95-0316 .....	84
Tableau 24: résultats obtenus après infection de bovins par les alphaherpèsvirus apparentés au BHV-1 [131] .....	86
Tableau 25: résultats obtenus après infection de moutons, de chèvres, de cerfs et de rennes avec du BHV-1 [131] .....	90

## **FIGURES**

Figure 1: Morphologie des herpèsvirus : représentation schématique de la particule virale[75]. .....	26
Figure 2 : représentation schématique du génome du BHV-1 [63] .....	28
Figure 3 : arbre phylogénétique illustrant les relations possibles entre les génomes du BHV-1, du BHV-5 (=BEHV), du CapHV-1 et du BuHV-1 [19] .....	33
Figure 4: arbre phylogénétique illustrant les relations entre BHV-1, BHV-5, CapHV-1, CerHV-1 et RanHV-1 [112].....	34
Figure 5: Cycle de multiplication virale des alphaherpèsvirus [104] .....	34
Figure 6: Réponse immune au cours d'une infection par le BHV-1 [28].....	46
Figure 7: programme volontaire de certification IBR proposé au ministère de l'agriculture portugais [5] .....	70
Figure 8: Taux de prévalence apparent de l'IBR dans les cheptels laitiers français contrôlés par lait de grand mélange [105].....	72
Figure 9: taux de prévalence apparent de l'IBR dans les cheptels allaitants ou mixtes français contrôlés par sérologie de mélange [105] .....	72
Figure 10: résultats obtenus avec la technique PCR/Analyse de restriction enzymatique [112] .....	94

# INTRODUCTION

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est une maladie contagieuse causée par l'herpèsvirus bovin de type 1 (BHV-1). Actuellement, les foyers cliniques d'IBR sont devenus rares mais le contrôle de cette infection est l'objet d'enjeux commerciaux majeurs en Europe. En effet, désormais, les pays officiellement indemnes d'IBR réclament des garanties sanitaires additionnelles lors de l'importation de bovins et, pour faire face, de nombreux autres états ont entamé des programmes de lutte contre cette maladie.

L'application d'un plan de contrôle ou d'éradication de l'IBR passe obligatoirement par le dépistage des bovins infectés de manière latente par le BHV-1 grâce à des tests sérologiques mettant en évidence les anticorps dirigés contre ce virus. Or, quatre alphaherpèsvirus partagent des caractéristiques génétiques et antigéniques communes avec le BHV-1 : l'herpèsvirus bovin de type 5 (BHV-5), l'herpèsvirus caprin de type 1 (CapHV-1), l'herpèsvirus du cerf (CerHV-1) et l'herpèsvirus du renne (RanHV-1). L'existence d'infections croisées entre ces espèces de ruminants pourrait donc d'une part compromettre la spécificité des tests utilisés en faisant apparaître des individus faux positifs et, d'autre part, aboutir à la création d'espèces réservoirs de BHV-1.

Après avoir rappelé les caractéristiques des alphaherpèsvirus des ruminants, nous consacrerons un chapitre au contrôle de l'IBR puis nous concluons en évaluant l'impact des infections croisées sur les plans de lutte contre le BHV-1 grâce à la synthèse des résultats obtenus lors d'inoculations expérimentales.



**PREMIERE PARTIE : HERPESVIRUS BOVIN DE  
TYPE 1 ET ALPHAHERPESVIRUS APPARENTES**



# 1/ Classification

## 1.1/ Famille des *Herpesviridae*

La famille des *Herpesviridae* regroupe plus d'une centaine de virus capables d'infecter des hôtes aussi divers que des mollusques, des poissons, des amphibiens, des reptiles, des oiseaux et des mammifères [109].

Les herpesvirus partagent quatre propriétés biologiques :

- ils possèdent leur propre machinerie enzymatique intervenant dans le métabolisme des acides nucléiques ( thymidine kinase, thymidilate synthétase, dUTPase, ADN polymérase, hélicase, etc.) et dans la modification de protéines ( protéase, protéine kinase, etc.).
- la synthèse d'ADN viral et l'assemblage de la capside ont lieu à l'intérieur du noyau de la cellule infectée.
- la production de particules virales infectieuses s'accompagne toujours de la destruction de la cellule infectée.
- tous les herpesvirus étudiés à ce jour sont capables de se maintenir à l'état latent chez leur hôte naturel.

La famille des *Herpesviridae* est divisée en trois sous-familles désignées *Alpha-*, *Bêta-* et *Gammaherpesvirinae*. A l'origine, cette classification s'appuyait sur des critères biologiques tels que l'étendue du spectre d'hôtes, la vitesse de multiplication *in vitro* et le site de latence *in vivo*. Elle se complète actuellement de critères moléculaires plus objectifs tels que la structure du génome viral, la présence ainsi que la disposition de gènes ou de blocs gènes spécifiques, l'arrangement des régions terminales impliquées dans l'encapsidation du génome viral ou encore la présence et la distribution des nucléotides cibles de la méthylation.

D'après les connaissances actuelles, de nombreuses espèces de ruminants, domestiques ou sauvages, sont les hôtes naturels d'alpha ou de gammaherpèsvirus [141](cf. tableau 1).

Virus	Hôte naturel	Maladies correspondantes
<b>Sous famille des <i>alphaherpesvirinae</i></b>		
Herpèsvirus bovin 1 (BHV-1)	Bovin	Rhinotrachéite infectieuse bovine, vulvovaginite infectieuse pustuleuse
Herpèsvirus bovin 2 (BHV-2)	Bovin	Thélie infectieuse bovine
Herpèsvirus bovin 5 (BHV-5)	Bovin	Encéphalite bovine
Herpèsvirus du cerf (CerHV-1)	Cerf élaphe ( <i>Cervus elaphus</i> )	Atteinte oculaire
Herpèsvirus du renne (RanHV-1)	Renne ( <i>Rangifer tarandus</i> )	Infection génitale subclinique
Herpèsvirus caprin (CapHV-1)	Chèvre	Vulvovaginite, balanoposthite, infection néonatale mortelle
Herpèsvirus du buffle	Buffle d'eau ( <i>Bubalus bubalis</i> )	Infection subclinique
Herpèsvirus de l'élan	Orignal ( <i>Alces alces americana</i> )	Infection génitale subclinique
Herpèsvirus ovin 1 (OHV-1)	Mouton	Isolé de cas d'adénomatose pulmonaire, dont l'agent causal est un rétrovirus
<b>Sous-famille des <i>gammaherpesvirinae</i></b>		
Herpèsvirus bovin 4 (BHV-4)	Bovin	Vulvovaginite, métrite post-partum, avortement, infections subcliniques
Herpèsvirus lymphotrope bovin (BLHV)	Bovin	Isolé de cellules de lymphome
Herpèsvirus caprin 2 (CapHV-2)	Chèvre	Infection subclinique
Herpèsvirus ovin 2 (OHV-2)	Mouton	Infection subclinique chez le mouton. Coryza gangreneux forme européenne chez le bovin
Herpèsvirus des alcélapinés 1 (AHV-1)	Gnou bleu ( <i>Connochaetes taurinus</i> ), gnou noir <sup>a</sup> ( <i>Connochaetes gnu</i> )	Infection subclinique chez le gnou. Coryza gangreneux forme africaine chez le bovin
Herpèsvirus des alcélapinés 2 (AHV-2)	Bubale ( <i>Alcelaphus buselaphus</i> )	Infection subclinique chez le bubale. Coryza gangreneux atypique, infection non fatale chez le bovin
Herpèsvirus des alcélapinés 3 (AHV-3)	Antilope topi ( <i>Damaliscus korrigum</i> )	Infection subclinique chez l'antilope topi. Coryza gangreneux atypique, infection non fatale chez le bovin
Herpèsvirus des hippotraginés	Antilope chevaline ( <i>Hippotragus equinus</i> )	Infection subclinique
Herpèsvirus du cerf de Virginie	Cerf de Virginie ( <i>Odocoileus virginianus</i> )	Coryza gangreneux chez le cerf de Virginie

<sup>a</sup> le gnou noir est cité comme espèce réservoir du AHV-1 par Schelcher *et al.*[117].

**Tableau 1** : herpèsvirus dont les hôtes naturels sont des ruminants [38,141]

## 1.2/ Sous-famille des *alphaherpesvirinae*.

*In vitro*, les alphaherpèsvirus présentent un cycle de réplication court, un spectre d'hôte large, une dispersion rapide en culture de cellules et provoquent une lyse efficace des cellules infectées.

*In vivo*, ils sont capables de se maintenir à l'état latent, principalement, mais pas exclusivement, dans les ganglions sensoriels innervant la région où a lieu l'infection primaire.

Le BHV-1, le BHV-5, le CapHV-1, le CerHV-1 et le RanHV-1 appartiennent à cette sous-famille dont le prototype est l'herpèsvirus simplex de type 1 (HSV-1) et qui comprend, entre autres, le virus de la varicelle et du zona ainsi que le virus de la maladie d'Aujesky chez le porc [109].

## 2/ Historique

### 2.1/ L'herpèsvirus bovin de type 1 (BHV-1)

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 même maladie a été décrite pour la première fois aux Etats unis en 1895 [94]. Son étiologie virale est démontrée en 1928 par Reisinger et Reinmann, qui transmettent la maladie par filtrat [42] et l'isolement du virus est réalisé 30 ans plus tard.

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) a été décrite pour la première fois dans les années 1950 [78,118] comme une maladie affectant le tractus respiratoire du bétail dans les unités d'engraissement de l'Ouest des Etats Unis. L'isolement du virus responsable date de 1956 [68] et son identité antigénique avec celui isolé des cas d'IPV a été rapidement démontrée [71]. Il fut dans un premier temps appelé *Bovid herpesvirus 1* [94] puis fut renommé *Bovine herpesvirus 1* [109]. Par la suite, sur la base de profils de restriction enzymatiques, les souches de BHV-1 ont été classées en deux 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 [34].



Selon certains, les modifications de conduite d'élevage survenues aux Etats-unis suite à l'intensification des unités d'engraissement auraient créé des conditions favorables pour l'émergence de la forme respiratoire de la maladie [94]. De nos jours, le BHV-1 est mondialement répandu mais les foyers cliniques d'IBR sont rares.

## 2.2/ L'herpèsvirus bovin de type 5 (BHV-5)

L'histoire de la découverte du BHV-5 est étroitement liée à celle du BHV-1. En effet, à partir du mois de décembre 1960, plusieurs épisodes d'encéphalite ont été recensés à travers le monde. Les premiers cas décrits ont eu lieu dans un élevage du Queensland, en Australie, qui abritait une centaine de veaux de boucherie. En l'espace de 6 semaines, 50 veaux, âgés de 4 à 5 mois pour la plupart, sont morts de méningo-encéphalite. Un seul animal a réussi à se rétablir après avoir eu des symptômes nerveux [50]. D'autres épidémies de ce type ont été décrits dans d'autres élevages australiens [41,47] ainsi qu'en Argentine [21,22], aux Etats-Unis [10,29] et en Hongrie [11].

Dans la plupart des cas, l'agent causal fut identifié, d'après son effet cytopathogène, par séroneutralisation, et par immunofluorescence, comme étant du BHV-1 [4,7,76]. Afin de les distinguer des souches respiratoires et génitales, ces souches encéphalitogènes furent regroupées dans le sous type 3 du BHV-1 et certains auteurs adoptèrent le terme de *bovine encephalitis herpesvirus* pour désigner ce type de virus[125]. Dans les années 1980 et 1990, le développement des techniques de biologie moléculaire a permis de découvrir qu'il existait des différences entre la plupart des souches encéphalitogènes et les souches classiques, notamment au niveau du génome [17,19,29,35,101] et des protéines virales [12,25]. L'ensemble de ces critères distinctifs a permis, dès 1992, la constitution d'une nouvelle espèce virale, le BHV-5 [109].

Finalement, toutes les souches isolées en Australie et en Argentine étaient du BHV-5, ainsi que la majorité de celles isolées aux Etats-Unis [29] et en Hongrie [11]. Il faut cependant noter que le BHV-1 est responsable d'une épidémie d'encéphalite aux Etats-Unis [10] et de plusieurs cas sporadiques aux Etats-Unis en Hongrie, en Belgique et en Allemagne. Enfin, de nombreuses souches virales isolées en Ecosse [152], en Syrie, au Japon et aux Etats-Unis n'ont pas encore été typées [75,76].

Actuellement, seuls les élevages extensifs brésiliens et argentins sont encore victimes de grandes épidémies de méningo-encéphalites dues au BHV-5 [75].

### **2.3/ L'herpèsvirus caprin de type 1 (CapHV-1)**

En 1972, suite à l'introduction de 12 nouveaux animaux, une maladie contagieuse se déclara dans un troupeau de 38 chèvres de race Alpine situé en Californie. Durant le seul mois de juin, 20 chevreaux succombèrent suite à des symptômes évoquant une entérite. L'autopsie de 4 d'entre eux permit d'isoler un nouvel herpèsvirus à partir de prélèvements de foie, de rate, de poumon et de moelle osseuse [116]. Le même virus fut ensuite isolé en Suisse, chez des chevreaux morts d'une infection généralisée ainsi qu'en Australie et en Nouvelle Zélande chez des adultes présentant une vulvovaginite ou une balanoposthite [43,48,126,127]. On le retrouva également en Norvège, chez un bouc et une chèvre apparemment en bonne santé [55], en Nouvelle-Zélande, chez des chèvres mortes de pneumonie [18] et aux Etats-Unis, dans des cas d'avortements [156] et peut être chez deux chèvres présentant des symptômes respiratoires [80].

Par ailleurs, des enquêtes sérologiques ont mis en évidence la présence de l'infection sous forme subclinique dans de nombreux pays tels que l'Italie, l'Espagne, la Grèce [55], l'Irlande du nord, l'Allemagne, la Suisse, la Norvège, la Syrie, la Turquie et la Nouvelle-Zélande [56].

Ce nouveau virus classé dans la famille des Herpesviridae sous l'appellation *bovid herpesvirus 6* puis *caprine herpesvirus 2* changea de nom quelques années plus tard pour devenir le *caprine herpesvirus 1* [109].

### **2.4/ L'herpèsvirus du cerf (CerHV-1)**

En 1982, en Ecosse, une maladie oculaire contagieuse fit son apparition dans un élevage de cerfs. Sur un total de 80 faons, 50 à 60 furent atteints à des degrés divers. Des écouvillons nasaux et oculaires réalisés sur les animaux malades permirent d'isoler un herpèsvirus [49]. Ce virus fut d'abord appelé *Cervid herpesvirus 1* puis fut renommé *Cervine herpesvirus 1* [109].

En 1983, 7 autres foyers de la maladie se déclarèrent suite à une vente publique de cerfs. Exceptés 7 faons, tous les animaux atteints provenaient de l'élevage touché l'année précédente [85]. Depuis, aucun autre foyer n'a été officiellement déclaré [53].

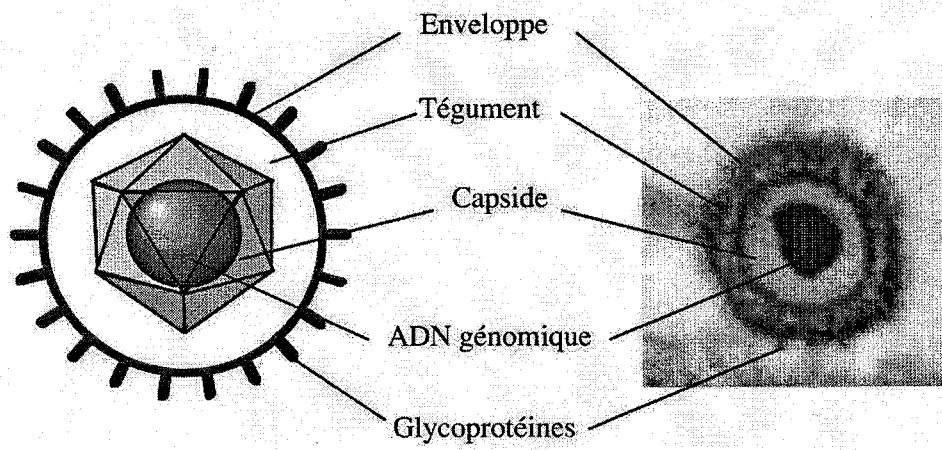


Figure 1: Morphologie des herpèsvirus : représentation schématique de la particule virale[75].

D'autre part, une enquête sérologique réalisée entre août 1983 et avril 1984 a révélé que 29 % des cerfs de Grande-Bretagne possédaient des anticorps dirigés contre le CerHV-1 [85].

Pourtant, aucune épidémie sévère n'a, jusqu'à présent, été identifiée chez des cerfs sauvages. Il est donc probable que l'intensification de l'élevage de cerfs, en rassemblant un grand nombre d'animaux d'origines différentes, a contribué à créer des conditions favorables pour l'émergence de la maladie [53].

## 2.5/ L'herpèsvirus du renne (RanHV-1)

En 1982, une situation originale a été décrite en Finlande, où, malgré des contacts fréquents, 23 % des rennes étaient séropositifs envers le BHV-1, alors que tous les bovins étaient séronégatifs. Cette observation a d'abord été expliquée par le fait que les rennes traversaient les frontières russe et norvégienne et qu'ainsi, ils pouvaient être en contact avec des bovins infectés [32]. Par la suite, il a été prouvé que les rennes possédaient en fait des anticorps dirigés contre un herpèsvirus apparenté au BHV-1 dont ils étaient porteurs [33]. Ces anticorps avaient réagi avec le BHV-1 lors du test de séroneutralisation utilisé pour l'enquête épidémiologique.

Ce nouvel herpèsvirus, spécifique du renne, fut d'abord nommé *Cervid herpesvirus 2* avant de devenir le *Rangiferine herpesvirus 1* [109].

## 3/ Structure du virion

Les virions du BHV-1, du BHV-5, du CapHV-1, du CerHV-1 et du RanHV-1 présentent une structure caractéristique des herpèsvirus [109]. Celle-ci comprend:

- une nucléocapside de symétrie icosaédrique composée de 162 capsomères (150 hexamères et 12 pentamères) dans laquelle se trouve l'ADN génomique bicaténaire.
- le tégment, une substance amorphe de nature protéique, situé entre la nucléocapside et l'enveloppe.
- une enveloppe phospholipidique dans laquelle sont ancrées des glycoprotéines qui forment des projections en surface.

En microscopie électronique, la particule virale apparaît sphérique (cf. figure 1). Son diamètre est variable selon l'espèce virale mais reste compris entre 120 et 300 nm environ.

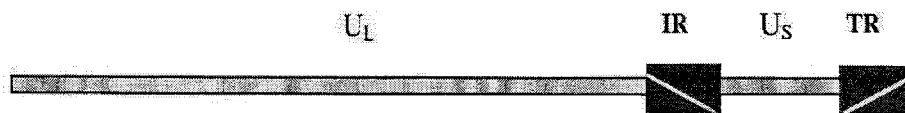


Figure 2 : représentation schématique du génome du BHV-1 [63]

(U<sub>L</sub> : unité longue ; U<sub>S</sub> : unité courte ; IR et TR : séquences répétées terminales et internes)

Espèce virale	Taille du virion (nm)	Génome		Références
		Taille en kpb	% G+C	
BHV-1	150-250	136-140	71-72	[92,109,119]
BHV-5	150-250	136-140	74-75	[19,35,109]
CapHV-1	145-150	130-150	-	[13,36]
RanHV-1	100-220	132	-	[107]

Tableau 2: caractéristiques génomiques du BHV-1, BHV-5, CapHV-1 et RanHV-1

## 4/ Génome

### 4.1/ Organisation génomique

#### 4.1.1/ Organisation générale

Le génome des herpesvirus est constitué d'un double brin d'ADN linéaire qui se circularise immédiatement après sa séparation de la capsidie et la pénétration dans le noyau de la cellule infectée. Sa taille peut varier d'environ 120 à 230 kpb, selon l'espèce virale [109].

Sur la base de l'organisation des séquences nucléotidiques constituant l'ADN, les génomes des membres de la famille *Herpesviridae* ont été classés en six groupes désignés par les lettres A à F. Les génomes du BHV-1 et de tous les alphaherpesvirus qui lui sont apparentés appartiennent au groupe D. Ils sont composés d'une unité longue ( $U_L$ ) et d'une unité courte ( $U_S$ ) flanquée de deux séquences répétées inverses (IR et TR ; cf. figure 2). Des variations de taille de l'ADN pouvant aller jusqu'à 10 kpb entre différents isolats du même virus sont fréquentes et sont le reflet du nombre de séquences répétées internes et terminales présentes dans le génome [109].

L'ADN des herpesvirus est composé de 31 à 75 % de bases G+C, cette proportion étant particulièrement élevée chez les alphaherpesvirus [109].

Les caractéristiques génomiques du BHV-1, BHV-5, CapHV-1, et RanHV-1 sont résumées dans le tableau 2 (aucune donnée concernant le CerHV-1 n'est disponible dans la littérature).

#### 4.1.2/ Profils et cartes de restriction

##### 4.1.2.1/ Principe

Les enzymes de restriction sont des endonucléases de type II capables de reconnaître et de cliver une séquence spécifique de quelques nucléotides dans l'ADN double brin. Les fragments d'ADN ainsi obtenus sont appelés fragments de restriction. Ces derniers peuvent ensuite être séparés par électrophorèse en gel d'agarose ; on obtient ainsi un profil de restriction enzymatique. En outre, en comparant la taille des fragments produits après digestion par diverses endonucléases, il est possible de localiser les sites de restriction de chaque enzyme au sein de la molécule d'ADN et d'établir ainsi une carte de restriction reflétant l'arrangement des séquences nucléotidiques [4].

#### 4.1.2.2/ Application aux alphaherpèsvirus des ruminants

Au sein d'une même espèce virale, les profils et les cartes de restriction peuvent varier légèrement selon les souches utilisées.

La digestion du génome des souches de BHV-1 par *EcoRI*, *BamHI* et *HindIII* permet de distinguer deux sous-types appelés BHV-1.1 et BHV-1.2. L'ADN des souches de type BHV-1.1 possède un profil électrophorétique semblable à celui de la souche virale de référence Cooper. Ce sous-type comprend la plupart des souches isolées du tractus respiratoire. L'ADN des souches de type BHV-1.2 possède un profil électrophorétique semblable à celui de la souche virale de référence K22. Ce deuxième sous-type comprend la majorité des isolats génitaux [34,134]. En comparant la position des sites de restriction et grâce à des techniques d'hybridation, l'homologie entre les génomes du BHV-1.1 et du BHV-1.2 a été estimée à plus de 95 % [19].

Rétrospectivement, on s'est d'ailleurs aperçu qu'il existait une cassure dans le génotype des souches de BHV-1 isolées dans la population bovine, associée à un changement correspondant dans la forme de la maladie. Ainsi, une étude exhaustive des souches isolées en Grande-Bretagne a démontré que, dans les années soixante, durant lesquelles l'IPV était prédominante, seules des souches de BHV-1.2 étaient isolées. A partir de 1977, suite à l'apparition de l'IBR, les souches de BHV-1.1 devinrent majoritaires. Cependant, l'association génotype/forme de la maladie correspondante n'est pas systématique puisque les souches de BHV-1.2 ont été isolées à la fois de cas respiratoires et génitaux [31]. En outre, certains auteurs n'ont pas réussi à différencier les profils de restriction de souches respiratoires et génitales [17,107].

Le profil de restriction enzymatique *BstEII* du BHV-5 permet la distinction entre la souche australienne N569 et la souche argentine A663. La souche A663 est en effet caractérisée par la perte d'un site de restriction. Une subdivision du BHV-5 en sous-types 1 et 2 a ainsi été proposée mais n'est pas appliquée en pratique [35].

Une étude rétrospective de toutes les souches de BHV-5 isolées en Argentine entre 1989 et 1994 a démontré que leurs profils de restriction *EcoRI*, *BamHI*, *PstI* et *HindIII* étaient identiques à ceux de la souche A663 [101].

La comparaison des profils de restriction *EcoRI*, *HpaI*, *BamHI* et *HindIII* de 3 isolats australiens de BHV-5 a montré que, bien qu'extrêmement proches, les 2 souches isolées dans

le Queensland (souche N569) étaient légèrement différente de la souche provenant d'Australie occidentale [17].

Quant aux isolats texans, ils semblent plus proches de la souche N569 que de la souche A663 [29].

Les isolats génitaux et intestinaux de CapHV-1 sont différenciables grâce à l'utilisation de *BstEII* et *HpaI*. De plus, la comparaison des profils de restriction *EcoRI*, *HpaI*, *PstI*, *XhoI* et *BstEII* de souches norvégiennes, suisses et néo-zélandaises a permis d'évaluer leur pourcentage d'homologie génétique à 95 % [107].

#### **4.1.3/ Séquençage**

Un projet de collaboration internationale a permis le séquençage complet du génome du BHV-1, principalement à partir de la souche Cooper. Celui-ci est composé de 67 gènes uniques répartis entre l'unité longue et l'unité courte, et de 2 gènes dupliqués dans les régions IR et TR [119].

Seuls cinq gènes du BHV-5 ont été entièrement séquencés. Ils codent respectivement pour la thymidine kinase et les glycoprotéines gB, gC, gD, gG et gH [75].

Les gènes codant pour les glycoprotéines gB et gD du CapHV-1, du CerHV-1 et du RanHV-1 ont été partiellement séquencés [112,114].

## **4.2/ Comparaison des génomes du BHV-1 et des alphaherpèsvirus apparentés**

### **4.2.1/ Grâce aux profils et cartes de restriction**

De nombreuses endonucléases de restriction ont été utilisées pour différencier BHV-1, BHV-5, CapHV-1, CerHV-1 et RanHV-1 ainsi que pour évaluer le degré d'homologie existant entre les génomes de ces virus [17,19,35,36,142,143].

L'utilisation d'enzymes tels que *EcoRI*, *BamHI*, *KpnI*, *HpaI*, *BstEII*, *BglIII* et *Hind III* permet de différencier BHV-1, BHV-5, CapHV-1 et BuHV-1 [17,19]. En outre, la comparaison de leurs cartes de restriction a permis d'élaborer un arbre phylogénétique schématisant les relations entre ces 4 herpèsvirus (cf. figure 3).



**gB**

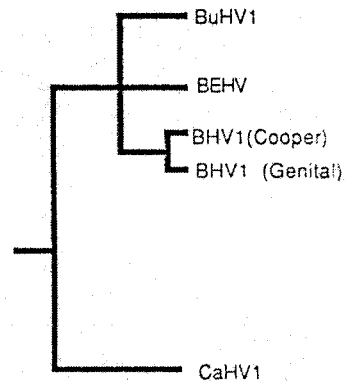
		Séquences nucléotidiques								
		1	2	3	4	5	6	7		
Séquences d'acides aminés	1		99.6	95.5	94.4	91.9	87.4	70.0	1	BHV-1.1
	2	100		95.9	94.9	92.3	87.2	70.4	2	BHV-1.2
	3	98.1	98.1		96.6	93.8	88.2	71.9	3	BHV-5
	4	94.8	94.8	95.5		95.3	87.8	71.7	4	CerHV-1
	5	92.3	92.3	92.3	94.8		88.2	73.2	5	RanHV-1
	6	89.0	89.0	89.0	88.4	89.0		72.2	6	CapHV-1
	7	69.7	69.7	69.0	68.4	69.0	70.3		7	PrV
		1	2	3	4	5	6	7		

**gD**

		Séquences nucléotidiques								
		1	2	3	4	5	6	7		
Séquences d'acides aminés	1		98.9	90.7	88.8	77.1	72.1	53.1	1	BHV-1.1
	2	97.8		90.3	88.6	77.5	71.3	52.9	2	BHV-1.2
	3	90.5	88.8		91.1	80.3	73.9	53.5	3	BHV-5
	4	86.6	86.0	84.4		81.4	76.2	56.7	4	CerHV-1
	5	73.2	73.7	71.5	73.7		72.8	52.5	5	RanHV-1
	6	68.7	68.2	68.7	71.5	71.5		51.0	6	CapHV-1
	7	40.7	40.1	40.1	43.5	40.7	38.4		7	PrV
		1	2	3	4	5	6	7		

Tableaux 3 et 4: % de similarité entre les différentes séquences obtenues pour le gène codant pour gB et gD [112]

Cette représentation suppose d'une part que ces 4 virus ont un ancêtre commun et d'autre part que la divergence entre ces virus résulte davantage de mutations ponctuelles dans la séquence génomique que de délétions ou d'insertions de bases [19].



**Figure 3** : arbre phylogénétique illustrant les relations possibles entre les génomes du BHV-1, du BHV-5 (=BEHV), du CapHV-1 et du BuHV-1 [19]

L'utilisation d'*EcoRI*, *HpaI*, *BstEII*, *XhoI* et *PstI* permet de distinguer le RanHV-1 du BHV-1 et du CapHV-1 [107]. De même, la comparaison des profils de restriction obtenus avec *EcoRI*, *BamHI*, *BstEII* et *BglII* permet de différencier BHV-1, CapHV-1 et CerHV-1. En outre, *HindIII* est incapable de cliver les génomes du CerHV-1 et du RanHV-1 [143].

Grâce à des techniques d'hybridation et à la comparaison des cartes de restriction, le pourcentage d'homologie génétique entre le BHV-1 et le BHV-5 a été estimé à 85 % [35] alors qu'il n'est que de 50 à 80 % entre le BHV-1 et le CapHV-1 [36].

#### 4.2.2/ Grâce au séquençage

En 1999, Ros et Belak amplifient les régions du génome des cinq alphaherpèsvirus étudiés et du virus responsable de la maladie d'Aujesky (PrV) codant pour gB et gD par PCR (*Polymerase Chain reaction*). Ils procèdent ensuite au séquençage des produits d'amplification obtenus et en déduisent la série d'acides aminés correspondante. La comparaison des différentes séquences obtenues révèle un degré d'homologie élevé entre tous les virus étudiés, notamment pour le gène codant pour gB (cf. tableaux 3 et 4) [112].

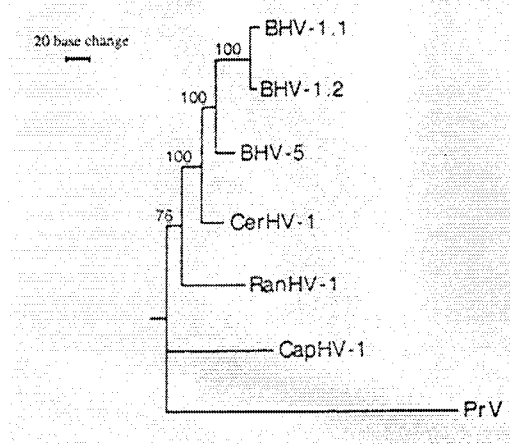


Figure 4: arbre phylogénétique illustrant les relations entre BHV-1, BHV-5, CapHV-1, CerHV-1 et RanHV-1 [112]

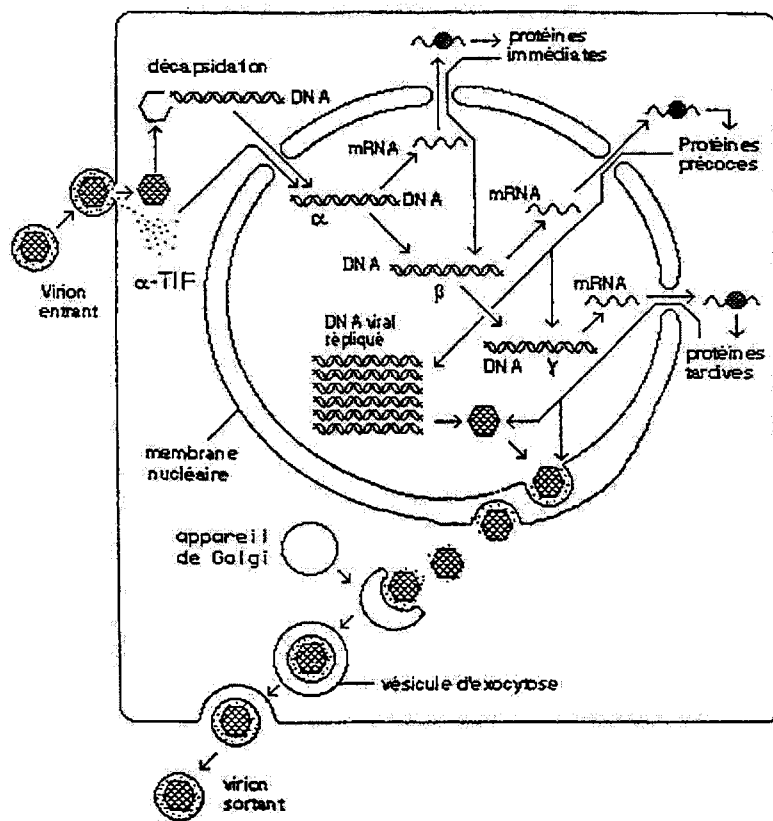


Figure 5: Cycle de multiplication virale des alphaherpèsvirus [104]

Ce travail a aussi permis d'établir un arbre phylogénétique pour ces 6 virus (cf. figure 4). Il apparaît que, parmi les alphaherpèsvirus des ruminants, le BHV-5 est le virus le plus étroitement apparenté au BHV-1 alors que le CapHV-1 est celui qui s'en distingue le plus. Le CerHV-1 est plus proche du BHV-1 et du BHV-5 que le RanHV-1 et le CapHV-1. Le virus le plus proche du RanHV-1 est le CerHV-1. Ces résultats ont par la suite été confirmés lors d'une étude portant uniquement sur gB et incluant l'herpèsvirus du buffle [114].

D'autre part, une étude néo-zélandaise similaire, n'incluant pas le BHV-5 a montré des résultats comparables pour les autres virus. A partir du séquençage du gène gD du CerHV-1, elle a en plus prouvé qu'il existait 99.7 % d'homologie génétique entre les souches néo-zélandaises et européennes de ce virus [143].

## 5/ Cycle de multiplication virale

La majorité des études consacrées au cycle de multiplication virale des *alphaherpesvirinae* ont été menées à partir de l'HSV-1. Le cycle de réplication du BHV-1 et des virus qui lui sont apparentés est donc calqué sur ce modèle qui comprend 5 étapes :

- adsorption :

Les glycoprotéines d'enveloppe permettent l'attachement du virus aux récepteurs cellulaires.

- pénétration dans la cellule hôte :

L'enveloppe virale fusionne avec la membrane plasmique de la cellule hôte, libérant ainsi la nucléocapside et le tégment dans le cytoplasme.

- transcription-réplication de l'ADN :

La décapsidation s'effectue au niveau d'un pore nucléaire. Elle libère l'ADN viral dans le noyau, où débute la transcription des gènes viraux qui requiert la participation de l'ARN polymérase II cellulaire, sous le contrôle de facteurs viraux.

La synthèse des protéines virales s'effectue en cascade. On distingue trois types de protéines en fonction de leur ordre d'apparition dans la cellule infectée : les protéines précoces immédiates (« Immediate-Early », IE), les protéines précoces (« Early », E) et les protéines tardives (« Late », L). Les protéines IE sont des protéines de régulation, non structurales, qui vont induire la synthèse des protéines E et L tout en exerçant un rétrocontrôle négatif sur leur propre synthèse. Les protéines E sont impliquées dans la réplication du génome viral (thymidine kinase, ADN polymérase) et dans la transactivation des gènes tardifs. Quant aux

<b>Nom</b>	<b>Caractéristiques<sup>a</sup></b>	<b>Fonctions<sup>b</sup></b>	<b>Interactions</b>
<b>gB</b>	MM <sup>c</sup> : 130, 74, 55 kDa Forte immunogénicité	Essentielle Attachement, pénétration, propagation de cellule à cellule	
<b>gC</b>	MM: 91 kDa Forte immunogénicité	Non essentielle Attachement	(lie le facteur C3b du complément)
<b>gD</b>	MM: 71 kDa Forte immunogénicité	Essentielle Attachement, pénétration (reconnaissance de récepteurs cellulaires), propagation de cellule à cellule	
<b>gE</b>	MM: 92 kDa	Non essentielle Propagation de cellule à cellule	(gI, récepteur de la partie Fc des immunoglobulines)
<b>gG</b>	MM: 47 kDa	Non essentielle	
<b>gH</b>	MM: 108 kDa	Essentielle Fusion enveloppe virale/membrane plasmique Pénétration, propagation de cellule à cellule, (sortie du virus)	(gL)
<b>gI</b>	MM: (40 kDa)	Non essentielle Propagation de cellule à cellule	(gE, récepteur de la partie Fc des immunoglobulines)
<b>gK</b>	MM: (35 kDa)	(Essentielle) (Fusion des membranes)	
<b>gL</b>	MM: (17 kDa)	(Essentielle) (Pénétration, maturation de gH)	(gH)
<b>gM</b>	MM: (43 kDa)	(Non essentielle)	

<sup>a</sup> entre parenthèses : masse moléculaire prédite sur la base de la séquence nucléotidique.

<sup>b</sup> entre parenthèses : propriétés potentielles observées chez d'autres alphaherpèsvirus.

<sup>c</sup> MM : masse moléculaire apparente.

**Tableau 5** : Caractéristiques et fonctions des glycoprotéines du BHV-1 [119]

protéines L, ce sont des protéines structurales douées d'activité biologiques (glycoprotéines) ou régulatrice.

La transcription et la traduction des gènes IE et E ont lieu avant la réplication de l'ADN alors que la synthèse des protéines L ne s'effectue que lorsque la réplication a déjà commencé.

L'ADN viral est répliqué par un mécanisme de cercle roulant (« rolling circle »). Chaque unité génomique formée est alors clivée par une activité endonucléasique puis encapsidée.

- maturation :

Une fois synthétisées, les protéines de la nucléocapside s'assemblent à l'intérieur du noyau. Le bourgeonnement à travers le feuillet interne de la membrane nucléaire leur permet d'acquérir une enveloppe transitoire. Cette enveloppe fusionne ensuite avec le feuillet externe, libérant ainsi la nucléocapside dans le cytoplasme.

- libération du virus :

L'enveloppe définitive est acquise aux dépens des vésicules issues de l'appareil de Golgi. Le virus ainsi enveloppé subit ensuite l'exocytose après fusion de ces vésicules avec la membrane plasmique.

Le cycle de multiplication virale des alphaherpèsvirus se déroule généralement en moins de 20 heures. Ainsi, *in vitro*, l'expression d'antigènes viraux à la surface des cellules infectées par le BHV-1 a lieu dès la troisième heure post infection et l'on peut mettre en évidence la présence de particules virales néoformées dans les milieux intra et extracellulaire dès la septième et la huitième heure post infection respectivement [6].

## 6/ Glycoprotéines virales

Le génome du BHV-1 contient une dizaine de gènes codant pour des glycoprotéines d'enveloppe. La plupart de ces glycoprotéines ont une homologie structurale et fonctionnelle avec celles du HSV-1, ce qui leur vaut leur dénomination: gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL et gM [119].

Elles jouent un rôle important à divers stades du cycle de multiplication virale (cf. tableau 6):

- elles initient l'attachement sur le récepteur cellulaire et la pénétration du virus dans la cellule cible.
- elles participent à la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cytoplasmique lors de la pénétration du virus.

- elles sont impliquées dans l'enveloppement de la capside virale et dans la sortie du virus.
- elles favorisent la transmission virale de cellule à cellule, sans passage par le milieu extracellulaire.

Certaines glycoprotéines semblent être indispensables à la réalisation du cycle de multiplication virale ce qui permet un classement en deux catégories : les glycoprotéines essentielles et non essentielles. Un virus présentant une délétion dans un gène codant pour une glycoprotéine essentielle n'est pas viable. Les glycoprotéines essentielles sont : gB, gD, gH et vraisemblablement gL et gK. En revanche, une délétion dans un gène codant pour une glycoprotéine non essentielle n'affecte que d'une façon mineure la capacité de multiplication virale, *in vitro* [119].

Du fait de leur localisation, à la surface du virion, les glycoprotéines d'enveloppe apparaissent comme des cibles privilégiées du système immunitaire de l'hôte. Cependant, l'antigénicité des différentes glycoprotéines du BHV-1 est variable. Les glycoprotéines gB, gC et gD, très immunogènes, sont qualifiées de majeures alors que gE, gG, gH, gI, gK, gL et gM sont classées dans la catégorie des glycoprotéines mineures [9]. Cette distinction est importante pour la réalisation de vaccins dirigés contre le BHV-1. En outre, certaines glycoprotéines du BHV-1, par analogie avec le HSV-1, seraient capables d'interférer avec les mécanismes immunitaires de l'hôte. Ainsi, gE, seule ou en synergie avec gI, pourrait former un récepteur pour la fraction Fc des immunoglobulines et gC serait capable de s'attacher au facteur C3b du complément [38,119].

Chez les alphaherpèsvirus apparentés au BHV-1, gB et, dans une moindre mesure, gD sont relativement bien conservées alors que gC présente les divergences les plus importantes entre les différentes espèces virales [25,37,67,112].

Parmi les glycoprotéines mineures, seules gG et gH ont été clairement identifiées et caractérisées pour le BHV-5. La comparaison de ces deux glycoprotéines pour le BHV-1 et le BHV-5 a permis de montrer qu'elles possédaient respectivement 85 et 87% d'homologie dans leur séquence en acides aminés [75].

## **7/ Pathogénie**

La pathogénie du BHV-1 a été très bien décrite, contrairement à celle du BHV-5, CapHV-1, CerHV-1 et RanHV-1. Dans cette partie, nous adopterons donc le BHV-1 comme modèle, tout en donnant des indications sur les autres virus.

### **7.1/ Primo-infection**

#### **7.1.1/ Pénétration dans l'organisme**

Dans les conditions naturelles, les herpesvirus des ruminants se transmettent principalement par contact direct entre individus ou par l'intermédiaire d'aérosols.

Suite à une primo-infection, une étape de multiplication virale a lieu dans les cellules épithéliales de la muqueuse ayant servi de porte d'entrée. A ce stade, le virus est excrété à des titres élevés, ce qui permet la dissémination d'une grande quantité de particules virales dans l'environnement [38]. C'est la réponse immune spécifique de l'hôte qui provoquerait l'arrêt de l'excrétion primaire, en 1 à 2 semaines [6,38]. Le BHV-1 est ainsi excrété dans le mucus nasal à des titres variant de  $10^8$  à  $10^{10}$  DICT<sub>50</sub> par gramme de mucus pendant 10 à 16 jours, avec un pic d'excrétion entre le 4<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> jour post infection (à titre indicatif, la dose infectieuse chez les bovins se situe en deçà de  $10^2$  DICT<sub>50</sub>) [123].

#### **7.1.2/ Dissémination dans l'organisme**

La dissémination de l'infection par les herpesvirus emprunte trois voies différentes : le sang, le système nerveux et la transmission de cellule à cellule [94,95,97].

##### **7.1.2.1/ Virémie**

La phase de virémie est transitoire et peut être observée avant l'apparition d'anticorps spécifiques. Elle peut entraîner des localisations secondaires de l'infection dans de nombreux organes cibles et provoquer ainsi une grande variété de symptômes. Par exemple, dans le cas du BHV-1 et du CapHV-1, elle peut être responsable d'avortements, d'entérites et d'infections généralisées mortelles chez les nouveaux-nés non protégés par l'immunité colostrale [39,56,111,122,156]. La virémie n'a jamais été observée de manière formelle chez les bovins infectés par le BHV-5 mais elle a été mise en évidence de manière indirecte par isolement



viral à partir d'organes secondaires comme le rein, les surrénales et le tractus digestif après inoculation intranasale.[12].

Durant la phase de virémie, l'hypothèse de l'association des alphaherpèsvirus avec les lymphocytes semble être la plus probable [38].

#### 7.1.2.2/ Voie neuronale

Lors de la phase de multiplication, les herpèsvirus atteignent la terminaison des nerfs périphériques innervant le site initial d'infection et remontent par voie axonale rétrograde jusqu'au ganglion nerveux régional, siège de la latence [38].

Ce mode de dissémination permet d'expliquer le passage du BHV-5 de la muqueuse nasale à l'encéphale. En effet, il semble qu'une faible proportion de virus soit capable d'infecter directement les cellules olfactives et les terminaisons nerveuses du nerf maxillaire mais la grande majorité des virions effectue un cycle de multiplication dans des cellules de l'épithélium respiratoire pour envahir ensuite les terminaisons afférentes ou efférentes. Le BHV-5 utilise ensuite le transport intra-axonal et le passage de neurone à neurone *via* les membranes synaptiques pour envahir le système nerveux de l'hôte. Les premiers neurones infectés sont les cellules du ganglion trijumeau et les cellules olfactives de la muqueuse nasale. Le virus colonise ensuite l'ensemble du système nerveux central en empruntant les voies nerveuses trigéminées et olfactives. D'un point de vue chronologique, le BHV-5 peut être isolé du ganglion trijumeau 4 jours après l'inoculation intranasale puis on le retrouve dans tronc cérébral dès le 5<sup>ème</sup> jour et dans le cortex dès le 11<sup>ème</sup> jour [8].

#### 7.1.2.3/ Transmission de cellule à cellule

Le BHV-1 et les autres herpèsvirus des ruminants sont capables de se propager d'une cellule à l'autre, sans passer par le milieu extracellulaire. Cela leur permettrait d'être à l'abri du système immunitaire de l'hôte, ce qui pourrait jouer un rôle primordial lors de la réactivation d'un virus à l'état latent chez un individu immunisé [38].

En outre, cette voie de transmission pourrait jouer un rôle important dans le transfert local du BHV-5 au niveau du système nerveux central [76].

### 7.1.3/ Manifestations cliniques

#### 7.1.3.1/ L' infection par le BHV-1

##### a/ La rhinotrachéite infectieuse bovine [52,123,124]

La période d'incubation dure de 2 à 4 jours. Dans les formes cliniques classiques, les bovins infectés présentent ensuite de l'hyperthermie (parfois jusqu'à 42°C), deviennent anorexiques et toussent. Chez les vaches laitières, la production chute brutalement. Fréquemment, on observe du jetage nasal, séreux les premiers jours puis mucopurulent par la suite. Le muflle est sévèrement congestionné et un examen attentif permet de révéler la présence de foyers nécrotiques sur la muqueuse nasale. D'autres symptômes sont parfois rencontrés : hyperexcitabilité, conjonctivite, dyspnée, détresse respiratoire (due à l'obstruction des voies aériennes supérieures par des débris fibrino-purulents), hypersalivation. En l'absence de surinfection bactérienne, la mortalité est faible et les animaux récupèrent en quelques jours.

A l'autopsie, la muqueuse des voies respiratoires supérieures comportent des lésions nécrotico-hémorragiques : dépôts fibrino-purulents, fausses membranes nécrotico-diphthéroïdes recouvrant une muqueuse ulcérée ou fortement congestivo-hémorragique. Des lésions de broncho-pneumonie peuvent être associées à ce tableau lésionnel, notamment en cas de surinfection par *Mannheimia haemolytica* [123].

A l'heure actuelle, les foyers cliniques d'IBR sont rares. L'infection est souvent subclinique ou se manifeste par un syndrome grippal.

##### b/ La vulvovaginite et la balanoposthite pustuleuses infectieuses [52,123,124]

Lorsque l'intensité de la maladie est modérée, elle peut passer inaperçue. Dans les cas sévères, la vulve est oedématiée et des écoulements mucopurulents peuvent être observés. Parfois, la douleur est si intense que les vaches atteintes restent la queue levée. Un examen gynécologique permet de mettre en évidence une inflammation des muqueuses vulvaire et vaginale accompagnée de pustules ou de plaques nécrotiques blanchâtres. Le plancher du vagin est souvent recouvert d'un matériel mucopurulent malodorant.

Chez les mâles, l'infection par le BHV-1 peut se manifester par une balanoposthite dont les lésions rappellent celles observées lors d'IPV. Les surinfections bactériennes sont fréquentes et la cicatrisation entraîne parfois des complications de phimosis ou de paraphimosis.

De nos jours, ces formes génitales sont extrêmement rares.

#### c/ Les autres formes

Comme nous l'avons déjà vu, la virémie transitoire peut être à l'origine d'avortements, de mortalité néonatale et même d'entérites.

Le BHV-1 peut aussi provoquer des conjonctivites, des encéphalites et des métrites après césarienne [52,94,98,123].

#### 7.1.3.2/ La méningo-encéphalite à BHV-5

L'encéphalite à BHV-5 touche préférentiellement les veaux âgés de 2 à 10 mois, dépourvus d'anticorps dirigés contre le virus. Les symptômes sont essentiellement nerveux et plus épisodiquement respiratoires, selon la souche incriminée. De plus, l'expression clinique nerveuse peut être variable d'un animal à l'autre [7,11,21,22,50,74,76,77].

Une rhinite, de la conjonctivite, du jetage nasal et oculaire, ainsi qu'une phase d'hyperthermie modérée peuvent être observés en début d'évolution. Lors d'infections expérimentales, les animaux présentent, dès le 7<sup>ème</sup> jour, un abattement général, une anorexie, une hypersalivation et parfois une douleur abdominale qui peut devenir intense. Viennent ensuite les premiers troubles comportementaux, essentiellement caractérisés par de l'isolement, du piétinement, du bruxisme, des mâchonnements, une démarche chancelante (parfois circulaire) et des épisodes de pousser au mur. Une phase de dépression prononcée s'installe ensuite, entrecoupée de phases d'excitation durant lesquelles on peut observer du pédalage, des spasmes musculaires, ainsi que des mouvements violents de la tête. Dans ce cas, la maladie évolue toujours vers la mort de l'animal, trois à cinq jours après l'apparition des premiers symptômes nerveux [21,41,47,50,153].

Certains veaux n'entrent pas dans le cadre de ce tableau clinique général. Ils montrent simplement une phase de dépression prononcée avec de l'anorexie, un refus de s'abreuver, une ataxie et un arrêt de la rumination. Des symptômes respiratoires peuvent, là aussi, être observés. Ils se traduisent par de la dyspnée, un renforcement des bruits à l'auscultation pulmonaire et aboutissent à un état de détresse respiratoire. L'évolution de la maladie est dans ce cas plus longue mais l'issue est presque toujours fatale pour l'animal [76].

### 7.1.3.3/ L'infection par le CapHV-1

La forme la plus sévère touche les chevreaux âgés de 1 à 2 semaines, dépourvus d'immunité colostrale. Il s'agit d'une atteinte généralisée, reproductible expérimentalement par inoculation du virus par voie intraveineuse. Les chevreaux atteints sont abattus, anorexiques et présentent de l'hyperthermie. Des signes de coliques sont visibles et les matières fécales sont aqueuses, jaunâtres et parfois striées de sang. Ils présentent également du jetage nasal séreux à mucopurulent, de la dyspnée accompagnée de tachypnée, de la tachycardie et une cyanose des muqueuses. Des lésions ulcérotives buccales, nasales et cutanées ont aussi été décrites. La mort survient en 1 à 5 jours, précédée d'un état comateux. Le taux de létalité est proche de 100 % [14,56,91,116].

A l'autopsie, des lésions ulcérotives et nécrotiques sont réparties sur l'ensemble du tractus gastrointestinal [138]. A l'ouverture de la cage thoracique, de la pneumonie interstitielle peut être observée. Suite à une infection expérimentale, la présence de suffusions hémorragiques et de pétéchies a été signalée sur l'endocarde, la séreuse de la vésicule biliaire et la médulla rénale [91].

L'infection des adultes par le CapHV-1 se manifeste principalement au niveau de la sphère génitale. Chez les femelles, les signes cliniques rappellent ceux de la vulvovaginite infectieuse pustuleuse provoquée par le BHV-1. Les muqueuses vulvaires et vaginales sont érythémateuses et oedématisées. Des vésicules et des papules apparaissent et fusionnent pour former des ulcères. Ces lésions sont recouvertes d'un matériel fibrino-nécrotique et s'accompagnent d'écoulements vulvaires, parfois mucopurulents [43,48,129]. Chez les boucs, on peut observer une balanoposthite avec ulcères et éventuellement des écoulements prépuçiaux purulents. Généralement, la guérison s'effectue en 4 à 6 jours [126,127].

Le CapHV-1 est également responsable d'avortements. Ceux-ci se produisent durant la deuxième moitié de la gestation, la plupart survenant peu avant terme. Les avortons ne montrent pas de lésions macroscopiques mais l'examen histopathologique du foie, des poumons et de la rate permet de mettre en évidence des foyers de nécrose associés à des cellules présentant des corps d'inclusion intranucléaires [156].

Pour finir, un épisode de pneumonies associées au CapHV-1 et à *Mannheimia haemolytica* a été décrit chez des chèvres adultes. L'examen nécropsique a révélé des lésions de pneumonie alvéolaire, associés ou non à une pleurésie fibrineuse. Le rôle du CapHV-1 dans cet épisode n'est cependant pas clairement établi. En effet, seules 3 chèvres sur les 12 prélevées durant l'épidémie ont présenté une séroconversion vis à vis du virus [18].

#### 7.1.3.4/ La conjonctivite herpétique du cerf

Les cerfs infectés par le CerHV-1 sont en fait atteints d'un syndrome oculaire. Celui-ci est caractérisé par une conjonctivite, des écoulements oculaires mucopurulents, une tuméfaction modérée des tissus périorbitaires et un œdème marqué de la paupière supérieure. Une opacité cornéenne uniforme sans ulcère, de l'hypopion et de la photophobie sont également décrits. Ces symptômes oculaires sont souvent accompagnés de jetage nasal mucopurulent et, dans les cas les plus sévères, d'hyperthermie [49,53].

#### 7.1.3.5/ L'infection par le RanHV-1

L'infection des rennes par le RanHV-1 est asymptomatique [53].

### **7.2/ Latence**

D'un point de vue biologique, la latence est définie comme une infection virale persistante durant laquelle le génome viral est présent en l'absence de virus infectieux, à l'exception de certaines périodes de réactivation virale, au cours desquelles le virus infectieux est produit [94,136]. Pendant la période de latence, le génome viral est présent sous la forme de molécules circulaires et seule une faible proportion de gènes est exprimée [108,109]. Au sein de l'organisme hôte, les sièges de latence sont des ganglions nerveux : ganglions trijumeaux lors d'infection par voie respiratoire, ganglions sacrés lors d'infection par voie génitale [1,2,96,130].

Dans les conditions naturelles, la latence virale fait systématiquement suite à une primo-infection. Un animal infecté sera donc porteur à vie du virus.

Les animaux porteurs latents ne montrent aucun signe clinique de maladie. La majorité peut être détectée à l'aide d'examens sérologiques mettant en évidence les anticorps anti-BHV-1. En effet, des travaux expérimentaux ont réussi à démontrer l'existence de porteurs latents séronégatifs. Ces individus ont été obtenus suite à l'infection de veaux sous couvert de l'immunité colostrale par la souche virulente Iowa, la souche atténuée thermosensible RLB 106 et la souche délétée gE Zagreb [63,64].

### 7.3/ Réactivation et réexcrétion virales

Durant la vie de l'animal infecté, le virus latent peut être réactivé à l'occasion de situations stressantes. En effet, la mise bas [135], le transport [137], la surinfection par le virus parainfluenza 3 [73], la bronchite vermineuse [82] sont autant de stimuli capables de déclencher la réactivation virale du BHV-1. Le CapHV-1 semble être principalement réactiver pendant les périodes de reproduction. Le stress et les modifications hormonales durant l'oestrus chez les femelles pourraient être à l'origine de la réactivation [55,128]. Quant au CerHV-1, les épidémies écossaises suggèrent aussi que le stress occasionné par le rassemblement d'animaux (vente publique, allotement) serait le facteur déclenchant de la réactivation virale[53].

Expérimentalement, l'injection de glucocorticoïdes est une méthode efficace pour provoquer la réactivation virale chez un animal porteur latent [84,93,95]. Le protocole classique consiste en une injection quotidienne de dexaméthasone, à raison de 0.1 mg/kg, pendant 5 jours. Il faut cependant noter que dans le cas du CapHV-1, les résultats obtenus grâce à cette méthode sont aléatoires. En effet, plusieurs auteurs n'ont pas réussi à provoquer la réactivation virale, même en utilisant des posologies bien supérieures (jusqu'à 2.5 mg/kg) [20,55,90,129].

Suite à la réactivation, de nouvelles particules virales sont synthétisées au niveau du site de latence et peuvent être réexcréter. Les études menées sur le BHV-1 ont prouvé que les particules néoformées migrent par voie axonale jusqu'à la porte d'entrée initiale (muqueuse respiratoire ou génitale). L'animal infecté est alors susceptible de transmettre l'infection à d'autres individus [38]. Ce phénomène est le plus souvent inapparent à l'œil nu puisque l'animal ne présente peu ou pas de signes cliniques de la maladie. En effet, très souvent, la seule conséquence détectable de la réactivation réside dans un effet anamnétique sur l'immunité spécifique de l'hôte, qui se traduit notamment par une augmentation du titre en anticorps spécifiques dans le sérum sanguin [140].

Cependant, la réactivation ne s'accompagne pas systématiquement de la réexcrétion du virus. Il semble que le niveau d'immunité de l'animal infecté influe sur le degré de réexcrétion, comme cela a été démontré pour le BHV-1. En effet, des bovins vaccinés avec une souche virale thermosensible atténuée de BHV-1 puis inoculés avec une souche sauvage virulente ont développé une immunité forte et il a été impossible de mettre en évidence une réexcrétion, même après un traitement à la dexaméthasone [93]. De même, deux génisses inoculées à l'aide d'une souche virulente de BHV-1 puis soumises au test d'hypersensibilité retardée afin

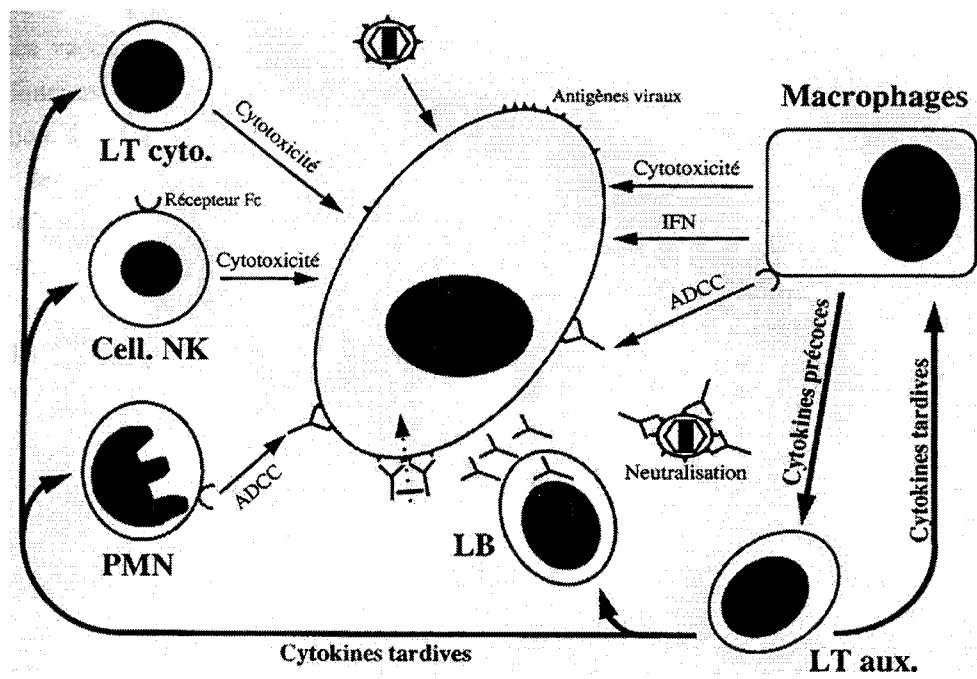


Figure 6: Réponse immunitaire au cours d'une infection par le BHV-1 [28]

d'augmenter leur niveau d'immunité n'ont pas réexcrété le virus après traitement à la dexaméthasone, malgré la mise en évidence d'une réponse anamnesticque [132].

## 8/ Réponse immunitaire de l'hôte

Lors d'une infection primaire, la première réaction de l'organisme est non spécifique et se caractérise par la sécrétion de cytokines précoces. Ensuite, la mise en place des réponses immunitaires spécifiques, cellulaire et humorale, assure la destruction et l'élimination des particules virales ainsi que des cellules infectées par le BHV-1 [6] (cf. figure 6).

### 8.1/ Réponse non spécifique

Les interférons (IFN) alpha (IFN- $\alpha$ ) et bêta (INF- $\beta$ ) sont produits par les macrophages et les fibroblastes dès la cinquième heure post-infection. Leur concentration dans le sang et les sécrétions nasales atteint un pic durant les 36 à 72 heures post-infection et reste élevée jusqu'à ce que le virus cesse de se répliquer. La production de cette famille de cytokines est induite à la fois par la réplication virale et par le recrutement des macrophages sur le site de l'infection. Les interférons et les modifications cellulaires provoquées entraînent le recrutement de différents types de cellules effectrices comme les macrophages, les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les cellules « *natural killer* » (NK). Ces cellules interviennent dans la production de plusieurs cytokines précoces, qui jouent un rôle dans l'initiation de la réponse inflammatoire, le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires, ainsi que l'orchestration de la réponse immunitaire spécifique en stimulant, en conjonction avec l'antigène, les lymphocytes T ( $L_T$ ) et B ( $L_B$ ).

Les cytokines précoces proinflammatoires, telles que l'interleukine (IL)-1 $\beta$  et le « *tumor necrosis factor* » (TNF)- $\alpha$ , avec l'IFN- $\alpha$ , sont responsables du syndrome fébrile observé rapidement après l'infection par le BHV-1 (Allemand, 1998). Produites par les macrophages alvéolaires et les cellules épithéliales, elles sont à l'origine de l'infiltration massive du parenchyme pulmonaire par des PNN dans les 24 à 48 heures suivant l'infection. Elles induisent aussi l'expression de molécules d'adhésion intracellulaires (ICAM-1) sur les cellules endothéliales et favorisent ainsi l'adhésion de leucocytes à la surface de ces dernières [6].



## 8.2/ Réponse cellulaire

Elle est principalement médiée par les macrophages activés, les cellules NK, les PNN et, dans une moindre mesure, par les L<sub>T</sub> cytotoxiques. Toutes ces cellules sont capables de détecter et de lyser les cellules infectées par le BHV-1. Les L<sub>T</sub> spécifiques reconnaissent principalement les glycoprotéines gB, gC et gD ainsi que la protéine de tégument VP8.

L'intensité de la réponse cellulaire est modulée par l'expression de cytokines tardives produites par les L<sub>T</sub> auxiliaires suite à la reconnaissance de l'antigène associé aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II. Parmi celles-ci, l'IL-2 et l'IFN- $\gamma$  jouent un rôle capital dans la régulation fine de la réponse immune. L'IL-2 assure la prolifération lymphocytaire et l'activation des cellules cytotoxiques tandis que l'INF- $\gamma$  intervient, entre autres, dans l'activation des PNN et des cellules NK.

Au cours d'une réactivation ou d'une infection secondaire par le BHV-1, les PNN participent aussi à la destruction des cellules infectées *via* le mécanisme de cytotoxicité dépendante des anticorps (*antibody dependent cell toxicity*, ADCC) [6].

## 8.3/ Réponse humorale

Elle fait intervenir les anticorps produits par les lymphocytes B. Cependant, la synthèse de ces anticorps prend entre 8 et 12 jours. La réponse humorale ne joue donc pas un rôle prépondérant dans le cas d'une primo-infection, même si l'ensemble des réponses immunitaires semble indispensable pour contenir l'infection par le BHV-1.

Le temps de vie des anticorps anti-BHV-1 chez les bovins est long. Des études ont montré qu'au bout de 3 ans les titres en anticorps sont encore élevés [51] et l'on peut les détecter plus de 5 ans après la primo-infection [24]. Le rôle exact joué par des réactivations virales régulières dans la persistance des anticorps anti-BHV-1 n'est pas connu [51].

Lors de la réactivation virale ou d'une infection secondaire, la réponse humorale est primordiale. Les anticorps, dont la plupart sont dirigés contre les glycoprotéines majeures (gB, gC et gD), neutralisent les particules virales extracellulaires [6]. En outre, ils sont aussi capables d'interagir de manière synergique avec les cellules cytotoxiques intervenant dans la réponse cellulaire *via* le processus ADCC. Les PNN, les macrophages et les cellules NK possèdent un récepteur de la portion Fc des immunoglobulines qui leur permet, indirectement, de détecter spécifiquement les cellules infectées [6]. Chez les bovins, les PNN sont les cellules les plus efficaces intervenant dans ce genre d'interaction. La destruction des cellules

infectées a lieu dès la septième heure suivant l'infection et l'efficacité du processus est nettement améliorée en présence du complément [115].



## **DEUXIEME PARTIE : LE CONTROLE DE L'IBR**



# **1/ Enjeux et objectifs du contrôle de l'IBR**

## **1.1/ Enjeux**

Au sein de l'union européenne, le contrôle de l'IBR est l'objet d'enjeux commerciaux majeurs. En effet, les pays officiellement déclarés indemnes de l'infection ou ayant entamé un plan d'éradication approuvé peuvent bénéficier de garanties sanitaires additionnelles lors de l'importation de bovins (directive 64/432 CE, modifiée par la directive 97/12 CE).

Ainsi, par exemple, à l'exception des animaux destinés à l'engraissement, tous les bovins à destination d'un pays indemne doivent :

- provenir d'un état où l'IBR est une maladie à déclaration obligatoire.
- provenir d'un élevage où aucune manifestation d'IBR (clinique ou sérologique) n'a été détectée dans les 12 mois précédant le mouvement.
- être nés dans l'élevage de départ ou y être restés au minimum durant les 2 mois précédant le mouvement.
- ne jamais avoir été vaccinés contre l'IBR.
- être isolés dans une unité épidémiologique approuvée durant les 30 jours immédiatement antérieurs au mouvement.
- subir un test sérologique de dépistage des anticorps anti-BHV-1 (ELISA ou séroneutralisation) au minimum 21 jours après le début de l'isolement. Tous les animaux en isolement doivent ainsi être séronégatifs.

## **1.2/ Objectifs**

Pour comprendre les stratégies de contrôle de l'IBR, il est nécessaire de souligner les problèmes épidémiologiques qu'entraîne le phénomène de latence virale :

- tout animal infecté par le BHV-1 devient porteur à vie du virus [95].
- la présence d'animaux porteurs latents est l'élément essentiel de la persistance du virus au sein d'une population fermée. A tout moment, ces individus sont susceptibles de réexcréter du BHV-1 à l'occasion d'un phénomène de réactivation virale [63].
- l'état immun de l'animal infecté de manière latente influence de manière déterminante la fréquence et l'importance des épisodes de réexcrétion virale [93,94,132].

La première étape d'un plan de contrôle de l'IBR passe donc par le dépistage systématique des bovins porteurs latents, notamment grâce à des tests sérologiques mettant en évidence les anticorps dirigés contre le BHV-1.

Ensuite, en fonction de la prévalence observée, deux stratégies principales peuvent être appliquées [61]:

- l'abattage de tous les animaux infectés dans le but d'éradiquer la maladie
- le recours à la vaccination afin de maîtriser au maximum la circulation virale

## **2/ Le diagnostic de laboratoire de l'IBR**

Le diagnostic de laboratoire de l'IBR repose sur deux approches différentes [72] :

- dans le cadre d'une suspicion clinique, il convient de rechercher le BHV-1, en identifiant les déterminants antigéniques ou les séquences d'ADN spécifiques de ce virus (diagnostic direct).
- dans le cadre d'une prophylaxie, le statut immunitaire des animaux est contrôlé grâce à des tests sérologiques détectant les anticorps anti-BHV-1 (diagnostic indirect).

### **2.1/ Diagnostic direct**

#### **2.1.1/ Prélèvements**

##### **2.1.1.1/ Sur animal vivant**

Lors d'une suspicion clinique d'IBR, les prélèvements doivent être réalisés lors de la phase aiguë de l'infection. La technique de prélèvement de choix est l'écouvillonnage nasal profond. Les écouvillons sont conservés dans un milieu de transport jusqu'au laboratoire [44,72].

##### **2.1.1.2/ Sur animal mort**

Les prélèvements doivent être effectués le plus rapidement possible après la mort de l'animal. Il peut s'agir de fragments de poumon ou de muqueuse respiratoire ainsi que des amygdales et des nœuds lymphatiques pulmonaires [72].

## 2.1.2/ Techniques

### 2.1.2.1/ Recherche des antigènes viraux

La recherche des antigènes viraux peut s'effectuer sur des coupes d'organes fraîches ou congelées ainsi que sur des frottis cellulaires obtenus à partir des écouvillons nasaux. Les techniques utilisées permettent d'obtenir des résultats rapides (24 heures) [72].

#### a/ Immunofluorescence

Les techniques d'immunofluorescence sont basées sur l'utilisation d'anticorps marqués par un fluorochrome (l'isothiocyanate de fluorescéine généralement) [44].

- Immunofluorescence directe
  - incubation du prélèvement à tester avec des anticorps monoclonaux murins marqués dirigés contre un antigène du BHV-1
  - lavage pour éliminer les anticorps non fixés
  - examen du prélèvement au microscope à fluorescence
  
- Immunofluorescence indirecte
  - incubation du prélèvement à tester avec des anticorps monoclonaux murins dirigés contre un antigène du BHV-1
  - lavage
  - ajout des anticorps conjugués, c'est à dire des anticorps anti-immunoglobulines de souris marqués
  - lavage
  - examen du prélèvement au microscope à fluorescence

#### b/ Immunohistochimie

Dans ce cas, la révélation s'effectue grâce à une réaction chimique (réaction peroxydasique le plus souvent). L'avantage de cette technique est qu'elle permet de localiser les antigènes viraux dans les tissus testés [44].



### 2.1.2.2/ Isolement viral sur cultures cellulaires

C'est une technique courante car l'isolement du BHV-1 sur cultures cellulaires est facile. Pour le réaliser, il est cependant nécessaire que les particules virales aient conservé leur pouvoir infectieux. Les prélèvements utilisés doivent donc être frais et avoir été conservés sous couvert du froid positif (+4°C) jusqu'au laboratoire [72].

La première étape consiste à mettre en évidence la présence du virus grâce aux effets cytopathogènes caractéristiques qu'il produit sur cultures de cellules au bout de quelques jours. Les particules de BHV-1 ainsi isolées sont ensuite identifiées par séroneutralisation, immunofluorescence ou immunohistochimie [72].

### 2.1.2.3/ PCR

Elle permet la mise en évidence de séquences d'ADN de BHV-1 dans les prélèvements par amplification génique. Les résultats sont obtenus plus rapidement qu'avec l'isolement viral (24h) [72].

## **2.2/ Diagnostic indirect**

### **2.2.1/ Prélèvements**

La recherche d'anticorps anti-BHV-1 peut être réalisée sur des échantillons de sérum ou de lait [44,72].

### **2.2.2/ Techniques**

#### 2.2.2.1/ Le test de séroneutralisation

C'est encore la technique de référence malgré son coût et la lourdeur des manipulations à effectuer pour sa mise en œuvre [72].

Le test de séroneutralisation consiste à mettre en contact l'échantillon à tester avec une quantité connue de virus pendant 1 à 24 heures. Si l'échantillon contient des anticorps neutralisants anti-BHV-1, ceux-ci vont lui faire perdre son pouvoir infectieux. Le mélange virus-échantillon est ensuite inoculé sur une culture cellulaire sensible au BHV-1. La recherche des effets cytopathogènes après une période d'incubation de 2 à 5 jours permet de conclure à l'absence ou à la présence d'anticorps anti-BHV-1 dans le prélèvement [44].

### 2.2.2.2/ Les tests ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent assay*)

Ils sont faciles à réaliser, peu coûteux et donnent des résultats rapides. Pour toutes ces raisons, ce sont les tests les plus utilisés sur le terrain, notamment dans les plans de contrôle de l'IBR [72].

- ELISA indirect [44]
  - fixation d'un ou de plusieurs antigènes du BHV-1 (glycoprotéines virales ou broyat de virus purifié) sur un support solide puis mise en contact avec l'échantillon à tester.
  - lavage pour éliminer les anticorps non fixés.
  - ajout des anticorps conjugués, c'est à dire des anticorps anti-immunoglobulines de bovins marqués par une enzyme.
  - lavage.
  - révélation : ajout d'un substrat chromogène de l'enzyme utilisée. L'intensité de la coloration, mesurée par spectrophotométrie (densité optique), est proportionnelle à la concentration en anticorps anti-BHV-1.
  
- ELISA de compétition [44]
  - fixation d'un antigène du BHV-1 (généralement gB ou gE) sur un support solide puis mise en contact avec l'échantillon à tester.
  - lavage pour éliminer les anticorps non fixés.
  - ajout des anticorps conjugués. Dans ce cas, ce sont des anticorps monoclonaux dirigés contre l'antigène utilisé et marqués par une enzyme.
  - lavage pour éliminer les anticorps conjugués en excès.
  - révélation : ajout d'un substrat chromogène de l'enzyme utilisée. Ici, l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration en anticorps anti-BHV-1.

L'ELISA de compétition utilisant la glycoprotéine gE a été développé parallèlement à l'élaboration de vaccins marqués gE. En effet, associés dans un programme d'éradication de l'IBR, ils permettent la distinction animaux vaccinés (séronégatifs envers gE)/animaux infectés (séropositifs envers gE) [148,154].

<b>Test sérologique</b>	<b>Résultat sérologique qualitatif</b>	
Ac anti-BHV-1 Totaux (ELISA indirect) ou anti-gB (ELISA de compétition)	+	+
Ac anti-gE (ELISA de compétition)	+	-
	Bovins infectés naturellement ou vaccinés et infectés	Bovins vaccinés avec un vaccin marqué gE-négatif

Tableau 6: Interprétation qualitative des tests sérologiques dépistant les anticorps anti-BHV-1 [63]

	<b>Infecté par le BHV-1</b>	<b>Non infecté par le BHV-1</b>
<b>Test positif</b>	VP	FP
<b>Test négatif</b>	FN	VN

$$\text{Sensibilité} = \text{VP}/(\text{VP}+\text{FN})$$

$$\text{Spécificité} = \text{VN}/(\text{VN}+\text{FP})$$

Tableau 7: Table de contingence décrivant les différents effectifs d'un échantillon de population selon les critères de présence ou d'absence d'infection et de réaction positive ou négative à un test sérologique [63]

VP : vrais positifs ; FP : faux positifs ; FN : faux négatifs ; VN : vrais négatifs

### 2.2.2.3/ Les autres tests

Il s'agit de l'immunofluorescence indirecte et de la réaction de fixation du complément, pratiquement abandonnée.

## **2.2.3/ Comparaison des performances des tests sérologiques**

### 2.2.3.1/ Spécificité

La spécificité d'un test est la probabilité d'obtenir un résultat négatif pour un animal sain (cf tableau 7).

Toutes les études effectuées montrent que le test de séroneutralisation et les tests ELISA (indirects ou de compétition) possèdent une spécificité comprise entre 92 et 100% [27,57,58,59,99].

### 2.2.3.2/ Sensibilité

La sensibilité d'un test est la probabilité d'obtenir un résultat positif pour un animal infecté.

Le test de séroneutralisation et la plupart des tests ELISA détectent bien les échantillons dont les titres en anticorps anti-BHV-1 sont élevés. En revanche, plusieurs tests se sont révélés peu sensibles pour les échantillons en limite de positivité [57,59,99]. Ainsi, dans ces conditions, l'ELISA de compétition utilisant la glycoprotéine gB donne de meilleurs résultats que le test de séroneutralisation [58] ou les autres tests ELISA.

Le test ELISA de compétition utilisant la glycoprotéine gE n'est pas très sensible, vraisemblablement parce que gE est une glycoprotéine mineure. En effet, dans un troupeau infecté expérimentalement, il a été démontré qu'avec ce test, certains animaux ne devenaient séropositifs que 4 semaines après l'infection c'est à dire 3 semaines plus tard qu'avec l'ELISA de compétition dirigé contre gB [27]. Dans une autre étude, de nombreux sérums déclarés positifs avec le test de séroneutralisation ne l'étaient pas avec l'ELISA de compétition gE et sa sensibilité fut estimée à 74% [100].

	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>Vaccins inactivés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Grande sécurité d'emploi</li> <li>-Pas d'installation de la souche vaccinale à l'état latent</li> <li>-L'injection n'est pas un stimulus de réactivation chez un animal porteur latent</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Nécessité d'utiliser un adjuvant de l'immunité</li> <li>-Pas de réponse immune de type cellulaire</li> <li>-Possibilité d'une réaction locale au site d'injection</li> </ul>
<b>Vaccins vivants atténués</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Induction de l'immunité cellulaire</li> <li>-Possibilité d'administration par voie intranasale</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Installation de la souche vaccinale à l'état latent</li> <li>-Possibilité de recombinaisons avec des souches sauvages</li> <li>-Effets indésirables possibles</li> </ul>

Tableau 8: avantages et inconvénients des vaccins inactivés et atténués utilisés contre l'IBR  
[79]

## **3/ Vaccination**

### **3.1/ Les différents types de vaccins disponibles**

#### **3.1.1/ Les vaccins conventionnels**

Les vaccins contre le BHV-1 peuvent être divisés en 2 catégories : les vaccins atténués (vivants modifiés) et les vaccins inactivés [60,139,147] (cf. tableau 8).

La virulence des souches virales utilisées dans les vaccins vivants est atténuée par de nombreux passages en culture cellulaire. Elles sont néanmoins capables de se répliquer dans l'organisme hôte et s'installent à l'état latent chez l'animal vacciné comme cela a été prouvé pour une souche thermosensible et une souche non thermosensible [93]. La vaccination mime donc parfaitement l'infection naturelle et l'ensemble du système immunitaire est ainsi stimulé de manière durable (immunité de type cellulaire et humorale) [60]. Cependant, elle peut parfois s'accompagner d'effets indésirables : transmission de la souche vaccinale après instillation par voie intranasale ou réactivation de la souche vaccinale [26,93,133,147].

Les vaccins inactivés contiennent des souches virales tuées à l'aide de traitements chimiques auxquelles on ajoute un adjuvant afin d'augmenter l'intensité de la réponse immunitaire. L'utilisation de ce type de vaccins apporte une plus grande sécurité d'emploi puisque, par définition, le virus inactivé ne peut pas s'installer à l'état latent[60,139].

Même si tous les vaccins actuels permettent d'éviter l'apparition de signes cliniques d'IBR chez les bovins infectés, ils ne confèrent qu'une protection virologique incomplète. Ainsi, l'animal vacciné reste sensible à une infection par une souche sauvage de BHV-1 : il n'exprime pas ou peu de signes cliniques mais excrète le virus pendant 10 à 14 jours. Les quantités excrétées et la durée d'excrétion sont cependant considérablement réduites [60,139]. De la même façon, la vaccination ne permet pas d'éliminer une souche de BHV-1 déjà présente à l'état latent chez un individu infecté [139].

### 3.1.2/ Les vaccins marqués

Les vaccins marqués sont constitués de souches virales mutantes dont le génome porte une délétion dans un gène codant pour une glycoprotéine d'enveloppe. 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 [148,154].

La glycoprotéine dont il faut déléter le gène doit posséder plusieurs propriétés [60] :

- elle ne doit pas être essentielle pour la multiplication virale
- elle ne doit pas être un immunogène majeur
- les anticorps produits contre elle doivent persister plusieurs années

Actuellement, seul un mutant n'exprimant pas la glycoprotéine gE est utilisé pour la fabrication de vaccins inactivés et atténués. Cette glycoprotéine remplit en effet les deux premières conditions et les anticorps anti-gE persistent au moins deux ou trois ans après une primo-infection [120].

D'autres souches mutantes sont à l'étude pour l'élaboration de vaccins vivants marqués, la délétion devant, dans ce cas, servir à la fois à atténuer la virulence et à permettre un marquage efficace. Ainsi, le mutant délété gC conserve une virulence encore trop importante alors que les mutants délétés gI ou gI/gE sont trop peu immunogènes [60].

### 3.1.3/ Les vaccins de troisième génération

#### 3.1.3.1/ Les vaccins sous-unitaires

Ces vaccins ne contiennent ni virus infectieux, ni ADN viral. Ils sont constitués d'une ou de plusieurs glycoprotéines virales associées à un adjuvant conventionnel ou à des ISCOMs (*immunostimulatory complexes*). Leur utilisation permet la différenciation animal vacciné/animal infecté tout en conférant une protection comparable à celle obtenue avec un vaccin inactivé conventionnel.

Les trois glycoprotéines majeures du BHV-1 ont été testées pour l'élaboration de vaccins sous-unitaires. Toutes confèrent une bonne protection contre la maladie clinique mais seule gD réduit de façon importante l'excrétion virale[60,61,139,147].

#### 3.1.3.2/ Les vaccins recombinants

L'adénovirus bovin de type 3 et l'adénovirus humain de type 5 non réplicatifs pourraient servir de vecteurs de gènes codant pour les glycoprotéines d'enveloppe du BHV-1.

Administrés par voie intranasale, ces vaccins induiraient en effet une bonne immunité locale [60,61,139,147].

### 3.1.3.3/ Le transfert de gènes *in vivo*

Les recherches portant sur la thérapie génique ont permis d'imaginer de nouveaux vaccins constitués d'ADN plasmidique contenant un gène d'intérêt dont l'expression est sous la dépendance d'un promoteur eucaryote. Une fois injecté par voie intramusculaire, l'ADN est transcrit puis traduit mais ne se réplique pas. Cette technique a déjà été utilisée avec succès pour immuniser des veaux contre la glycoprotéine gD du BHV-1 [60,61,139,147].

## 3.2/ Protocoles de vaccination

### 3.2.1/ Objectifs de la vaccination

La vaccination contre l'IBR doit être envisagée en fonction de la cible, animal séropositif ou séronégatif, et selon le degré de protection désiré, clinique ou virologique [139] (cf. tableau 9).

Statut au moment de la vaccination	Niveau de protection demandé	
	Protection clinique	Protection virologique
Séronégatif (indemne)	Pas de signes cliniques lors d'infection	Pas d'excrétion de virus infectieux Pas d'installation à l'état latent
Séropositif (infecté latent)	Pas de signes cliniques lors d'infection	Pas de réexcrétion de virus infectieux

Tableau 9 : objectifs de la vaccination selon le statut sérologique de l'animal [139]

Tous les vaccins actuellement sur le marché confèrent une protection clinique suffisante sans toutefois assurer une protection virologique complète. Pour s'en approcher, il faut pratiquer un protocole de vaccinations répétées ou hyperimmunisation avec un vaccin inactivé. [26,60,61,139].



<b>Première phase</b>	
Veaux âgés de moins de trois mois	Pas de vaccination
Veaux âgés de trois mois	Primo-vaccination : 2 injections de vaccin inactivé à 3-4 semaines d'intervalle ; rappel tous les 6 mois
Animaux adultes	Rappels de vaccination tous les 6 mois
<b>Deuxième phase</b>	
Veaux	Pas de vaccination ; surveillance sérologique
Animaux adultes	Chez les animaux vaccinés dans le jeune âge : rappels de vaccination tous les 6 mois. Chez les animaux non vaccinés : surveillance sérologique
<b>Troisième phase</b>	
Veaux et animaux adultes	Pas de séroconversion chez les animaux non vaccinés : arrêt de la vaccination avec contrôle sérologique régulier. Statut « 0 IBR »

Tableau 10: Protocole de vaccinations répétées appliqué dans le cadre d'un plan de lutte contre l'IBR [139]

<b>Première phase</b>	
Veaux âgés de moins de trois mois	Pas de vaccination
Veaux âgés de trois mois	Primo-vaccination : 2 injections de vaccin inactivé marqué à 3-4 semaines d'intervalle ; rappel tous les 6 mois
Animaux adultes	Rappels de vaccination tous les 6 mois (vaccin marqué)
<b>Deuxième phase</b>	
Veaux âgés de trois mois	Primo-vaccination (vaccin marqué, cf. supra) ; surveillance sérologique gE
Animaux adultes	Rappels de vaccination tous les 6 mois (vaccin marqué) ; surveillance sérologique gE
<b>Troisième phase</b>	
Veaux et animaux adultes	Tous les animaux sont séronégatifs envers gE : arrêt de la vaccination. Statut « 0 IBR » avec contrôles sérologiques réguliers

Tableau 11: Protocole de vaccinations répétées appliqué dans le cadre d'un plan de lutte contre l'IBR à l'aide de vaccins marqués [139]

### **3.2.2/ Protocole classique**

Il est appliqué lorsqu'il faut uniquement maîtriser les signes cliniques de l'IBR c'est à dire sur des animaux destinés à un abattage rapide (engraissement).

La primo-vaccination peut être pratiquée dès l'âge de 3-4 mois, lorsque l'immunité colostrale est réduite. Elle consiste en deux injections à 2 à 4 semaines d'intervalle. Le premier rappel est effectué 4 à 6 mois plus tard puis les rappels ultérieurs sont annuels.

### **3.2.3/ Protocole de vaccinations répétées**

Il est appliqué dans les exploitations désirant mettre en œuvre un programme d'assainissement et dans lesquelles la séroprévalence est élevée. Dans ce cas, la vaccination est destinée :

- soit aux seuls bovins séropositifs afin de réduire le risque de réexcrétion lors d'épisodes de réactivation virale.
- soit à tous les bovins à partir de la plus jeune classe d'âge contenant des animaux séropositifs.

La primo-vaccination s'effectue comme dans le protocole classique. Par contre, les rappels sont strictement réalisés tous les 6 mois afin « d'hyperimmuniser » les animaux vaccinés [139](cf. tableau 10).

Avec un tel protocole, l'utilisation systématique de vaccins marqués apporte une aide considérable dans les programme de lutte contre l'IBR. En effet, au bout de quelques années de vaccination, l'ensemble des animaux devient séropositif envers le BHV-1 et séronégatif envers la glycoprotéine gE. ce qui signifie que l'exploitation est indemne d'IBR et que tous les animaux sont protégés par le vaccin. L'étape finale consiste à arrêter la vaccination afin d'obtenir de nouvelles générations de veaux entièrement séronégatifs envers le BHV-1 (cf. tableau 11). Le seul problème dans l'application d'un tel plan provient du manque de sensibilité du test de détection des anticorps anti-gE qui laisse passer une proportion non négligeable d'animaux faux-négatifs [100,139].

	<b>Rythme de prélèvement</b>	<b>Echantillons</b>	<b>Tests utilisés</b>
<b>Troupeaux laitiers</b>	2 fois/an	Lait de grand mélange ( $\leq$ 50 animaux) ou lait de tank Sérologie individuelle si résultat positif	ELISA indirect en première intention  ELISA de compétition gB et/ou test de séroneutralisation sur prélèvements positifs ou douteux
<b>Troupeaux allaitants</b>	Annuel	Sérologie de mélange ( $\leq$ 10 animaux) sur tous les animaux âgés de plus de 12 mois Sérologie individuelle si résultat positif	

Tableau 12: modalités de dépistage des animaux infectés par le BHV-1 lors du plan d'éradication suédois

<b>Année</b>	<b>Nombre de troupeaux examinés</b>	<b>Nombre de troupeaux infectés</b>	<b>% de troupeaux infectés</b>	<b>Nombre d'animaux examinés</b>	<b>Nombre d'animaux séropositifs</b>	<b>% d'animaux infectés</b>
<b>1990</b>	11162	65	0.58	83085	262	0.31
<b>1991</b>	14509	82	0.56	103909	155	0.15
<b>1992</b>	15934	14	0.09	107888	15	0.01
<b>1993</b>	12754	3	0.02	98274	40	0.04
<b>1994</b>	13109	-	0.00	95451	-	0.00
<b>1995</b>	14506	3	0.02	59158	3	0.01
<b>1996</b>	4033	4	0.10	44929	4	0.01
<b>1997</b>	21846	8	0.04	178182	47	0.03

Tableau 13: résultats des enquêtes sérologiques réalisées en Styrie entre 1995 et 1997 [54]

## **4/ Prévalence de l'infection par le BHV-1 et stratégies de contrôle de l'IBR**

Prévalence de l'infection par le BHV-1 et stratégies collectives de lutte contre l'IBR sont deux notions étroitement liées. En effet, pour des raisons économiques, seuls les pays dans lesquels la prévalence est faible peuvent envisager des plans d'éradication, basés sur l'interdiction de la vaccination et l'abattage des animaux séropositifs. A l'opposé, l'utilisation de vaccins reste le meilleur moyen de contrôler la propagation du virus dans les pays fortement infectés.

### **4.1/ Situation au sein de l'union européenne**

Les données épidémiologiques concernant la prévalence de l'IBR en Europe sont en général difficiles à récolter. En effet, les états dans lesquels la situation n'est pas favorable communiquent peu sur le sujet. Nous n'exposerons donc ici que le cas des pays pour lesquels des informations récentes sont disponibles.

#### **4.1.1/ Pays à prévalence nulle ou très faible**

Actuellement, la Suède, l'Autriche, le Danemark, la Finlande et la province autonome de Bolzano, en Italie, sont officiellement indemnes d'IBR.. A ce titre, ces pays bénéficient de garanties additionnelles lors des échanges commerciaux (directive 64/432 CE, modifiée par la directive 97/12 CE).

En Suède, plusieurs enquêtes sérologiques effectuées entre 1982 et 1993 avaient prouvé que la prévalence de l'infection par le BHV-1 dans ce pays était faible voire très faible (moins de 1 % des troupeaux infectés). Dans ce contexte, un programme d'éradication de l'IBR fut initié en février 1994, puis intensifié en janvier 1995, dans le but de pouvoir déclarer le pays indemne. Ce programme fut approuvé par l'union européenne en 1995 et le dernier animal séropositif fut abattu en février 1996[15].

Durant la campagne d'éradication, la vaccination était interdite et la recherche des bovins infectés était réalisée selon les modalités détaillées dans le tableau 12. Les exploitations dans lesquelles au moins un animal séropositif était détecté faisaient l'objet d'une mise sous surveillance sanitaire accompagnée de mesures restrictives concernant les mouvements

d'animaux. Une enquête épidémiologique était menée afin de découvrir l'origine de l'infection et d'évaluer les possibilités de dissémination du virus dans d'autres élevages. Pour que les mesures restrictives soient levées, il fallait que tous les bovins présents dans l'élevage donnent des résultats négatifs à deux tests réalisés au plus tôt 1 et 4 mois après l'abattage du dernier animal séropositif [15].

L'Autriche a entamé un plan national d'éradication en 1990, même si, dès 1987, la province de Styrie avait adopté son propre programme, basé sur le principe du volontariat. Ce plan fut approuvé par la commission européenne en 1995, année de l'entrée de l'Autriche dans l'union européenne et, dès 1998, plusieurs provinces étaient déclarées indemnes [54].

Cependant, entre 1995 et 1997, de nombreux bovins séropositifs furent découverts, notamment en Styrie, principalement suite à l'introduction illégale d'animaux séropositifs provenant d'autres états européens (cf. tableau 13).

Au Danemark, un plan d'éradication de l'IBR a été appliqué de 1984 à 1991. Avant cette période, très peu de données concernant la prévalence de l'infection étaient disponibles mais celle-ci devait être faible [89]. Ce pays fut déclaré indemne d'IBR en décembre 1992 mais, de 1991 à 1994, 22 troupeaux contenant des animaux séropositifs furent découverts sur la presqu'île du Jutland, à proximité de la frontière allemande. De même, en 1995, l'infection par le BHV-1 fut détectée dans 61 autres élevages, dans la même région. Plus d'une cinquantaine d'entre eux avaient acheté des bovins provenant d'une exploitation dans laquelle tous les animaux étaient séropositifs. Cependant, dans plusieurs cas, la voie d'introduction du BHV-1 n'a pas été clairement établie et plusieurs hypothèses, dont celle de la transmission par voie aérienne à travers la frontière germano-danoise, ont été évoquées [88]. Depuis, deux incidents impliquant respectivement 6 et 3 troupeaux ont eu lieu en 1996 et 2000 dans le sud du pays.

La province italienne de Bolzano a été déclarée indemne d'IBR en 2000, suite à la mise en œuvre d'un plan d'éradication commencé en 1991. Auparavant, deux études, dont une portant sur la totalité du cheptel bovin (11532 troupeaux), avaient été menées afin d'établir le taux de prévalence de l'infection [157] (cf. tableau 14).

La situation de cette province contraste avec celle du reste du pays puisque les quelques enquêtes menées en Italie du Nord et en Italie centrale laissent apparaître une prévalence apparente élevée : de 55 à 100% des cheptels infectés et entre 20 et 40% des bovins séropositifs [23,70,83,158].

Année	Echantillon	Test utilisé	Prévalence troupeaux	Prévalence animaux
1990	500 troupeaux	ELISA sur lait de grand mélange ELISA sur sérum individuel si résultat positif	16,8%	8,9%
1990-1991	11532 troupeaux	ELISA sur sérum individuel	19,4%	6,3%

Tableau 14: Résultats des enquêtes épidémiologiques organisées en 1990-1991 dans la province italienne de Bolzano [157]

#### 4.1.2/ Pays à prévalence moyenne

Souvent, dans ces pays, la prévalence varie d'une région à l'autre car les mesures de lutte ne sont pas nationales, notamment dans les états de structure fédérale : Allemagne, Portugal [105]. La France fait partie de ce groupe.

En RFA, la prévalence variait de 0 à 42%, selon les régions [61]. En Bavière, un programme d'éradication volontaire a débuté en 1986. Il est devenu obligatoire en 1998 et en 2002, 87% des élevages étaient indemnes d'IBR [145].

En 1999, au Portugal, trois études ont été menées sur les troupeaux laitiers des régions *Entre-Douro et Minho*, situées au Nord-Ouest du pays [5]. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau.

Nombre de troupeaux examinés	Test utilisé	Prévalence apparente (troupeaux)
75, provenant de 3 comtés	ELISA sur sérum	17,5-27,5%
252, provenant de 10 comtés	ELISA sur lait de tank	35%
49, provenant du comté de <i>Arouca</i> (pas de vaccination)	ELISA sur lait de tank	92%

Tableau 15: résultats des enquêtes épidémiologiques menées en 1999 dans les régions portugaises *Entre-Douro et Minho* [5].

Suite à ces enquêtes, le groupement de défense sanitaire des régions concernées a proposé un programme volontaire de certification IBR au ministère de l'agriculture portugais (cf. figure 7). Toutefois, aucune information officielle ne permet d'affirmer que ce projet a été accepté.

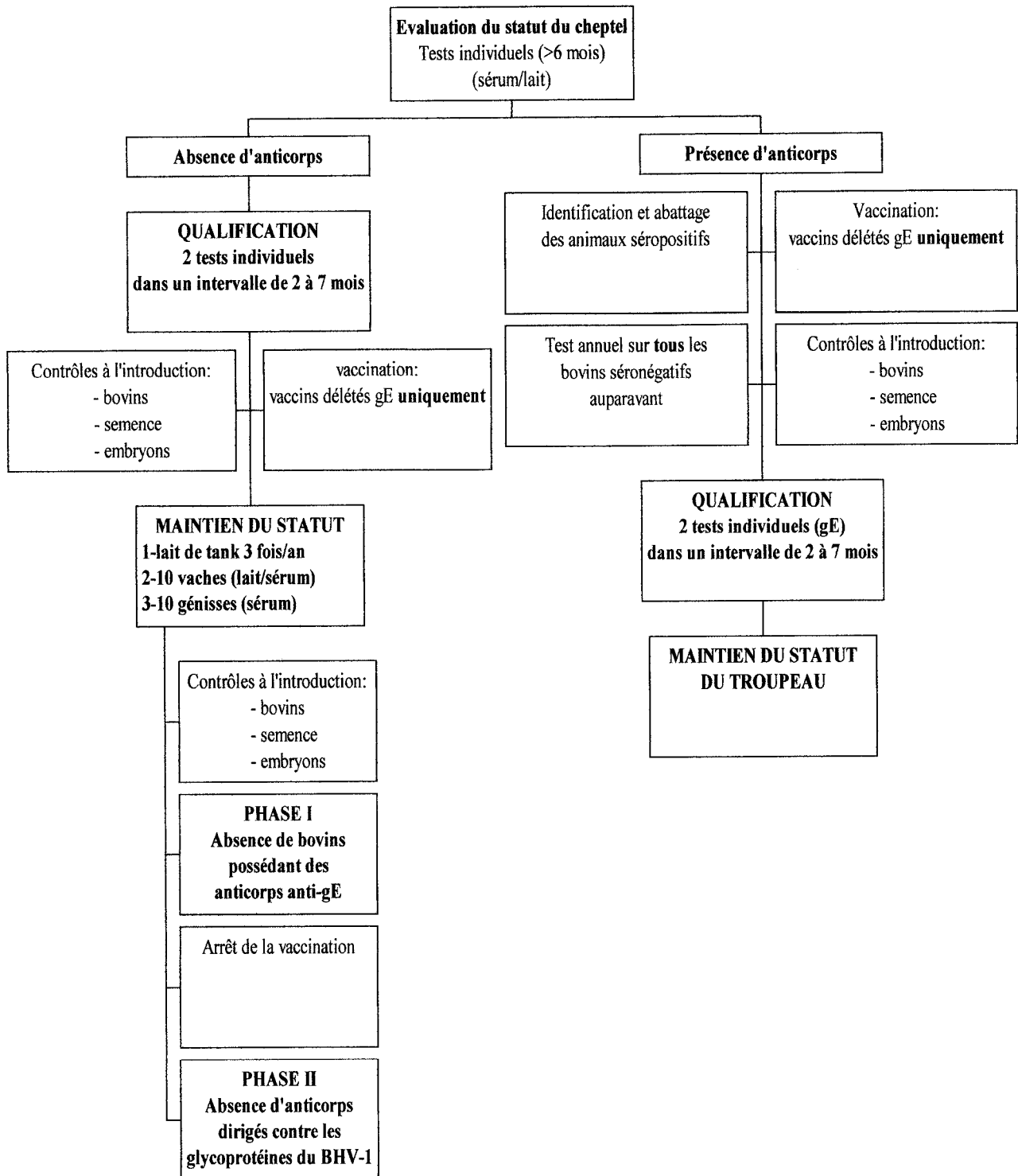


Figure 7: programme volontaire de certification IBR proposé au ministère de l'agriculture portugais [5]

### 4.1.3/ Pays à forte prévalence

Il s'agit notamment de la Belgique et des Pays Bas. Historiquement, dans ces pays, la vaccination anarchique à l'aide de vaccins vivants atténués a été largement pratiquée. La situation épidémiologique y est donc assez confuse puisque la prévalence apparaît élevée malgré un nombre important d'animaux vaccinés.

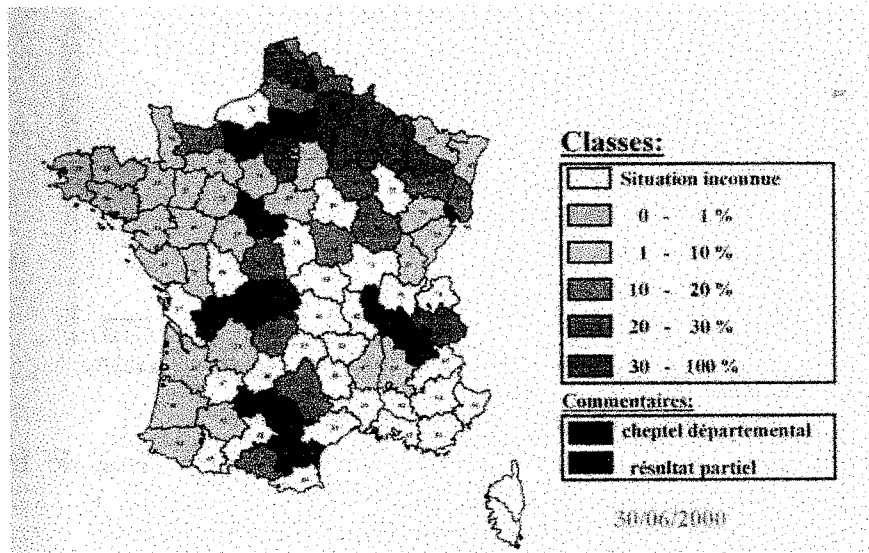
Les enquêtes menées en Belgique entre 1986 et 1994 ont montré que plus de 60% des élevages étaient "infectés" tandis que plus de 50% des bovins étaient séropositifs [3,16,61,62,146] (cf. tableau 16). Dans ce pays, aucun plan national n'a été mis en place et le contrôle de l'IBR est réalisé sur base volontaire [26]. Cependant, depuis 1997, de nouvelles dispositions légales ont rendu obligatoire l'utilisation exclusive des vaccins marqués, atténués ou inactivés (arrêté royal du 8 août 1997). Certaines exploitations peuvent ainsi être déclarées indemnes [63].

Année	Type d'échantillon	Séroprévalence (IC=95%)	N	Population échantillonnée	Références
1986	Echantillon non aléatoire	62%	ND	Fermes en Belgique ; mélange de sérum	[146]
Hiver 1991-1992	Echantillon systématique	51,6% ± 5,7%	300	Bovins de plus de 1 an dans les provinces de Liège, Namur et Hainaut	[61]
Hiver 1992-1993	Echantillon systématique	56,6% ± 4,8%	400	Bovins de plus de 1 an dans les provinces de Liège, Namur Hainaut et Luxembourg	[61]
Déc. 1994-Jan. 1995	Echantillon aléatoire en grappes	63,7% ± 9,1%	3226	43 fermes, avec 3226 bovins de plus de 1 an en région wallonne	[62]

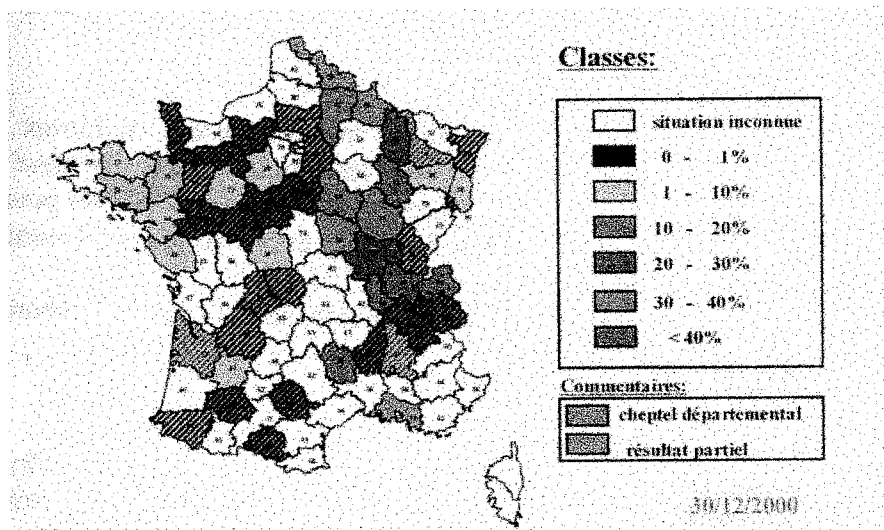
Tableau 16: Evolution de la prévalence de bovins séropositifs envers le BHV-1 en Belgique [63]

En novembre 1994, une enquête portant sur la totalité des troupeaux laitiers néerlandais permit d'estimer la prévalence de l'IBR à 84% [149,150]. Cependant, la valeur de la prévalence réelle était sans doute plus élevée car l'utilisation de prélèvements de lait de tank ne permet pas de discerner les élevages dans lesquels le nombre d'animaux positifs est faible[40]. D'ailleurs, une étude réalisée en 1997 sur un échantillon représentatif du





**Figure 8:** Taux de prévalence apparent de l'IBR dans les cheptels laitiers français contrôlés par lait de grand mélange [105]



**Figure 9:** taux de prévalence apparent de l'IBR dans les cheptels allaitants ou mixtes français contrôlés par sérologie de mélange [105]

cheptel néerlandais permet d'établir que 92% des troupeaux contenaient au moins un animal infecté [46] (cf. tableau. 17)

Suite à la publication de ces données, un plan de lutte obligatoire basé sur l'utilisation systématique de vaccins marqués, a été initié en mai 1998. Tous les bovins âgés de plus de 3 mois doivent être vaccinés 2 fois par an. Seules les exploitations dans lesquelles tous les bovins âgés de plus d'un an sont séronégatifs à la fois envers gB et gE peuvent être déclarées indemnes d'IBR [27]. A l'origine, seul un vaccin vivant marqué était utilisé mais la découverte de lots contaminés par le virus BVD en février 1999 conduisit à son abandon au profit de vaccins inactivés marqués [140].

Grâce à ce programme, à la fin de l'année 1998, 12500 fermes néerlandaises étaient partiellement indemnes d'IBR ; c'est à dire qu'elles ne contenaient que des bovins séronégatifs envers gE [140].

Année	Nombre de troupeaux testés	Test utilisé	Prévalence apparente (troupeaux)	Références
1994	33636	ELISA sur lait de tank	84%	[149,150]
1997	295	ELISA sur lait de tank	89,2%	[46]
		ELISA sur sérum ou lait individuels	92%	

Tableau 17: Résultats des enquêtes épidémiologiques réalisées aux Pays-Bas

## 4.2/ Situation en France

### 4.2.1/ Prévalence

En France, plusieurs enquêtes nationales ont été organisées depuis une trentaine d'années. Les plus récentes datent de 1993 et 2000 et laissent apparaître une prévalence de troupeaux moyenne de 10-15% environ [105,144]. Cette valeur nationale cache cependant de grandes disparités régionales, depuis les départements bretons ou franc-comtois, pratiquement indemnes, jusqu'aux bassins allaitants où des prévalences supérieures à 40% peuvent être rencontrées (cf. figures).

Au sein des troupeaux infectés, la proportion d'animaux positifs est en général faible. Ainsi, même dans une région fortement touchée comme la Bourgogne, 80% des cheptels infectés contiennent moins de 20% d'animaux séropositifs[79].

	Acquisition	Maintien
Modalités adaptées aux ateliers laitiers	4 laits de grand mélange consécutifs négatifs espacés chacun de 6 mois plus ou moins 2 mois.	1 lait de grand mélange négatif par an.
Modalités adaptées aux ateliers allaitants mais pouvant être appliquées par les cheptels laitiers	2 sérologies de mélange négatives successivement de "n"* sérums de tous les bovins de 24 mois et plus, espacées de 3 mois minimum à 15 mois maximum.	1 sérologie de mélange négative annuelle de "n"* sérums de tous les bovins de 24 mois** et plus.

\* : "n" doit être compatible avec la détectabilité annoncée par le fournisseur dans le cadre du contrôle du kit, c'est à dire que le nombre maximum de sérums contenus dans le mélange doit être de "n".

\*\* : 24 mois est l'âge minimum requis ; ce seuil peut être abaissé jusqu'à 12 mois par le STC.

**Tableau 18: Modalités d'acquisition et de maintien de l'appellation A [30]**

Contrôle sérologique des effectifs		Conditions supplémentaires pour la cession d'animaux sous appellation B**
Acquisition	Maintien	
<p><b>Cas n°1: Si l'élevage bénéficiait préalablement d'une appellation A acquise et entretenue :</b></p> <p>1 sérologie individuelle négative sur tous les bovins de 18 à 48 mois</p>		<p>L'éleveur a le choix entre deux types de protocole :</p> <p><b>Soit B1</b></p> <p>Réalisation d'une sérologie individuelle négative datant de moins de 2 mois sur tous les bovins vendus ou cédés dans un autre cheptel</p> <p><b>Soit B2</b></p> <p>La vaccination est faite, entretenue par les rappels nécessaires (selon les prescriptions du fournisseur pour l'indication d'hyperimmunisation) et certifiée par un vétérinaire de tous les bovins de plus de 48 mois séropositifs</p> <p><u>Remarques</u> : 2 cas sont possibles :</p> <p>- La totalité ou une partie seulement des bovins de plus de 48 mois peuvent être vaccinés, à condition que le vaccin utilisé sur les animaux séronégatifs permette la distinction entre animaux infectés et animaux vaccinés (notamment vaccin délété)</p> <p>- Seuls les bovins positifs peuvent être vaccinés, sous réserve :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Soit d'une sérologie individuelle préalable sur tous les bovins ≥ 48 mois (dans ce cas, on peut utiliser un vaccin délété ou non)</li> <li>▪ Soit d'une sérologie de mélange annuelle sur tous les bovins ≥ 48 mois non connus positifs</li> </ul>
<p><b>Cas n°2: Si l'élevage ne bénéficiait pas au préalable d'une appellation A :</b></p> <p>1 sérologie individuelle négative sur tous les bovins de 18 à 48 mois</p> <p>et</p> <p>1 sérologie de mélange négative de "n"* sérums de tous les bovins de 18 à 48 mois</p> <p>L'ordre des 2 séries de sérologies est indifférent mais elles doivent être espacées de 3 mois minimum et 15 mois maximum</p>	<p>Si le lait de grand mélange annuel est négatif</p> <p><b>Ou</b></p> <p><b>Sinon</b></p> <p>1 sérologie de mélange négative annuelle de "n"* sérums de tous les bovins de 18 à 48 mois</p>	

\* : "n" doit être compatible avec la détectabilité annoncée par le fournisseur dans le cadre du contrôle du kit.

\*\* : ne peuvent être vendus ou cédés sous appellation B que des bovins de moins de 48 mois.

**Tableau 19 : Modalités d'acquisition et de maintien de l'appellation B [30]**

#### 4.2.2/ Système de certification des cheptels

Dès 1994, la République Tchèque exigea que les cheptels dont étaient issus les bovins reproducteurs importés présentent des garanties en matière d'IBR. A cette époque, la moitié des départements français avaient déjà élaboré leur propre système de certification, mais la diversité des protocoles et des appellations utilisées ne permettait pas d'apporter des garanties homogènes aux acheteurs étrangers. Suite à cet épisode, une vaste réflexion s'engagea donc entre la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL), la Fédération Nationale des Groupements de Défense Sanitaire (FNGDS) et la Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires (SNGTV) afin de mettre en place un système national harmonisé de certification IBR. C'est ainsi que fut créée en 1996, l'Association pour la Certification de la Santé Animale en Elevage (ACERSA) [106].

Pour coordonner ses actions, l'ACERSA s'appuie sur un réseau d'intervenants organisés en Schémas Territoriaux de Certification (STC). Chaque STC gère la certification des élevages d'un département ou d'une région et comprend au minimum :

- un ou plusieurs GDS
- un ou plusieurs GTV
- un ou plusieurs laboratoires (laboratoires vétérinaires départementaux ou laboratoires interprofessionnels d'analyses laitières)

Actuellement, 76 STC sont habilités dont 4 STC régionaux (Ile de France, Languedoc-Roussillon, Alpes de Haute Provence, Somme/Oise). Seul le département du Nord ne possède pas de STC [79].

Dans le cadre de la certification, seules deux appellations sont officiellement reconnues :

- l'appellation A, réservée à des élevages indemnes d'IBR
- l'appellation B, attribuée à des élevages dans lesquels tous les animaux âgés de 18 à 48 mois sont séronégatifs envers le BHV-1

Les modalités d'acquisition et de maintien des appellations A et B [30] sont exposées dans les tableaux 18 et 19.

Environ 30% des cheptels français sont qualifiés et l'appellation B reste marginale [79,106]



**TROISIEME PARTIE : INFECTIONS CROISEES A  
ALPHAHERPESVIRUS CHEZ LES RUMINANTS ET  
CONSEQUENCES SUR LES PLANS DE CONTROLE  
DE L'IBR**



## **1/ Problématique**

La découverte d'alphaherpèsvirus apparentés au BHV-1 aussi bien chez les bovins que chez des ruminants domestiques (chèvres) ou sauvages (cerfs, rennes) a rapidement soulevé le problème des infections croisées entre ces espèces et de leurs conséquences sur le contrôle de l'IBR. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, les plans d'éradication et de contrôle de cette maladie sont basés sur la détection sérologique des bovins infectés de manière latente par le BHV-1. Or, l'infection des bovins par le BHV-5, le CapHV-1, le CerHV-1 ou le RanHV-1 pourrait provoquer l'apparition d'animaux faux positifs lors des tests de dépistage de l'IBR. De la même manière, la chèvre, le mouton, le cerf ou le renne pourraient constituer des espèces réservoirs de BHV-1, responsables de la persistance du virus au sein de certaines exploitations, en l'absence de bovins séropositifs.

La dernière partie de notre travail sera donc essentiellement consacrée à la synthèse des résultats obtenus lors d'expériences d'infections croisées expérimentales effectuées par plusieurs équipes de recherche dans le cadre du projet européen FAIR1-PL95-0316 et d'en déduire les conséquences sur les plans de contrôle de l'IBR. Mais auparavant, nous allons nous intéresser aux relations antigéniques existant entre les alphaherpèsvirus des ruminants, à l'origine des réactions croisées lors des tests de séroneutralisation et des tests ELISA.

## **2/ Mise en évidence de relations antigéniques entre les alphaherpèsvirus des ruminants**

### **2.1/ Grâce aux tests de séroneutralisation croisée**

Préalablement à un test de séroneutralisation croisée, on fabrique du sérum hyperimmun dirigé contre une espèce virale déterminée (on peut aussi utiliser des anticorps monoclonaux). Le sérum obtenu est ensuite mis en présence d'une quantité connue de virus dont l'espèce est différente de celle utilisée pour créer le sérum. Si les 2 virus sont antigéniquement apparentés, les anticorps neutralisants contenus dans le sérum vont, jusqu'à un certain degré, faire perdre son pouvoir infectieux au virus testé. Le mélange virus/sérum est ensuite inoculé sur une culture cellulaire sensible au virus. L'apparition, ou non, de l'effet cytopathogène caractéristique du virus permet de conclure si les 2 espèces virales possèdent des antigènes communs.



Virus	Antisérums dirigés contre		
	BHV-1	CapHV-1	RanHV-1
BHV-1	256	2	64
CapHV-1	16	128	256
RanHV-1	16	2	512

**Tableau 20:** résultats des tests de séroneutralisations entre le BHV-1, le CapHV-1 et le RanHV-1 [107]

Virus	Antisérums dirigés contre			
	BHV-1 souche Cooper	BHV-1 souche Oxford	CapHV-1	CerHV-1
BHV-1 souche Cooper	4.50	5.24	0	2.50
BHV-1 souche Oxford	4.16	5.24	0	3.50
CapHV-1	1.27	0.74	3.50	1.26
CerHV-1	2.17	4.00	1.25	4.50

**Tableau 21:** résultats des tests de séroneutralisation (log de l'index de neutralisation) entre le BHV-1, souches Cooper et Oxford, le CapHV-1 et le CerHV-1 [69]

La réalisation de tests de séroneutralisation croisée a ainsi permis de prouver que le BHV-5, le CapHV-1, le CerHV-1 et le RanHV-1 sont antigéniquement apparentés au BHV-1 (cf. tableaux 20 et 21).

Cependant, plusieurs notions complémentaires sont ressorties de ces études:

- La réaction croisée entre le BHV-1 et le BHV-5 est bilatérale, c'est à dire que les anticorps anti BHV-1, de même que les anticorps BHV-5, neutralisent indifféremment les 2 virus (même si l'intensité de la neutralisation du virus homologue est toujours plus élevée) [7,77].
- Entre le BHV-1 et le CapHV-1, la réaction croisée est unilatérale. En effet, les anticorps anti-BHV-1 neutralisent le CapHV-1 alors que les anticorps anti-CapHV-1 ne neutralisent pas (ou très peu) le BHV-1 [18,43,48,66,69,87,107,156].
- La réaction croisée entre le BHV-1 et le CerHV-1 est bilatérale [69,81,86,87,110]. Ainsi, le CerHV-1 semble antigéniquement plus proche du BHV-1 que le CapHV-1. En outre, le CerHV-1 semble plus étroitement apparenté avec la souche de référence Oxford du BHV-1 (BHV-1.2) qu'avec la souche de référence Cooper (BHV-1.1) [69].

Ces deux dernières conclusions ont été confirmées par le suivi des cinétiques de neutralisation. En effet, les sérums hyperimmuns dirigés contre le BHV-1 neutralisent plus rapidement le CerHV-1 que le CapHV-1 et cette tendance est encore plus accentuée avec l'utilisation d'antisérum dirigé contre la souche Oxford du BHV-1. De la même façon, le sérum anti-CerHV-1 neutralise plus vite le BHV-1.2 que le BHV-1.1, lui même plus rapidement neutralisé que le CapHV-1 [69].

- La réaction croisée entre le BHV-1 et le RanHV-1 est bilatérale [107].
- La réaction croisée entre le CapHV-1 et le CerHV-1 est bilatérale, bien que modérée [69,87].
- La réaction croisée entre le CapHV-1 et le RanHV-1 semble unilatérale : les anticorps anti-RanHV-1 neutralisent le CapHV-1 alors que les anticorps anti-CapHV-1 ne neutralisent pas, ou très peu le RanHV-1 [107].

Espèces	Immunisation envers	Antigène								
		BHV-1			CerHV-1			CapHV-1		
		Anticorps conjugués*			Anticorps conjugués*			Anticorps conjugués*		
		Bo	Cer	Ov	Bo	Cer	Ov	Bo	Cer	Ov
Bovin	–	0.09	0.02	0.03	0.02	0.07	0.02	0.04	0	0.03
	BHV-1 <sup>a</sup>	0.53	0.20	0.08	0.25	0.18	0.08	0.14	0.09	0.05
	BHV-1 <sup>b</sup>	1.44	0.87	0.25	1.01	0.43	0.15	0.42	0.16	0.07
	BHV-1 <sup>c</sup>	1.81	1.72	0.58	1.58	1.27	0.45	0.86	0.71	0.24
Cerf	–	0.08	0.09	0.06	0.02	0.04	0.02	0.02	0	0.01
	CerHV-1 <sup>d</sup>	0.07	0.29	0.39	0.09	0.32	0.36	0.06	0.19	0.19
	CerHV-1 <sup>e</sup>	0.20	0.58	0.13	0.43	1.06	0.25	0.15	0.37	0.10
Chèvre	–	0.03	0.15	0.12	0.02	0.03	0.01	0.03	0.05	0.03
	CapHV-1	0.21	0.32	0.63	0.21	0.27	0.19	0.75	0.76	1.71

\* Bo : anti-IgG bovine

Cer : anti-IgG du cerf

Ov : anti IgG ovine

<sup>a</sup> souche vaccinale thermosensible

<sup>b</sup> souche sauvage de BHV-1.1 inoculée par voie intranasale

<sup>c</sup> souche sauvage de BHV-1.1 inoculée par voie intranasale puis souche sauvage de BHV-1.2 inoculée par voie intraveineuse

<sup>d</sup> 7 jours après inoculation de CerHV-1

<sup>e</sup> 14 jours après inoculation de CerHV-1

**Tableau 22:** résultats des tests ELISA (unités de DO) pour les sérums de référence du BHV-1, CapHV-1 et du CerHV-1 (sérums dilués au 1/100) [87]

## **2.2/ Grâce aux tests ELISA**

En 1988, l'équipe de Nixon réalise des ELISA indirects afin de mettre en évidence les relations antigéniques entre le BHV-1, le CapHV-1 et le CerHV-1 (cf. tableau 22). Les antigènes sont obtenus en lysant chimiquement des cellules infectées. Les sérums utilisés sont des sérums de référence provenant de bovins, de cerfs et de chèvres hyperimmunisés ou infectés expérimentalement à l'aide d'un des 3 virus. Les anticorps conjugués sont des anticorps de lapin.

L'existence de réactions croisées lors de ces tests confirme que les 3 virus sont antigéniquement apparentés. En outre, la comparaison des résultats suggère que le CerHV-1 et le CapHV-1 sont plus proches du BHV-1 qu'ils ne le sont entre eux.

Par la suite, des résultats comparables ont été obtenus lors d'une étude utilisant le même genre de tests et incluant, en plus, le RanHV-1 [65].

Par ailleurs, l'ELISA de compétition utilisant la glycoprotéine gB du BHV-1 peut être utilisé pour les autres espèces de ruminants, dans le but de démontrer une infection par un alphaherpèsvirus, mais sans aucune identification de l'espèce virale [131].

## **3/ Le projet FAIR1-PL95-0316**

### **3.1/ Objectifs**

De 1996 à 1999, plusieurs équipes de recherche européennes ont collaboré afin d'évaluer l'impact des infections croisées à alphaherpèsvirus chez les ruminants sur les plans de contrôle de l'IBR.

Les deux objectifs principaux de ce projet étaient :

- d'évaluer les conséquences de l'infection des bovins par le BHV-5, le CapHV-1, le CerHV-1 et le RanHV-1.
- de déterminer si le BHV-1 peut s'installer à l'état latent chez la chèvre, le mouton, le cerf ou le renne

<b>Infections croisées étudiées</b>	<b>Animaux inoculés</b>	<b>Souches virales utilisées</b>	<b>Modalités d'inoculation</b>	<b>Protocole de réactivation</b>
BHV-1/BHV-5	2 groupes de 8 veaux	BHV-1 Jura BHV-5 N569	Voie intranasale $2 \times 10^7$ ufp	Dexaméthasone 0,1 mg/kg IV 5 jours, dès J84
BHV-1/CapHV-1	8 veaux 8 chèvres	BHV-1 Jura CapHV-1 E/CH	Voie intranasale $10^7$ ufp	Dexaméthasone <u>Veaux</u> : 0,1 mg/kg IV <u>Chèvres</u> : 2,5 mg/kg IV 5 jours, dès J84
BHV-1/RanHV-1	8 veaux 8 rennes	BHV-1 Jura RanHV-1 Salla 82	Voie intranasale $10^7$ ufp	Dexaméthasone 0,1 mg/kg IM 5 jours dès J84
BHV-1/CerHV-1	8 veaux 8 cerfs	BHV-1 Jura CerHV-1 Banffshire	Voie intranasale <u>Veaux</u> : $2 \times 10^7$ ufp <u>Cerfs</u> : $3,1 \times 10^7$ ufp	Dexaméthasone 0,1 mg/kg IV 5 jours dès J84
BHV-1 chez le mouton	2 groupes de 6 moutons	BHV-1 Jura BHV-1 M164	Voie intranasale $10^7$ ufp	Dexaméthasone 0,1 mg/kg IM 5 jours, dès J84

Tableau 23 : protocoles expérimentaux utilisés lors du projet FAIR1-PL95-0316

## **3.2/ Matériels et méthodes [131]**

### **3.2.1/ Protocole d'infection et de réactivation**

Un protocole expérimental unique a été adopté pour toutes les infections croisées étudiées (cf. tableau 23). Celui-ci comportait trois étapes principales :

- J<sub>0</sub> : inoculation du virus
- J<sub>84-88</sub> : tentative de réactivation virale par injections de dexaméthasone
- J<sub>105</sub> : euthanasie des animaux utilisés

### **3.2.2/ Prélèvements**

#### **3.2.2.1/ Ecouvillons nasaux**

Suite aux inoculations et aux tentatives de réactivation, des écouvillons nasaux ont été prélevés quotidiennement pendant 17 jours sur chaque animal afin de suivre l'excrétion virale. Entre ces deux périodes, l'écouvillonnage a été réalisé de manière hebdomadaire dans le but de détecter une éventuelle réexcrétion due à une réactivation virale spontanée. Les virus isolés des écouvillons ont ensuite été titrés.

#### **3.2.2.2/ Prélèvements sanguins**

Des échantillons sanguins ont été prélevés sur chaque animal à J-14, -7, 0, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70, 84, 91 et 105. Pour chaque virus, les titres en anticorps spécifiques ont été déterminés par séroneutralisation.

#### **3.2.2.3/ Prélèvements post-mortem**

Une autopsie complète a été réalisée sur chaque animal euthanasié et les ganglions trijumeaux ont été systématiquement prélevés pour isolement viral, examen microscopique, immunohistochimie et PCR.

Sur les veaux inoculés avec du BHV-5, ont aussi été prélevés de la muqueuse nasale et trachéale, du poumon, du foie, du rein, les bulbes olfactifs et le système nerveux central.

	Après infection primaire	Après réactivation
<b>BHV-1</b>		
Signes cliniques	8/8	5/8
Excrétion virale	8/8 : jours 1-9	8/8 : jours 88-94
Séroconversion	8/8	8/8
<b>BHV-5</b>		
Signes cliniques	8/8 : 7/8 euthanasiés	0/1
Excrétion virale	8/8 : jours 1-11	1/1 : jours 88-97
Séroconversion	7/8 : 1 euthanasié avant	1/8
<b>CapHV-1</b>		
Signes cliniques	0/8	0/8
Excrétion virale	8/8 : jours 1-6	0/8
Séroconversion	8/8	8/8
<b>CerHV-1</b>		
Signes cliniques	0/8	0/8
Excrétion virale	2/8 : jour 1, titres faibles	0/8
Séroconversion	0/8	0/8
<b>RanHV-1</b>		
Signes cliniques	0/8	0/8
Excrétion virale	8/8 : jours 1 à 4, titres faibles	0/8
Séroconversion	3/8 : titres faibles, après J42	3/8

Tableau 24: résultats obtenus après infection de bovins par les alphaherpèsvirus apparentés au BHV-1 [131]

## 3.2/ Résultats

### 3.2.1/ Infection des bovins par les alphaherpèsvirus apparentés au BHV-1

#### 3.2.1.1/ BHV-5 [77]

L'infection par le BHV-5 est très proche de l'infection par le BHV-1. Les seules différences proviennent de la capacité du BHV-5 à envahir le système nerveux central des bovins. En effet, lors de la primo-infection expérimentale, le virus a été excrété en grande quantité (pic :  $10^{6.33}$  TCID<sub>50</sub>/100 mg de sécrétions nasales) et la plupart des veaux ont présenté des signes cliniques de méningo-encéphalite, accompagnés ou non de troubles respiratoires. Au final, seul un veau a survécu.

Les animaux ayant vécu assez longtemps ont développé des anticorps neutralisants dans les 7 à 14 jours suivant l'inoculation. Ces anticorps ont été à l'origine de réactions croisées lors du test de séroneutralisation et d'un test ELISA indirect utilisé pour le dépistage des bovins infectés par le BHV-1. Cependant, ce dernier est apparu moins sensible que lors de son utilisation usuelle.

Lors des tentatives de réactivation virale, le veau utilisé n'a présenté aucun signe clinique mais a réexcrété le virus à des titres élevés (pic :  $10^{5.1}$  TCID<sub>50</sub>/100 mg de sécrétions nasales). En outre, la PCR a montré que le BHV-5 est capable de s'établir à l'état latent dans les ganglions trijumeaux, le système nerveux central et les muqueuses nasale et trachéale.

#### 3.2.1.2/ Alphaherpèsvirus hétérologues [121,131]

##### a/ Primo-infection

- Signes cliniques

Les bovins inoculés avec du CapHV-1, du RanHV-1 et du CerHV-1 n'ont présenté aucun signe clinique.

- Excrétion virale

Tous les veaux infectés par du CapHV-1 ou du RanHV-1 ont excrété ces virus pendant plusieurs jours. Les titres viraux mesurés pour le RanHV-1 sont restés faibles alors que le CapHV-1 a été excrété en grande quantité ( $10^{2.2}$  PFU/100 ml de mucus nasal en moyenne).



En ce qui concerne le CerHV-1, seule une très faible excrétion résiduelle a pu être détectée le jour suivant l'inoculation.

- Séroconversion

Tous les veaux infectés par le CapHV-1 ont présenté une séroconversion systématique dans les 7 à 14 jours suivant l'inoculation.

Pour le RanHV-1, seuls quelques animaux ont développé une réponse anticorps faible et tardive (après 42 jours).

Aucune séroconversion n'a été observée chez les veaux inoculés avec du CerHV-1.

#### b/ Réactivation virale

- Signes cliniques

Aucun des veaux inoculés n'a présenté de signes cliniques suite aux tentatives de réactivation virale.

- Réexcrétion virale

Les traitements à la dexaméthasone n'ont pas provoqué de réexcrétion virale chez les veaux infectés.

- Latence virale

Grâce à la PCR, le génome du CapHV-1 a été retrouvé dans les ganglions trijumeaux de 3 veaux infectés, 105 jours après inoculation. Ce virus est donc capable de provoquer une infection latente chez les bovins, contrairement au CerHV-1 et au RanHV-1, pour lesquels aucun site de latence n'a été identifié.

### 3.2.2/ Infection des autres espèces de ruminants par le BHV-1

#### 3.2.2.1/ Primo-infection [121,131]

##### a/ Signes cliniques

Seuls les moutons et les chèvres ont déclaré des signes cliniques modérés suite à l'inoculation de BHV-1. Les chèvres ont toutes présenté de la toux, du jetage et de la dyspnée, accompagnés de diarrhée et d'adénite. Chez les moutons, le tableau clinique comportait une baisse de l'appétit durant 2 à 3 jours, du jetage oculo-nasal et parfois de la conjonctivite.

##### b/ Excrétion virale

Toutes les espèces ont excrété du BHV-1 suite à la primo-infection.

Chez les caprins et les ovins, les titres viraux mesurés étaient élevés :  $10^{3.3}$  pfu/100 mg de mucus nasal en moyenne pour les chèvres et de 2.76 à  $7.6 \times 10^2$  pfu/100 mg de mucus nasal pour les moutons.

Chez les cerfs et les rennes, l'excrétion virale était faible.

##### c/ Séroconversion

Tous les moutons et les chèvres infectés ont développé des anticorps dirigés contre le BHV-1 dans les 7 à 28 jours suivant l'inoculation, à des titres élevés.

Seule la moitié des cerfs a présenté une séroconversion envers le BHV-1 mais les titres anticorps sont restés faibles.

Chez les rennes aucune séroconversion n'a été mise en évidence.

#### 3.2.2.2/ Réactivation virale [121,131]

##### a/ Signes cliniques

Suite aux injections de dexaméthasone, la gravité des signes cliniques observés chez les chèvres lors de la primo-infection a augmenté : certains animaux présentant même un abattement marqué, de l'anorexie et de l'hyperthermie.

Aucune autre espèce n'a réagi cliniquement aux tentatives de réactivation virale.

	Après infection primaire	Après réactivation
<b>BHV-1 chez la chèvre</b>		
Signes cliniques	8/8 : +/-	2/8 mais 6/8 : +/-
Excrétion virale	7/8 : jours 2-12	5/8 : augmentation des titres
Séroconversion	8/8	8/8 : augmentation des titres
<b>BHV-1 chez le cerf</b>		
Signes cliniques	0/8	0/8
Excrétion virale	6/8 : jours 1-3	0/8
Séroconversion	4/8 : titres faibles	4/8
<b>BHV-1 chez le renne</b>		
Signes cliniques	0/8	0/8
Excrétion virale	6/8 : jour 1 2/8 : jours 4-6	0/8
Séroconversion	0/8	0/8
<b>BHV-1 JURA chez le mouton</b>		
Signes cliniques	6/6 : +/-	0/6
Excrétion virale	3/6 : jours 2-4	2/6 : augmentation des titres
Séroconversion	6/6	6/6 : augmentation des titres
<b>BHV-1 MALAYSIA chez le mouton</b>		
Signes cliniques	6/6 : +/-	0/6
Excrétion virale	3/6 : jours 2-4	1/6 : augmentation des titres
Séroconversion	6/6	6/6 : augmentation des titres

Tableau 25: résultats obtenus après infection de moutons, de chèvres, de cerfs et de rennes avec du BHV-1 [131]

#### b/ Réexcrétion virale

Le BHV-1 n'a été réexcrété que chez 4 chèvres et 3 moutons. Les titres viraux mesurés alors étaient plus élevés que lors de la primo-infection. Quant à la durée d'excrétion, elle variait de 1 à 3 jours chez les moutons et de 5 à 8 jours chez les chèvres.

#### c/ Latence virale

La PCR a permis de détecter la présence du génome du BHV-1 dans les ganglions trijumeaux de toutes les chèvres et de 11 moutons infectés, prouvant l'installation du virus à l'état latent chez ces espèces.

### **3.3/ Discussion**

#### **3.3.1/ Mise en évidence d'espèces réservoirs de BHV-1**

Le BHV-1 est clairement capable d'établir une infection latente chez les chèvres [121] et les moutons. Ces deux espèces constituent donc des réservoirs potentiels du virus, au même titre que les bovins infectés. De plus, étant donnés les niveaux d'excrétion et de réexcrétion virales mesurés lors des infections expérimentales, des infections croisées entre bovins, caprins et ovins ont vraisemblablement lieu dans les conditions naturelles. La fréquence de ces infections doit cependant être faible. En effet, lors d'une étude menée en 1996, Hage et son équipe ont estimé qu'un mouton inoculé avec du BHV-1 est capable d'infecter 0,1 veau en moyenne alors qu'un bovin est capable d'en infecter plus de 9 [45]. Même si aucune expérience du même type n'a été mise en œuvre chez la chèvre, il paraît probable que la transmission du BHV-1 est toujours plus efficace au sein de la même espèce que d'une espèce à l'autre. Au sein d'un cheptel, les ovins et caprins pourraient donc initier la circulation virale, amplifiée ensuite par les bovins infectés.

Le cerf et le renne, quant à eux, ne peuvent pas être considérés comme des sources majeures de BHV-1. Chez ces espèces, les quantités de virus excrétées lors de la primo-infection sont trop faibles pour constituer un véritable danger et le BHV-1 ne provoque pas d'infection latente.

### **3.3.2/ Existence de bovins infectés par des alphaherpèsvirus hétérologues**

Plusieurs équipes de recherche avaient déjà prouvé que le CapHV-1 pouvait infecter efficacement les bovins (excrétion virale, séroconversion) [37,102,151]. Grâce au projet FAIR, ces résultats ont été confirmés et il a été démontré que ce virus était aussi capable de s'installer à l'état latent chez cette espèce [121]. Des infections croisées à CapHV-1 sont donc susceptibles de se produire au sein des troupeaux mixtes bovins/caprins.

Même si le RanHV-1 ne s'installe pas à l'état latent chez les bovins, il est capable de les infecter et provoque une séroconversion. Néanmoins, dans les conditions naturelles, il est probable que ce virus ne contamine qu'exceptionnellement l'espèce bovine, comme le montre la situation en Finlande où près d'un quart des rennes sont séropositifs envers le RanHV-1 alors que tous les bovins sont séronégatifs [32].

Les résultats obtenus lors du projet européen laisse penser que les bovins sont réfractaires à l'infection par le CerHV-1. Certains auteurs ont cependant réussi à obtenir une séroconversion chez des veaux inoculés par voie intranasale [103]. Toutefois, dans tous les cas, la dose virale utilisée lors de l'inoculation était très élevée, ce qui tend à prouver que, naturellement, le CerHV-1 est incapable de franchir la barrière d'espèce.

### **3.3.3/ Conséquences sur les plans de contrôle de l'IBR**

#### **3.3.3.1/ Dépistage des ovins et caprins infectés par le BHV-1**

Les élevages mixtes bovins/ovins ou bovins/caprins sont peu nombreux, ce qui tend, d'un point de vue général, à encore minimiser le rôle des moutons et des chèvres dans l'épidémiologie de l'IBR. Néanmoins, lors des plans d'éradication de cette maladie, il paraîtrait judicieux de tester aussi ces animaux lorsqu'ils sont en contact avec des bovins.

#### **3.3.3.2/ Dépistage des bovins infectés par le BHV-5, le CapHV-1 ou le RanHV-1**

Les bovins infectés par le BHV-5, le CapHV-1 ou le RanHV-1 développent des anticorps provoquant des réactions croisées lors des tests sérologiques utilisés pour le dépistage de l'IBR. Dans les pays où ces virus sont présents, le risque d'apparition de bovins faux positifs envers le BHV-1 existe.

En Europe, ce risque semble cependant très limité. En effet :

- le BHV-5 n'a plus été isolé sur ce continent depuis plusieurs dizaines d'années.
- le RanHV-1 n'existe qu'en Finlande et en Norvège.
- le CapHV-1 a été mis en évidence dans plusieurs pays européens mais dans ce cas, les risques d'infections croisées concernent essentiellement les élevages mixtes bovins/caprins, très peu répandus.

### 3.3.3.3/ Mise au point de tests spécifiques

#### a/ Tests sérologiques

A l'heure actuelle, aucun test sérologique ne permet de différencier clairement les animaux infectés par le BHV-1 de ceux infectés par le CapHV-1 ou le RanHV-1.

Un test ELISA de compétition utilisant la glycoprotéine gB du BHV-1 est utilisable chez toutes les espèces de ruminants dans le but de démontrer une infection par un alphaherpèsvirus mais sans identification de l'espèce virale [131].

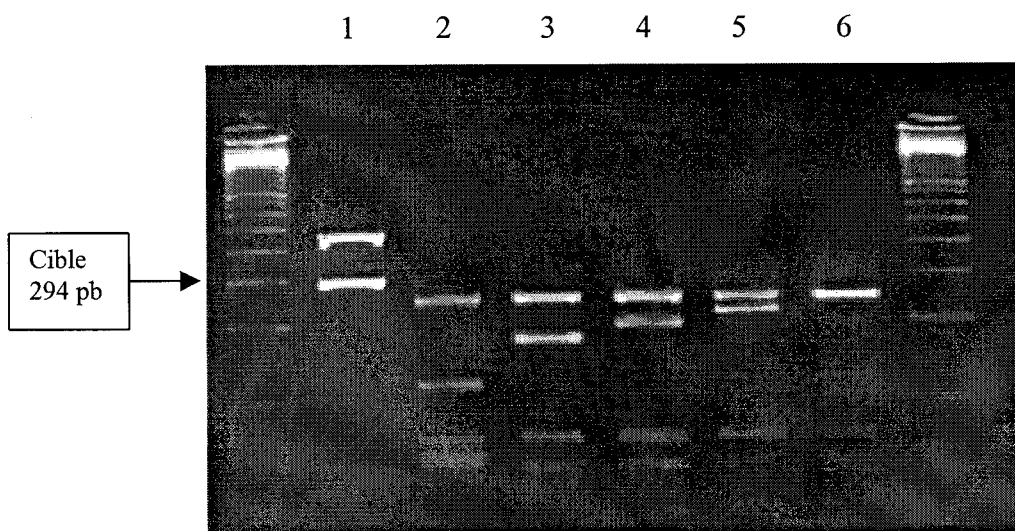
Les infections par le BHV-1 et le BHV-5 peuvent être différenciées grâce à un test ELISA de compétition utilisant la glycoprotéine gE du BHV-1 [145]. L'utilité de ce test est toutefois discutable. En effet, la vaccination contre le BHV-1 confère une protection croisée (essentiellement clinique) vis à vis du BHV-5. Il est donc tout à fait concevable d'appliquer les mêmes méthodes pour lutter contre ces deux virus sans nécessairement les différencier. Le développement d'un test capable de détecter avec la même sensibilité les bovins infectés par le BHV-1 et par le BHV-5 apparaît cependant nécessaire pour progresser dans ce sens [77].

Des anticorps monoclonaux dirigés contre les glycoprotéines gB, gC et gD du CapHV-1 ont déjà été produits en vue de l'élaboration d'un test ELISA spécifique de ce virus.

#### b/ PCR

L'utilisation d'une méthode de PCR universelle permet l'amplification d'une séquence de 294 paires de bases située sur le gène de la glycoprotéine gB et commune aux cinq alphaherpèsvirus. La digestion des amplicons par les enzymes *Fnu4HI* et *Sau96I* lors d'une analyse de restriction permet ensuite une distinction de l'espèce virale [112](cf. figure 10)

Cette technique n'est cependant pas utilisable sur le terrain, car, lors de la latence, les virus ne sont présents que dans les ganglions trijumeaux, inaccessibles chez les animaux vivants.



1 : BHV-1 avant analyse de restriction enzymatique

2 à 6 : après analyse de restriction enzymatique : 2 : CapHV-1 ; 3 : RanHV-1 ; 4 : BHV-1 ; 5 : BHV-5 ; 6 : CerHV-1

Figure 10: résultats obtenus avec la technique PCR/Analyse de restriction enzymatique [112]

## CONCLUSION

Les infections expérimentales ont montré que le mouton et la chèvre constituent des réservoirs potentiels de BHV-1 et que les bovins infectés par du CapHV-1 ou du RanHV-1 développent des anticorps pouvant être à l'origine de réactions croisées lors des tests sérologiques utilisés pour le dépistage de l'IBR.

Cependant, dans les conditions naturelles, les infections croisées à alphaherpèsvirus chez les ruminants sont vraisemblablement rares. Leur impact sur les plans collectifs de lutte contre l'IBR apparaît donc faible dans les pays où la prévalence de l'infection est encore élevée. En revanche, dans la phase finale d'un plan d'éradication, les résultats obtenus doivent être pris en compte. Dans ce cadre, il apparaît donc nécessaire de développer des tests sérologiques permettant de détecter efficacement les ovins et les caprins infectés par le BHV-1 et capables de distinguer clairement les infections à BHV-1, CapHV-1 et RanHV-1 chez les bovins.

Par ailleurs, même si l'infection des bovins par le BHV-5 provoque l'apparition d'individus faux positifs en BHV-1, en pratique, il ne semble pas indispensable de différencier ces deux infections. En effet, il est tout à fait concevable d'appliquer un seul et même plan de contrôle ou d'éradication pour ces deux virus.





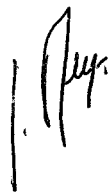
**AGREMENT ADMINISTRATIF**

Je soussigné, P. DESNOYERS, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que  
**M. CASSARD Hervé, Max, Louis**  
a été admis(e) sur concours en : 1996  
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 11 juillet 2001  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

Je soussigné, G. MEYER, Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
autorise la soutenance de la thèse de :  
**M. CASSARD Hervé, Max, Louis**  
intitulée :  
« *Infections croisées à alphaherpèsvirus chez les ruminants : application au contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine* »

**Le Professeur**  
**de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse**  
**Docteur Gilles MEYER**



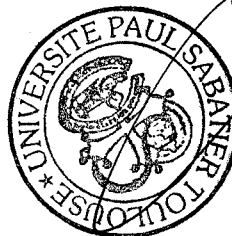
**Vu :**  
**Le Président de la thèse :**  
**Professeur Jacques IZOPET**



**Vu :**  
**Le Directeur**  
**de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse**  
**Docteur Pierre DESNOYERS**



**Vu le :** 20 NOV. 2003  
**Le Président**  
**de l'Université Paul Sabatier**  
**Professeur Jean-François SAUTEREAU**





## BIBLIOGRAPHIE

1. ACKERMANN, M., PETERHANS, E. and WYLER, R.  
DNA of Bovine Herpesvirus Type 1 in the Trigeminal Ganglia of Latently Infected Calves.  
*Am. J. Vet. Res.*, 1982, **43**, 1, 36-40.
2. ACKERMANN, M. and WYLER, R.  
The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection.  
*Vet. Microbiol.*, 1984, **9**, 1, 53-63.
3. ACKERMANN, M., BELAK, S., BITSCH, V., EDWARDS, S., MOUSSA, A., ROCKBORN, G. and THIRY, E.  
Round table on infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus infection diagnosis and control.  
*Vet. Microbiol.*, 1990, **23**, 361-363.
4. ALLEMAND, S.  
Les herpesvirus bovins encéphalitogènes: cas particulier du BHV-5.  
Th.: Med. vet.: Toulouse: 1998-TOU 3, 4009. 89 p.
5. ALMEIDA, V. S. and RIBEIRO, J. N.  
Voluntary herd certification programmes for IBR and BVD in Portugal.  
*Epidemiol. santé anim.*, 1999, **35**, 97-101.
6. BABIUK, L. A., VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK, S. and TIKOO, S. K.  
Immunology of bovine herpesvirus 1 infection.  
*Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 1-2, 31-42.
7. BAGUST, T. J.  
Comparison of the biological, biophysical and antigenic properties of four strains of infectious bovine rhinotracheitis herpesvirus.  
*J. Comp. Pathol.*, 1972, **82**, 4, 365-374.
8. BAGUST, T. J. and CLARK, L.  
Pathogenesis of meningo-encephalitis produced in calves by infectious bovine rhinotracheitis herpesvirus.  
*J. Comp. Pathol.*, 1972, **82**, 4, 375-383.
9. BARANOWSKI, E., KEIL, G., LYAKU, J., RIJSEWIJK, F. A., VAN OIRSCHOT, J. T., PASTORET, P. P. and THIRY, E.  
Structural and functional analysis of bovine herpesvirus 1 minor glycoproteins.  
*Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 1-2, 91-101.
10. BARENFUS, M., DELLI QUADRI, C. A., McINTYRE, R. W. and SCHROEDER, R. J.  
Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from calves with meningoencephalitis.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1963, **143**, 725-728.

11. BARTHA, A., HAJDU, G., ALDASY, P. and PACZOLAY, G.  
Occurrence of encephalitis caused by infectious bovine rhinotracheitis virus in calves in Hungary.  
*Acta. Vet. Acad. Sci. Hung.*, 1969, **19**, 145-151.
12. BELKNAP, E. B., COLLINS, J. K., AYERS, V. K. and SCHULTHEISS, P. C.  
Experimental infection of neonatal calves with neurovirulent bovine herpesvirus type 1.3.  
*Vet. Pathol.*, 1994, **31**, 3, 358-365.
13. BERRIOS, P. E. and McKERCHER, D. G.  
Characterization of a caprine herpesvirus.  
*Am. J. Vet. Res.*, 1975, **36**, 12, 1755-1762.
14. BERRIOS, P. E., McKERCHER, D. G. and KNIGHT, H. D.  
Pathogenicity of a caprine herpesvirus.  
*Am. J. Vet. Res.*, 1975, **36**, 12, 1763-1769.
15. BJÖRNEROT, L., LINDQVIST, H., STENEBO, H. and TREIBERG-BERNDTSSON, L.  
The eradication programme against BHV-1 in Sweden.  
*Epidemiol. santé anim.*, 1997, 31-32.
16. BOELAERT, F., BIRONT, P., SOUMARE, B., DISPAS, M., VANOPDENBOSCH, E., VERMEERSCH, J. P., RASKIN, A., DUFÉY, J., BERKVEN, D. and KERKHOF, P.  
Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population.  
*Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**, 285-295.
17. BRAKE, F. and STUDDERT, M. J.  
Molecular epidemiology and pathogenesis of ruminant herpesviruses including bovine, buffalo and caprine herpesviruses 1 and bovine encephalitis herpesvirus.  
*Aust. Vet. J.*, 1985, **62**, 10, 331-334.
18. BUDDLE, B.M., PFEFFER, A., COLE, D.J.W., PULFORD, H.D. and RALSTON, M.J.  
A caprine pneumonia outbreak associated with caprine herpesvirus and *Pasteurella haemolytica* respiratory infections.  
*N. Z. vet. J.*, 1990, **38**, 28-31.
19. BULACH, D. M. and STUDDERT, M. J.  
Comparative genome mapping of bovine encephalitis herpesvirus, bovine herpesvirus 1, and buffalo herpesvirus.  
*Arch. Virol.*, 1990, **113**, 1-2, 17-34.
20. BUONAVOGLIA, C., TEMPESTA, M., CAVALLI, A., VOIGT, V., BUONAVOGLIA, D., CONSERVA, A. and CORRENTE, M.  
Reactivation of caprine herpesvirus 1 in latently infected goats.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1996, **19**, 4, 275-281.
21. CARILLO, B. J., AMBROGI, A., SCHUDEL, A. A., VAZQUEZ, M., DAHME, R. and POPISCHIL, A.  
Meningoencephalitis caused by IBR virus in calves in Argentina.  
*Zentralbl. Veterinarmed. [B]*., 1983, **30**, 161-168.

22. CARILLO, B. J., POPISCHIL, A. and DAHM, E.  
Pathology of a bovine necrotizing encephalitis in Argentina.  
*Zentralbl. Veterinarmed. [B].*, 1983, **30**, 161-168.
23. CASTRUCCI, G., MARTIN, W. B., FRIGERI, F., FERRARI, M., SALVATORI, D.,  
TAGLIATI, S. and CUTERI, V.  
A serological survey of bovine herpesvirus-1 infection in selected dairy herds in northern and  
central Italy.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1997, **20**, 4, 315-317.
24. CHOW, L. T.  
Duration of immunity in heifers inoculated with infectious bovine rhinotracheitis virus.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1972, **160**, 51-54.
25. COLLINS, J. K., AYERS, V. K., WHETSTONE, C. A. and VAN DRUNEN LITTEL-  
VAN DEN HURK, S.  
Antigenic differences between the major glycoproteins of bovine herpesvirus type 1.1 and  
bovine encephalitis herpesvirus type 1.3.  
*J. Gen. Virol.*, 1993, **74**, Pt 8, 1509-1517.
26. DE WERGIFOSSE, B., LEMAIRE, M., PASTORET, P. P. and THIRY, E.  
Etablissement d'un plan volontaire de contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine en  
Région Wallonne de Belgique.  
*Ann. Med. Vet.*, 1997, **141**, 185-196.
27. DE WIT, J. J., HAGE, J. J., BRINKHOF, J. and WESTENBRINK, F.  
A comparative study of serological tests for use in the bovine Herpesvirus 1 eradication  
programme in The Netherlands.  
*Vet. Microbiol.*, 1998, **61**, 153-163.
28. DENIS, M., SPLITTER, G., THIRY, E., PASTORET, P. P. and BABIUK, L. A.  
Infectious bovine rhinotracheitis (Bovine herpesvirus 1): Helper T Cells, Cytotoxic T Cells  
and NK Cells  
In: B. M. Goddeeris and W. I. Morrison. Cell-mediated immunity in ruminants.  
London, Tokyo: CRC Press, 1994, 157-172.
29. D'OFFAY, J. M., MOCK, R. E. and FULTON, R. W.  
Isolation and characterization of encephalitic bovine herpesvirus type 1 isolates from cattle in  
North America.  
*Am. J. Vet. Res.*, 1993, **54**, 4, 534-539.
30. DUCLOS, P.  
Cahier des charges techniques du système national d'appellation de cheptel en matière de  
rhinotrachéite infectieuse bovine.  
In: Journées nationales des GTV. Maladies respiratoires, Vichy, France, 1997.  
303-311.
31. EDWARDS, S., WHITE, H. and NIXON, P.  
A study of the predominant genotype of Bovid Herpesvirus 1 found in the U.K.  
*Vet. Microbiol.*, 1990, **22**, 213-223.

- 32.EK-KOMMONEN, C., VEIJALAINEN, P., RANTALA, M. and NEUVONEN, E.  
Neutralizing antibodies to bovine herpesvirus 1 in reindeer.  
*Acta Vet. Scand.*, 1982, **23**, 4, 565-569.
- 33.EK-KOMMONEN, C., PELKONEN, S. and NETTLETON, P. F.  
Isolation of a herpesvirus serologically related to bovine herpesvirus 1 from a reindeer (*Rangifer tarandus*).  
*Acta Vet. Scand.*, 1986, **27**, 2, 299-301.
- 34.ENGELS, M., STECK, F. and WYLER, R.  
Comparison of the genomes of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis virus strains by restriction endonuclease analysis.  
*Arch. Virol.*, 1981, **67**, 2, 169-174.
- 35.ENGELS, M., GIULIANI, C., WILD, P., BECK, T. M., LOEPFE, E. and WYLER, R.  
The genome of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) strains exhibiting a neuropathogenic potential compared to known BHV-1 strains by restriction site mapping and cross-hybridization.  
*Virus Res.*, 1986, **6**, 1, 57-73.
- 36.ENGELS, M., LOEPFE, E., WILD, P., SCHRANER, E. and WYLER, R.  
The genome of caprine herpesvirus 1: genome structure and relatedness to bovine herpesvirus 1.  
*J. Gen. Virol.*, 1987, **68**, 7, 2019-2023.
- 37.ENGELS, M., PALATINI, M., METZLER, A. E., PROBST, U., KIHM, U. and ACKERMANN, M.  
Interactions of bovine and caprine herpesviruses with the natural and the foreign hosts.  
*Vet. Microbiol.*, 1992, **33**, 1-4, 69-78.
- 38.ENGELS, M. and ACKERMANN, M.  
Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections.  
*Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 1-2, 3-15.
- 39.ENGELS, M. and THIRY, E.  
L'infection de la chèvre par l'*herpesvirus* caprin de type 1.  
*Point Vét.*, 2000, **31**, 204, 37-42.
- 40.FRANKENA, K., FRANKEN, P., VANDEHOEK, J., KOSKAMP, G. and KRAMPS, J. A.  
Probability of detecting antibodies to bovine herpesvirus 1 in bulk milk after the introduction of a positive animal on to a negative farm.  
*Vet. Rec.*, 1997, **140**, 90-92.
- 41.GARDINER, M. R., NAIRN, M. E. and SIER, A. M.  
Viral meningoencephalitis of calves in western Australia.  
*Aust. Vet. J.*, 1964, **40**, 225-228.
- 42.GREIG, A. S., BANNISTER, G. L., MITCHELL, D. and BARKER, C. A. V.  
Cultivation in tissue culture of an infectious agent from coital exanthema of cattle. A preliminary report.  
*Can. J. Comp. Med.*, 1958, **12**, 119-122.

43. GREWAL, A. S. and WELLS, R.  
Vulvovaginitis of goats due to a herpesvirus.  
*Aust. Vet. J.*, 1986, **63**, 3, 79-82.
44. GUERIN, B.  
Le diagnostic de la rhinotrachéite infectieuse bovine et de la vulvovaginite pustuleuse infectieuse.  
In: H. Navetat and J. Espinasse. Les infections à herpèsvirus chez les bovins, Veyrier du Lac, France, 3 novembre 1994.  
Toulouse: Société Française de buiatrie, 1994, 25-38.
45. HAGE, J. J., VELLEMA, P., SCHUKKEN, Y. H., BARKEMA, H. W., RIJSEWIJK, F. A. M., VAN OIRSCHOT, J. T. and WENTINK, G. H.  
Sheep do not have a major role in bovine herpesvirus 1 transmission.  
*Vet. Microbiol.*, 1997, **57**, 41-54.
46. HARTMAN, A., VAN WUIJCKHUISE, L., FRANKENA, K., FRANKEN, P., WEVER, P., DE WIT, J. and KRAMPS, J.  
Within-herd BHV-1 prevalence prediction from an ELISA on bulk milk.  
*Vet. Rec.*, 1997, **140**, 18, 484-485.
47. HILL, B. D., HILL, M. W., CHUNG, Y. S. and WHITTLE, R. J.  
Meningoencephalitis in calves due to bovine herpesvirus type 1 infection.  
*Aust. Vet. J.*, 1984, **61**, 242-243.
48. HORNER, G. W., HUNTER, R. and DAY, A. M.  
An outbreak of vulvovaginitis in goats caused by a caprine herpesvirus.  
*N. Z. vet. J.*, 1982, **30**, 150-152.
49. INGLIS, D. M., BOWIE, J. M., ALLAN, M. J. and NETTLETON, P. F.  
Ocular disease in red deer calves associated with a herpesvirus infection.  
*Vet. Rec.*, 1983, **113**, 8, 182-183.
50. JOHNSTON, L. A. Y., SIMMONS, G. C. and MCGAVIN, M. D.  
A viral meningo-encephalitis in calves.  
*Aust. Vet. J.*, 1962, **38**, 207-215.
51. KAASHOEK, M. J., RIJSEWIJK, F. A. and VAN OIRSCHOT, J. T.  
Persistence of antibodies against bovine herpesvirus 1 and virus reactivation two to three years after infection.  
*Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 103-110.
52. KAHR, R. F.  
Infectious bovine rhinotracheitis: a review and update.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1977, **171**, 1055-1064.
53. KEUSER, V. and THIRY, E.  
Conséquences de l'infection des cervidés par des alpha-herpèsvirus apparentés au virus de l'IBR.  
*Point Vét.*, 2000, **31**, 207, 39-43.



- 54.KÖFER, J., WAGNER, P. and DEUTZ, A.  
BHV-1 Infections in Styria (Austria) caused by Intra-Community Trade.  
*Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 1999, **106**, 6, 231-233.
- 55.KOPTOPOULOS, G., PAPANASTASOPOULOU, M., PAPADOPOULOS, O. and LUDWIG, H.  
The epizootiology of caprine herpesvirus (BHV-6) infections in goat populations in Greece.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1988, **11**, 3-4, 199-205.
- 56.KOPTOPOULOS, G.  
Goat Herpesvirus 1 Infection: a review.  
*Vet. Bull.*, 1992, **62**, 2, 79-84.
- 57.KRAMPS, J. A., QUAK, S., WEERDMEESTER, K. and VAN OIRSCHOT, J. T.  
Comparative study on sixteen enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to bovine herpesvirus 1 in cattle.  
*Vet. Microbiol.*, 1993, **35**, 11-21.
- 58.KRAMPS, J. A., MAGDALENA, J., QUAK, J., WEERDMEESTER, K., KAASHOEK, M. J., MARIS-VELDHUIS, M. A., RIJSEWIJK, F. A. M., KEIL, G. and VAN OIRSCHOT, J. T.  
A Simple, Specific, and Highly Sensitive Blocking Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Antibodies to Bovine Herpesvirus 1.  
*J. Clin. Microbiol.*, 1994, **32**, 9, 2175-2181.
- 59.KRAMPS, J., PERRIN, B., EDWARDS, S. and VAN OIRSCHOT, J. T.  
A European inter-laboratory trial to evaluate the reliability of serological diagnosis of bovine herpesvirus 1 infections.  
*Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 1-2, 153-161.
- 60.LE TALLEC, B. and GUERIN, B.  
Les vaccins contre la rhinotrachéite infectieuse bovine.  
*Bulletin des GTV*, 2000, **6**, 61-64.
- 61.LEMAIRE, M., PASTORET, P. P. and THIRY, E.  
Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine.  
*Ann. Med. Vet.*, 1994, **138**, 167-180.
- 62.LEMAIRE, M., DE WERGIFOSSE, B., NOLS, L., LIMBOURG, B., DEBLICQUY, P., ONCLIN, M., CZAPLICKY, G., J., B., ANTOINE, H., WELLEMANS, G., PASTORET, P. P. and THIRY, E.  
A study of the seroprevalence of bovine herpesvirus 1 infection in the Walloon region of Belgium.  
*Epidemiol. santé anim.*, 1997, 31-32.
- 63.LEMAIRE, M.  
Conséquences de l'infection par l'herpèsvirus bovin de type 1 chez des veaux possédant une immunité passive et obtention expérimentale d'animaux séronégatifs porteurs latents.  
Thèse de doctorat en sciences vétérinaires: Université de Liège: 2000. 247 p.

64. LEMAIRE, M., MEYER, G., BARANOWSKI, E., SCHYNTS, F., WELLEMANS, G., KERKHOFS, P. and THIRY, E.  
Production of Bovine Herpesvirus Type 1-Seronegative Latent Carriers by Administration of a Live-Attenuated Vaccine in Passively Immunized Calves.  
*J. Clin. Microbiol.*, 2000, **38**, 11, 4233-4238.
65. LYAKU, J. R., NETTLETON, P. F. and MARSDEN, H.  
A comparison of serological relationships among five ruminant alphaherpesviruses by ELISA.  
*Arch. Virol.*, 1992, **124**, 3-4, 333-341.
66. LYAKU, J. R., SINCLAIR, J. A., NETTLETON, P. F. and MARSDEN, H. S.  
Production and characterization of monoclonal antibodies to cervine herpesvirus-1.  
*Vet. Microbiol.*, 1992, **32**, 3-4, 229-239.
67. LYAKU, J. R., VILCEK, S., NETTLETON, P. F. and MARSDEN, H. S.  
The distinction of serologically related ruminant alphaherpesviruses by the polymerase chain reaction (PCR) and restriction endonuclease analysis.  
*Vet. Microbiol.*, 1996, **48**, 1-2, 135-142.
68. MADIN, S. H., YORK, C. J. and McKERCHER, D. G.  
Isolation of the infectious bovine rhinotracheitis virus.  
*Science*, 1956, **124**, 721.
69. MARTIN, W. B., CASTRUCCI, G., FRIGERI, F. and FERRARI, M.  
A serological comparison of some animal herpesviruses.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1990, **13**, 2, 75-84.
70. MASSIRIO, I., LODETTI, E., LODRINI, E. and LOMBARDI, G.  
Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1): indagine sierologica nella popolazione bovina da latte appartenente al territorio dell'USSL 41-Brescia.  
*Atti della societa Italiana di Buiatria*, 1993, **25**, 269-271.
71. McKERCHER, D. G., STRAUB, O. C., SAITO, J. K. and WADA, E. M.  
Comparative studies of etiological agents of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vaginitis.  
*Can. J. Comp. Med.*, 1959, **23**, 320-328.
72. MÉNARD, M. F. and PERRIN, M.  
Le diagnostic de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR).  
*Bulletin des GTV*, 2000, **7**, 65-69.
73. MENSİK, J., POSPISIL, Z., SUCHANKOVA, A., CEPICA, A., ROZOSNY, V. and MACHATKOVA, M.  
Activation of latent infectious bovine rhinotracheitis after experimental infection with parainfluenza 3 virus in young calves.  
*Zentralbl. Veterinarmed. [B]*, 1976, **23**, 854-864.

74. MEYER, G., PASTORET, P. P. and THIRY, E.  
L'encéphalite bovine à herpèsvirus.  
In: H. Navetat and J. Espinasse. Les infections à herpèsvirus chez les bovins, Veyrier du Lac, France, 3 novembre 1994.  
Toulouse: Société Française de Buiatrie, 1994, 82-91.
75. MEYER, G.  
Etude comparative de la neuropathogénicité des herpèsvirus bovins de type 1 et 5 et caractérisation des produits d'expression des gènes codant pour la glycoprotéine gH.  
Thèse de doctorat en sciences vétérinaires: Université de Liège: 1999. 258 p.
76. MEYER, G., D'OFFAY, J. and THIRY, E.  
Les encéphalites à herpèsvirus bovins.  
*Point Vét.*, 2000, **31**, 209, 49-56.
77. MEYER, G., LEMAIRE, M., ROS, C., BELAK, K., GABRIEL, A., CASSART, D., COIGNOUL, F., BELAK, S. and THIRY, E.  
Comparative pathogenesis of acute and latent infections of calves with bovine herpesvirus types 1 and 5.  
*Arch. Virol.*, 2001, **146**, 4, 633-652.
78. MILLER, N. J.  
Infectious necrotic rhinotracheitis of cattle.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1955, **126**, 463-467.
79. MOHAMADOU, L.  
Bilan de la mise en place du schéma de certification des élevages bovins vis-à-vis de l'IBR: 1997-2001.  
Th. :Med. vet.: Alfort: 2003. 167 p.
80. MOHANTY, S. B. and CORSELIUS, N. P.  
Natural infection with Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in Goats.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1972, **160**, 6, 879-880.
81. MOTHA, J. and JENNER, J.  
Serological relatedness of cervine herpesvirus-1 and bovine herpesvirus-1 and the prevalence of cervine herpesvirus-1 infection in farmed deer in New Zealand.  
*N. Z. Vet. J.*, 2001, **49**, 4, 162-163.
82. MSOLLA, P. M., ALLAN, E. M., SELMAN, I. E. and WISEMAN, A.  
Reactivation and shedding of bovine herpesvirus 1 following *Dictyocaulus viviparus* infection.  
*J. Comp. Pathol.*, 1983, **93**, 2, 271-274.
83. NARDELLI, S., MARANGON, S., DALLA POZZA, M., PONZONI, A., VIEL, L. and BRICHESE, M.  
Bovine herpesvirus 1 (BHV1) seroprevalence in the breeding cattle population of the Veneto region: prospects for the implementation of a control programme.  
*J. Vet. Med. B*, 1999, **46**, 735-740.

- 84.NETTLETON, P. F. and SHARP, J. M.  
Infectious bovine rhinotracheitis virus excretion after vaccination.  
*Vet. Rec.*, 1980, **107**, 379.
- 85.NETTLETON, P. F., SINCLAIR, J. A., HERRING, J. A., INGLIS, D. M., FLETCHER, T. J., ROSS, H. M. and BONNIWELL, M. A.  
Prevalence of herpesvirus infection in British red deer and investigations of further disease outbreaks.  
*Vet. Rec.*, 1986, **118**, 10, 267-270.
- 86.NETTLETON, P. F., THIRY, E., REID, H. and PASTORET, P. P.  
Herpesvirus infections in *Cervidae*.  
*Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1988, **7**, 4, 977-988.
- 87.NIXON, P., EDWARDS, S. and WHITE, H.  
Serological comparisons of antigenically related herpesviruses in cattle, red deer and goats.  
*Vet. Res. Commun.*, 1988, **12**, 4-5, 355-362.
- 88.NYLIN, B., MADSEN, K. G. and RONSHOLT, L.  
Reintroduction of Bovine Herpes Virus Type 1 into Danish Cattle Herds During the Period 1991-1995: A review of the investigations in the infected herds.  
*Acta Vet. Scand.*, 1998, **39**, 401-413.
- 89.NYLIN, B., STROGER, U. and RONSHOLT, L.  
A retrospective evaluation of a Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) antibody ELISA on bulk-tank milk samples for classification of the BHV-1 status of Danish dairy herds.  
*Prev. Vet. Med.*, 2000, **47**, 91-105.
- 90.PAPANASTASOPOULOU, M., KOPTOPOULOS, G., LEKKAS, S., GEORGAKOPOULOU, E. and PAPADOPOULOS, O.  
A preliminary investigation on the latency of the goat herpesvirus BHV- 6.  
*Zentralbl. Veterinarmed [B]*, 1990, **37**, 10, 781-784.
- 91.PAPANASTASOPOULOU, M., KOPTOPOULOS, G., LEKKAS, S., PAPADOPOULOS, O. and LUDWIG, H.  
An experimental study on the pathogenicity of the caprine herpesvirus type 1 (CHV-1).  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1991, **14**, 1, 47-53.
- 92.PASTORET, P. P., AGUILAR-SETIÉN, A. and SCHOENAERS, F.  
Le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovine Herpesvirus 1).  
*Ann. Med. Vet.*, 1978, **122**, 371-391.
- 93.PASTORET, P. P., BABIUK, L. A., MISRA, V. and GRIEBEL, P.  
Reactivation of Temperature-Sensitive and Non-Temperature-Sensitive Infectious Bovine Rhinotracheitis Vaccine Virus with Dexamethasone.  
*Infect. Immun.*, 1980, **29**, 2, 483-488.
- 94.PASTORET, P. P., THIRY, E., BROCHIER, B. and DERBOVEN, G.  
*Bovine Herpesvirus 1* infection of cattle: pathogenesis, latency, consequences of latency.  
*Ann. Rech. Vét.*, 1982, **13**, 3, 221-235.

- 95.PASTORET, P.P., THIRY, E., BROCHIER, B., DERBOVEN, G. and VINDEVOGEL, H.  
The role of latency in the epizootiology of infectious bovine rhinotracheitis  
In: G. Wittmann, R. M. Gaskell and H. J. Rziha. Latent herpesvirus infections in veterinary medicine.  
Boston, The Hague, Dordrecht, Lancaster: Martinus Nijhoff Publishers, 1984, 221-227.
- 96.PASTORET, P. P. and THIRY, E.  
Diagnosis and prophylaxis of infectious bovine rhinotracheitis: the role of virus latency.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1985, **8**, 1, 35-42.
- 97.PASTORET, P. P., THIRY, E., DUBUISSON, J. and BUBLLOT, M.  
La rhinotracheite infectieuse bovine: pathogénie, épidémiologie et prophylaxie.  
In: J. Espinasse. Maladies respiratoires des jeunes bovins, Paris, France, 24-25 novembre 1988.  
Maisons Alfort: Société Française de Buiatrie, 1988, 67-74.
- 98.PENNY, C. D., HOWIE, F., NETTLETON, P. F., SARGISON, N. D. and SCHOCK, A.  
Upper respiratory disease and encephalitis in neonatal beef calves caused by bovine herpesvirus type 1.  
*Vet. Rec.*, 2002, **151**, 3, 89-91.
- 99.PERRIN, B., BITSCH, V., CORDIOLI, P., EDWARDS, S., ELOIT, M., GUÉRIN, B., LENIHAN, P., PERRIN, M., RONSHOLT, L., VAN OIRSCHOT, J. T., VANOPDENBOSCH, E., WELLEMANS, G., WIZIGMANN, G. and THIBIER, M.  
A european comparative study of serological methods for the diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis.  
*Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1993, **12**, 3, 969-984.
- 100.PERRIN, B., PERRIN, A., MOUSSA, A. and COUDERT, M.  
Evaluation of a commercial gE blocking ELISA test for detection of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus.  
*Vet. Rec.*, 1996, **138**, 21, 520.
- 101.PIDONE, C. L., GALOSI, C. M., ECHEVERRIA, M. G., NOSETTO, E. O. and ETCHEVERRIGARAY, M. E.  
Restriction endonuclease analysis of BHV-1 and BHV-5 strains isolated in Argentina.  
*Zentralbl. Veterinarmed [B]*, 1999, **46**, 7, 453-456.
- 102.PIRAK, M., THIRY, E., BROCHIER, B. and PASTORET, P. P.  
Infection expérimentale de la chèvre par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovine herpes virus 1) et tentative de réactivation virale.  
*Rec. Méd. Vét*, 1983, **159**, 12, 1103-1106.
- 103.REID, H. W., NETTLETON, P. F., POW, I. and SINCLAIR, J. A.  
Experimental infection of red deer (*Cervus elaphus*) and cattle with a herpesvirus isolated from red deer.  
*Vet. Rec.*, 1986, **119**, 6, 156-158.
- 104.RENTIER, B.  
Herpès, varicelle, zona: aspects biologiques de la persistance virale.  
*Traité de médecine générale, SSMG éd.*, 1989.

- 105.REPIQUET, D.  
IBR: vaccination et certification.  
In: Journées nationales des GTV, Clermont-Ferrand, France, 30,31 mai-1er juin 2001.  
69-79.
- 106.REPIQUET, D.  
Le point sur la certification IBR au 1er février 2000.  
*Bulletin des GTV*, 2000, **6**, 55-59.
- 107.RIMSTAD, E., KRONA, R. and HYLLSETH, B.  
Comparison of herpesviruses isolated from reindeer, goats, and cattle by restriction endonuclease analysis.  
*Arch. Virol.*, 1992, **123**, 3-4, 389-397.
- 108.ROIZMAN, B. and BAINES, J.  
The diversity and unity of Herpesviridae.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1991, **14**, 2, 63-79.
- 109.ROIZMANN, B., DESROSIERS, R. C., FLECKENSTEIN, B., LOPEZ, C., MINSON, A. C. and STUDDERT, M. J.  
The family Herpesviridae: an update. The Herpesvirus Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses.  
*Arch. Virol.*, 1992, **123**, 3-4, 425-449.
- 110.RONSHOLT, L., SIIG CHRISTENSEN, L. and BITSCH, V.  
Latent Herpesvirus Infection in Red Deer: Characterization of a Specific Deer Herpesvirus Including Comparison of Genomic Restriction Fragment Patterns.  
*Acta. Vet. Scand.*, 1987, **28**, 1, 23-31.
- 111.ROPERTO, F., PRATELLI, A., GUARINO, G., AMBROSIO, V., TEMPESTA, M., GALATI, P., IOVANE, G. and BUONAVOGLIA, C.  
Natural Caprine Herpesvirus 1 (CpHV-1) Infection in Kids.  
*J. Comp. Pathol.*, 2000, **122**, 4, 298-302.
- 112.ROS, C. and BELAK, S.  
Studies of Genetic Relationships between Bovine, Caprine, Cervine and Rangiferine Alphaherpesviruses and Improved Molecular Methods for Virus Detection and Identification.  
*J. Clin. Microbiol.*, 1999, **37**, 5, 1247-1253.
- 113.ROS, C., RIQUELME, M. E., FORSLUND, K. O. and BELAK, S.  
Improved detection of five closely related ruminant alphaherpesviruses by specific amplification of viral genomic sequences.  
*J. Virol. Methods*, 1999, **83**, 1-2, 55-65.
- 114.ROS, C. and BELAK, S.  
Characterization of the glycoprotein B gene from ruminant alphaherpesviruses.  
*Virus Genes*, 2002, **24**, 2, 99-105.
- 115.ROUSE, B. T.  
Role of neutrophils in antiviral immunity.  
*Adv. Exp. Med. Biol.*, 1981, **137**, 263-278.

- 116.SAITO, J. K., GRIBBLE, D. H., BERRIOS, P. E., KNIGHT, H. D. and McKERCHER, D. G.  
A New Herpesvirus Isolate from Goats: Preliminary Report.  
*Am. J. Vet. Res.*, 1974, **35**, 6, 847-848.
- 117.SCHELCHER, F., FOUCRAS, G., MEYER, G., ANDREOLETTI, O. and VALARCHER, J. F.  
Le coryza gangréneux chez les bovins.  
*Point Vét.*, 2001, **32**, 215, 30-35.
- 118.SCHROEDER, R. J. and MOYS, M. D.  
An acute respiratory infection of dairy cattle.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1954, **125**, 471-472.
- 119.SCHWYZER, M. and ACKERMANN, M.  
Molecular virology of ruminant herpesviruses.  
*Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 1-2, 17-29.
- 120.SCHYNTS, F., LEMAIRE, M., BARANOWSKI, E. and THIRY, E.  
La glycoprotéine gE de l'herpèsvirus bovin de type 1 et les nouveaux vaccins marqués.  
*Ann. Med. Vet.*, 1998, **142**, 21-32.
- 121.SIX, A., BANKS, M., ENGELS, M., BASCUNANA, C. R. and ACKERMANN, M.  
Latency and reactivation of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) in goats and of caprine herpesvirus 1 (CapHV-1) in calves.  
*Arch. Virol.*, 2001, **146**, 7, 1325-1335.
- 122.SMITH, K. C.  
Herpesviral Abortion in Domestic Animals.  
*Vet. J.*, 1997, **153**, 3, 253-268.
- 123.STRAUB, O. C.  
Infectious bovine rhinotracheitis virus  
In: Z. Dinter and B. Morein. Virus infections of ruminants.  
Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo: Elsevier Science publishers, 1990, 71-108.
- 124.STRAUB, O. C.  
BHV1 infections: relevance and spread in Europe.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1991, **14**, 2, 175-186.
- 125.STUDDERT, M. J.  
Bovine encephalitis herpesvirus.  
*Vet. Rec.*, 1990, **126**, 1, 21-22.
- 126.TARIGAN, S., WEBB, R. F. and KIRKLAND, D.  
Caprine herpesvirus from balanoposthitis.  
*Aust. Vet. J.*, 1987, **64**, 10, 321.
- 127.TARIGAN, S., LADDS, P. W. and FOSTER, R. A.  
Genital pathology of feral male goats.  
*Aust. Vet. J.*, 1990, **67**, 8, 286-290.

128. TEMPESTA, M., BUONAVOGLIA, D., SAGAZIO, P., PRATELLI, A. and BUONAVOGLIA, C.  
Natural reactivation of caprine herpesvirus 1 in latently infected goats.  
*Vet. Rec.*, 1998, **143**, 7, 200.
129. TEMPESTA, M., PRATELLI, A., CORRENTE, M. and BUONAVOGLIA, C.  
A preliminary study on the pathogenicity of a strain of caprine herpesvirus-1.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1999, **22**, 2, 137-143.
130. TEMPESTA, M., PRATELLI, A., GRECO, G., MARTELLA, V. and BUONAVOGLIA, C.  
Detection of caprine herpesvirus 1 in sacral ganglia of latently infected goats by PCR.  
*J. Clin. Microbiol.*, 1999, **37**, 5, 1598-1599.
131. THIRY, E. and KEUSER, V.  
Causes d'échec des plans d'assainissement en IBR: les risques liés aux infections des bovins par des herpèsvirus apparentés à l'herpèsvirus bovin de type 1.  
In: H. Navetat. Actualités en buiatrie, Paris, France, 28, 29, 30 novembre 2001.  
Toulouse: Société Française de Buiatrie, 2001, 103-111.
132. THIRY, E., BROCHIER, B., HANTON, G., DERBOVEN, G. and PASTORET, P. P.  
Réactivation du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovine herpesvirus type 1) non accompagnée de réexcrétion de particules infectieuses, après injection de dexaméthasone, chez des bovins préalablement soumis au test d'hypersensibilité retardée au BHV 1.  
*Ann. Med. Vet.*, 1983, **127**, 377-381.
133. THIRY, E., BROCHIER, B., LANSIVAL, B., HANTON, G., DERBOVEN, G., PASTORET, P. P. and ANTOINE, H.  
Etude sur l'excrétion et la réexcrétion spontanée de deux souches vaccinales du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovine Herpesvirus 1) par des veaux sains maintenus en station de sélection.  
*Ann. Med. Vet.*, 1983, **127**, 625-634.
134. THIRY, E., PASTORET, P. P., BROCHIER, B., KETTMANN, R. and BURNY, A.  
Différenciation de souches du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovine herpesvirus 1) par l'analyse du DNA viral après digestion par l'endonucléase de restriction Eco RI.  
*Ann. Med. Vet.*, 1983, **127**, 29-36.
135. THIRY, E., SALIKI, J., SCHWERS, A. and PASTORET, P. P.  
Parturition as a stimulus of IBR virus reactivation.  
*Vet. Rec.*, 1985, **116**, 22, 599-600.
136. THIRY, E., DUBUISSON, J. and PASTORET, P. P.  
Pathogenesis, latency and reactivation of infections by herpesviruses.  
*Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1986, **5**, 4, 809-819.
137. THIRY, E., SALIKI, J., BUBLLOT, M. and PASTORET, P. P.  
Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transport.  
*Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1987, **10**, 1, 59-63.



138. THIRY, E., MEERSSCHAERT, C. and PASTORET, P. P.  
Epizootiologie des infections à herpèsvirus chez les ruminants sauvages. I. Le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine et les virus antigéniquement apparentés.  
*Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1988, **41**, 2, 113-120.
139. THIRY, E., LEMAIRE, M., SCHYNTS, F., VANDERHEIJDEN, N., MEYER, G., DISPAS, M. and PASTORET, P. P.  
Les différents vaccins disponibles contre la rhinotrachéite infectieuse bovine.  
*Bulletin des GTV*, 1997, **4**, 69-75.
140. THIRY, E., LEMAIRE, M., SCHYNTS, F., MEYER, G., DISPAS, M. and GOGEV, S.  
Les conséquences de l'infection des bovins par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine.  
*Point Vét.*, 1999, **30**, 199, 19-26.
141. THIRY, E. and LEMAIRE, M.  
Infection de ruminants par des herpèsvirus hétérologues.  
*Point Vét.*, 2001, **32**, 217, 20-25.
142. TISDALL, D. J., BENTLEY, C. B. and COLLINS, D. M.  
New Zealand caprine herpesvirus: comparison with an Australian isolate and with bovine herpesvirus type 1 by restriction endonuclease analysis.  
*N. Z. vet. J.*, 1984, **32**, 99-100.
143. TISDALL, D. J. and ROWE, S. M.  
Isolation and characterisation of cervine herpesvirus-1 from red deer semen.  
*N. Z. vet. J.*, 2001, **49**, 3, 111-114.
144. TOURATIER, A.  
L'IBR en France et en Europe: épidémiologie descriptive.  
*In: Journées nationales des GTV. Maladies respiratoires, Vichy, France, 1997.*  
287-288.
145. TRUYEN, U., ISA, G., GERBERMANN, H., BOGNER, K. H., BANZHAF, K., KOSTLER, M., PAUELS, F. J., CZERNY, C. P. and WITTKOWSKI, G.  
BHV-1 eradication program in Bavaria: a marker-independent strategy.  
*Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 2003, **116**, 5-6, 197-202.
146. VAN MALDEREN, G., VAN OPDENBOSCH, E. and WELLEMANS, G.  
Bovien herpesvirus 1 en 4: een sero-epidemiologisch onderzoek van de Belgische rundveestapel.  
*VI. Diergeneesk. Tijdschr.*, 1987, **4**, 364-371.
147. VAN OIRSCHOT, J. T., KAASHOEK, M. J. and RIJSEWIJK, F. A. M.  
Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines.  
*Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 43-54.
148. VAN OIRSCHOT, J. T., KAASHOEK, M. J., MARIS-VELDHUIS, M. A., WEERDMEESTER, K. and RIJSEWIJK, F. A. M.  
An enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against glycoprotein gE of bovine herpesvirus 1 allows differentiation between infected and vaccinated cattle.  
*J. Virol. Methods*, 1997, **67**, 23-34.

149. VAN WUIJCKHUISE, L., BOSCH, J., FRANKEN, P., DE WIT, J., FRANKENA, K. and ELBERS, A.  
Some epidemiological characteristics of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) infections as determined by bulkmilk testing of all dutch dairy herds.  
*Epidemiol. santé anim.*, 1997, 31-32.
150. VAN WUIJCKHUISE, L., BOSCH, J., FRANKEN, P., FRANKENA, K. and ELBERS, A. R. W.  
Epidemiological characteristics of bovine herpesvirus 1 infections determined by bulk milk testing of all Dutch dairy herds.  
*Vet. Rec.*, 1998, **142**, 8, 181-184.
151. WAFULA, J. S.  
Reaction of goats to infection with infectious bovine rhinotracheitis virus.  
*Res. Vet. Sci.*, 1985, **39**, 1, 84-86.
152. WATT, J. A., JOHNSTON, W. S., MacLEOD, N. S. and BARLOW, R. M.  
Infectious bovine rhinotracheitis and encephalitis.  
*Vet. Rec.*, 1981, **108**, 3, 63-64.
153. WEIBLEN, R., LOMBARDO DE BARROS, C. S., CANABARRO, T. F. and FLORES, I. E.  
Bovine meningo-encephalitis from IBR virus.  
*Vet. Rec.*, 1989, **124**, 25, 666-667.
154. WELLENBERG, G. J., VERSTRATEN, E. R. A. M., MARS, M. H. and VAN OIRSCHOT, J. T.  
Detection of Bovine Herpesvirus 1 Glycoprotein E Antibodies in Individual Milk Samples by Enzyme-Linked Immunosorbent Assays.  
*J. Clin. Microbiol.*, 1998, **36**, 2, 409-413.
155. WELLENBERG, G. J., M.H., M. and VAN OIRSCHOT, J. T.  
Antibodies against bovine herpesvirus (BHV) 5 may be differentiated from antibodies against BHV-1 in a BHV-1 glycoprotein E blocking ELISA.  
*Vet Microbiol*, 2001, **78**, 79-84.
156. WILLIAMS, N. M., VICKERS, M. L., TRAMONTIN, R. R., PETRITES-MURPHY, M. B. and ALLEN, G. P.  
Multiple abortions associated with caprine herpesvirus infection in a goat herd.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1997, **211**, 1, 89-91.
157. ZAMBOTTO, P., STIFTER, E., LOMBARDO, D., PACETTI, A. I. and ALTABEV, R.  
Piano di controllo ed eradicazione del BHV-1 in provincia di Bolzano: stato dell'arte e nuove infezioni negli allevamenti infetti.  
*Atti della societa Italiana di Buiatria*, 1997, **29**, 245-251.
158. ZANARDI, G., TRANQUILLO, V. M., FRANKENA, K., CORDIOLI, P., SALA, G., BELLOLI, A., SALA, L. and BRUGOLA, L.  
Infectious bovine rhinotracheitis (IBR): serological survey on dairy herds in *Lombardia* region.  
*Epidemiol. santé anim.*, 1997, 31-32.