
**Recherche du virus BHV1 dans les ganglions trijumeaux
des bovins dans le cadre de la gestion nationale de la
Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR)**

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2007
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Fanny, Monique, Huguette GARDEUX
Née le 30 septembre 1982, Neufchâteau (Vosges)

Directeur de thèse : Mme. Le Professeur Geneviève BENARD

JURY

PRESIDENT :

M. Gérard CAMPISTRON

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

Mme Geneviève BENARD
Melle Caroline LACROUX

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

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

Directeur	: M.	A. MILON
Directeurs honoraires	M.	G. VAN HAVERBEKE
	M.	P. DESNOYERS
Professeurs honoraires	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELF
	M.	M. EECKHOUTTE
	M.	D. GRIESS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2[°] CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
M. **DUCOS de LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mlle. **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores domestiques*

INGENIEUR DE RECHERCHE

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

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

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

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mme **BENNIS-BRET, Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCLAINVILLE –CAMUS, Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier, (DISPONIBILITE)** *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologie, Histologie*
Mme **LETRON –RAYMOND, Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **TROEGELER –MEYNADIER, Annabelle**, *Alimentation*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*
Mlle **GOSSOT Pauline**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **NOUVEL Laurent-Xavier**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **RATTEZ Elise**, *Médecine*
M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VOLMER Romain**, *Infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle **BIBBAL Delphine**, *H.I.D.A.O.A Sciences de l'Alimentation*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*
M. **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Gérard CAMPISTRON,

De la faculté de Pharmacie de Toulouse,

Qui nous fait l'honneur de présider notre jury de thèse,

Qu'il trouve ici l'expression de nos hommages respectueux.

A Madame le professeur Geneviève BENARD,

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Qui a accepté d'encadrer ce travail et m'a apporté son aide précieuse tout au long de sa réalisation,

Qu'elle trouve ici l'expression de nos sincères remerciements.

A Mademoiselle Caroline LACROUX,

Maître de conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse,

Hommages respectueux.

A Madame le Docteur Christelle ROY,

Directrice du GDS de Corrèze,

Merci pour les nombreuses informations fournies.

Au Service Vétérinaire de l'abattoir de Montauban,

Qui nous a permis de réaliser la partie pratique de cette thèse,

Merci pour leur aide.

A « la Fred »,

Graphiste de talent, sans qui je n'aurais jamais pu présenter un tel poster,

Merci pour son aide précieuse et sa gentillesse.

**« Choisissez un travail que vous aimez et vous n'aurez pas à travailler un seul
jour de votre vie » (Confucius)**

A mes parents,

*Sans qui je n'aurais jamais réussi ce grand projet,
Merci pour votre présence, votre soutien au quotidien, votre patience,
Merci pour tout le bonheur que vous m'apportez,
Merci de m'avoir permis de grandir dans cette campagne que j'aime tant et qui a fait naître en moi
cette passion*

A Adrien, mon soleil,

*Tu es présent depuis le début de cette aventure, tu as toujours été à mes côtés,
Jamais je ne te remercierai assez pour tout ce que tu m'apportes
A nos futurs enfants, en espérant qu'ils te ressemblent de la tête au pieds !*

A Mathilde,

*Merci à toi, ma grande petite sœur, pour nos moments partagés et notre complicité,
« Un pour tous et tous pour un » !*

A mes grands-parents,

*Merci de nous avoir accueilli si souvent,
Merci pour votre gentillesse, votre soutien et tous ces bons moments passés grâce à vous*

A ma grand-mère paternelle,

Toujours dans mes pensées et dans mon cœur

A ma famille,

Merci pour tout ce que nous partageons, pour votre soutien

A André, Anne, Félicien et Marie,

*Merci pour vos encouragements, votre gentillesse,
Merci André d'avoir si bien réussi Adrien,
Je vous souhaite beaucoup de bonheur*

A Danielle et Lidiana,

Malgré la distance vous êtes importantes à mes yeux

A Elise, Myriam, Chloé, Maud et Emilie,

Merci pour ces bons moments partagés,

J'espère que ces amitiés ont encore de belles années devant elles

Je vous souhaite à toutes beaucoup de bonheur et de réussite

A Adeline,

A notre amitié qui dépasse les frontières,

A nos nombreuses ballades en forêt avec nos amis à quatre pattes,

Je te souhaite d'être heureuse en France, en Espagne, en Italie ou ailleurs !

Au Docteur Didier VERSAILLES,

Qui a su m'apprendre le passage de la théorie à la pratique,

Merci à lui et sa famille pour leur accueil chaleureux et leur gentillesse.

Au Docteur Pierre BERGERON,

Merci pour son instruction.

Aux Docteurs Jean-Paul MARCHAL et Vincent BOUIN,

Merci pour leur patience et leurs bons conseils lors de mes stages.

Aux Docteurs Eric ARVEUX, Joël VIGNES et Yves PETILLON,

Merci pour leur accueil et la formation qu'ils m'ont donnée.

Aux Docteurs Virgile CAILLIER et Jean-Paul GARDET,

Merci de m'avoir donnée ma chance pour démarrer dans la vie active !

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLEAUX

Tableau 1 : Famille des Herpesviridæ

Tableau 2 : Herpesvirus de ruminants apparentés au BHV1

Tableau 3 : Infection des bovins par des herpesvirus autres que BHV1

Tableau 4 : Infection de ruminants domestiques et sauvages par BHV1

Tableau 5 : Classification et fonctions des glycoprotéines de BHV1

Tableau 6 : Procédure d'acquisition et de maintien de l'appellation A « indemne d'IBR »

Tableau 7 : Procédure d'acquisition et de maintien de l'appellation B « contrôlé en IBR »

Tableau 8 : Intérêt des vaccins délétés dans le dépistage de l'IBR

Tableau 9 : Bilan sur les techniques de diagnostic direct de l'IBR

Tableau 10 : Bilan des méthodes de diagnostic sérologique de l'IBR

Tableau 11 : Résultats d'analyses réalisées par le GDS de Corrèze

FIGURES

Figure 1 : Structure du virus BHV1

Figure 2 : Organisation du génome des α herpesvirus

Figure 3 : Cycle de réplication des α herpesvirus

Figure 4 : Phylogénie de différents herpesvirus obtenue après séquençage des acides aminés des glycoprotéines B et D

Figure 5 : Rappels sur le cycle cellulaire

Figure 6 : Bilan du cycle latence – réactivation

Figure 7 : Modalités de transmission de BHV1

Figure 8 : Organisation de la certification des cheptels bovins vis-à-vis de l'IBR en France

Figure 9 : Organisation de la réponse immunitaire face à une infection par BHV1

Figure 10 : Principe de la méthode ELISA indirecte

Figure 11 : Principe de la méthode ELISA de compétition

Figure 12 : Procédure en cas de suspicion de Réaction Sérologique Faussement Positive

Figure 13 : Ostéologie de la face ventrale du crâne des bovins

Figure 14 : 1^{ère} étape de découpe – méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux

Figure 15 : 2^{ème} et 3^{ème} phase de découpe - méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux

Figure 16 : 4^{ème} étape de découpe - méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux

Figure 17 : Mise en évidence des ganglions trijumeaux - méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux

Figure 18 : Prévalence de l'IBR dans les cheptels bovins français au cours de la campagne 2005-2006

Figure 19 : Incidence de l'IBR dans les cheptels bovins français au cours de la campagne 2005-2006

Figure 20 : Cheptels qualifiés par STC vis-à-vis de l'IBR en France

Figure 21 : Statuts des différents pays européens vis-à-vis de l'IBR

Figure 22 : Bête bovine. Base de la cavité crânienne avec les nerfs crâniens qui en émergent.

Figure 23 : Base du crâne du bœuf.

Figure 24 : Préparation du site de découpe – Méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux.

GLOSSAIRE

ACERSA : Association pour la Certification de Santé Animale en élevage
ADCC : Antibody Dependant Cell Cytotoxicity
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
BHV1 : Bovine HerpesVirus de type 1
BICP : Bovine Infected Cell Protein
CA : Conseil d'Administration
CC : Comité de Certification
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CP : Comité Permanent
CSE : Comité de Suivi et d'Evaluation
DDSV : Direction Départementale des Services Vétérinaires
DEX : Dexaméthasone
DGAL : Direction Générale de l'Alimentation
DICC : Dose Infectante en Culture Cellulaire
ECP : Effet Cytopathogène
EILA : Essais Interlaboratoires d'Aptitude
ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
GDS : Groupement de Défense Sanitaire
IBR : Infectious Bovine Rhinotracheitis
IDR : Intra Dermo Réaction
IPB : Infectious Pustular Balanoposthitis
IPV : Infectious Pustular Vulvovaginitis
JO : Journal Officiel
LGM : Lait de Grand Mélange
LR : Latency Related
NK : Natural Killer
OVS : Organisme à Vocation Sanitaire
PCR : Polymerase Chain Reaction
RSFP : Réaction Sérologique Faussement Positive
Se : Sensibilité
Sp : Spécificité
SNGTV : Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires
SNLC : Seronegative Latent Carrier
STC : Schéma Territorial de Certification

SOMMAIRE

1. Introduction	12
2. Etude bibliographique	13
2.1. Etiologie	13
2.1.1. Taxonomie.....	13
2.1.1.1. Famille des herpesviridae.....	13
2.1.1.2. Sous-famille des alpha herpesvirinae.....	15
2.1.2. Infections croisées	18
2.2. Le virus BHV1	19
2.2.1. Présentation	19
2.2.2. Structure	20
2.2.2.1. Composition	20
2.2.2.2. Génome	20
2.2.2.3. Glycoprotéines d'enveloppe.....	22
2.2.2.3.1. Généralités.....	22
2.2.2.3.2. Glycoprotéines et phylogénie des herpesvirus	24
2.2.3. Propriétés biologiques	25
2.2.4. Pouvoir pathogène.....	26
2.2.4.1. Lésions des tissus	26
2.2.4.2. Altération du métabolisme cellulaire	26
2.2.4.3. Altération de la réponse immunitaire	27
2.2.4.3.1. Induction d'apoptose	27
2.2.4.3.2. Modification de l'expression du CMH.....	28
2.2.5. Pouvoir antigénique.....	28
2.2.6. Pouvoir immunogène	28
2.2.6.1. Réponse immunitaire non spécifique	28
2.2.6.2. Réponse immunitaire spécifique de type cellulaire.....	30
2.2.6.3. Réponse immunitaire spécifique de type humorale	30
2.2.6.4. Echappement du virus à la réponse immunitaire	32
2.2.6.5. Immunité chez le jeune	32
2.3. Pathogénicité	34
2.3.1. Première infection	34
2.3.1.1. Contamination	34
2.3.1.2. Multiplication locale et excrétion virale.....	34
2.3.1.2.1. Cycle viral de multiplication	35
2.3.1.2.2. Excrétion virale	36
2.3.1.3. Extension de l'infection	36
2.3.1.3.1. Dissémination locale	36
2.3.1.3.2. Diffusion systémique par virémie	36
2.3.1.3.3. Dissémination par voie nerveuse.....	36
2.4. Latence	37
2.4.1. Définition	37
2.4.2. Localisation	37
2.4.3. Mise en place de la latence.....	38
2.4.4. Rôles du gène LR	38
2.4.5. Réactivation.....	39
2.4.5.1. Généralités.....	39
2.4.5.2. Stimuli	40
2.4.5.3. Mécanisme de la réactivation.....	40

2.5.	Clinique	42
2.5.1.	Forme respiratoire	42
2.5.2.	Forme génitale.....	43
2.5.2.1.	Vulvovaginite et balanoposthite.....	43
2.5.2.2.	Avortements	44
2.5.2.3.	Métrites après césarienne	45
2.5.2.4.	Mammites.....	45
2.5.3.	Autres formes	45
2.5.3.1.	Encéphalite	45
2.5.3.2.	Septicémie des nouveaux-nés.....	46
2.5.3.3.	Atteinte podale	46
2.5.4.	Surinfections.....	47
2.6.	Modalités de contrôle de l'IBR en France : méthodes et limites	47
2.6.1.	Epidémiologie de l'IBR	47
2.6.1.1.	Généralités.....	47
2.6.1.1.1.	Situation actuelle	47
2.6.1.1.1.1.	En France.....	47
2.6.1.1.1.2.	En Europe	49
2.6.1.1.2.	Sources de BHV1	49
2.6.1.1.3.	Modes de transmission de l'IBR	50
2.6.1.1.3.1.	Matières virulentes	50
2.6.1.1.3.2.	Transmission directe	50
2.6.1.1.3.3.	Transmission indirecte	51
2.6.1.1.4.	Facteurs de réceptivité des troupeaux	52
2.6.1.1.5.	Réservoirs.....	52
2.6.1.2.	Facteurs de risque de transmission.....	52
2.6.1.2.1.	Intervention de vecteurs du virus	52
2.6.1.2.2.	Transmission par insémination artificielle	53
2.6.1.2.3.	Sevrage des veaux	54
2.6.1.2.4.	Mise en estive.....	54
2.6.2.	Modalités de contrôle de l'IBR en France	54
2.6.2.1.	Intérêts : impacts économiques	54
2.6.2.2.	Les acteurs.....	55
2.6.2.2.1.	Le Ministère de l'Agriculture.....	55
2.6.2.2.2.	L'ACERSA	55
2.6.2.2.3.	Les GDS (Groupements de Défense Sanitaire).....	56
2.6.2.2.4.	Les laboratoires d'analyses	56
2.6.2.2.5.	La DDSV (Direction Départementale des Services Vétérinaires)	56
2.6.2.2.6.	Organisation	56
2.6.2.3.	Plan de contrôle national et mesures sanitaires	58
2.6.2.3.1.	Généralités.....	58
2.6.2.3.2.	Prophylaxie annuelle	58
2.6.2.3.3.	Contrôle à l'introduction	59
2.6.2.3.4.	Mesures en cas de résultat non négatif.....	61
2.6.2.3.5.	La certification des cheptels	61
2.6.2.3.6.	Cas particulier des estives	62
2.6.2.3.7.	Les mesures de contrôle en centres de collecte de semence	63
2.6.2.3.8.	La vaccination	64
2.6.3.	Diagnostic de l'IBR.....	66
2.6.3.1.	Diagnostic clinique et différentiel	66

2.6.3.2.	Méthodes de diagnostic directes : mise en évidence du virus.....	66
2.6.3.2.1.	Réalisation des prélèvements	66
2.6.3.2.2.	Recherche des virions.....	67
2.6.3.2.3.	Recherche des antigènes viraux	68
2.6.3.2.4.	Recherche de l'ADN viral.....	68
2.6.3.3.	Méthodes de diagnostic indirectes : mise en évidence des anticorps.....	70
2.6.3.3.1.	Réalisation des prélèvements	70
2.6.3.3.2.	Réaction d'hypersensibilité retardée	70
2.6.3.3.3.	Réactions de sérologie.....	71
2.6.3.3.3.1.	Séroneutralisation.....	71
2.6.3.3.3.2.	Hémagglutination passive	71
2.6.3.3.3.3.	Immunofluorescence indirecte	71
2.6.3.3.3.4.	ELISA.....	71
2.6.3.4.	Limites de la détection du BHV1 par ces méthodes	73
2.6.3.4.1.	Les animaux porteurs latents séronégatifs	73
2.6.3.4.2.	Les infections croisées	74
3.	Mise au point d'une technique de récupération du ganglion trigéminé.....	75
3.1.	Intérêt du ganglion trigéminé dans la lutte contre l'IBR.....	75
3.1.1.	Problématique.....	75
3.1.2.	1 ^{ère} solution : réactivation virale à la dexaméthasone	75
3.1.3.	2 ^{ème} solution : recherche virale sur les ganglions trijumeaux.....	76
3.2.	Aspects réglementaires.....	76
3.3.	Rappels anatomiques.....	77
3.4.	Description de la méthode.....	79
3.4.1.	1 ^{ère} phase : préparation du site de découpe.....	79
3.4.2.	2 ^{ème} phase : découpe	80
3.4.3.	3 ^{ème} phase : prélèvement des ganglions trijumeaux	83
4.	Analyses et résultats	84
4.1.	Description du contexte.....	84
4.1.1.	Définitions	84
4.1.2.	Cas du dépistage de l'IBR.....	84
4.1.3.	Procédures en cas de suspicion de RSFP	85
4.1.4.	Enquête épidémiologique	87
4.1.5.	Procédure de recontrôle et de décision.....	88
4.2.	Description de la technique d'analyse.....	89
4.2.1.	PCR	89
4.2.2.	Isolement viral après passage sur culture cellulaire	89
4.3.	Résultats obtenus au cours des analyses	89
4.4.	Interprétation	90
4.4.1.	Cas négatifs	90
4.4.2.	Cas suspects.....	91
4.4.3.	Cas positifs	91
4.5.	Intégration de la méthode dans le plan de lutte national	91
5.	Conclusion.....	93
6.	Bibliographie.....	94
7.	Textes Réglementaires	111

1. Introduction

L'IBR, ou Rhinotrachéite Infectieuse Bovine, est une maladie rencontrée dans l'espèce bovine. Elle est due à l'infection des animaux par un virus de la famille des *Herpesviridae*, le BHV1 (Bovine Herpesvirus de type 1). Au cours des années 70, ce virus était connu comme responsable d'une atteinte génitale provoquant des troubles de la reproduction. Par la suite une forme respiratoire est apparue. BHV1 est capable de se maintenir sous forme latente dans les ganglions trijumeaux des animaux infectés et d'être réactivé à tout moment de la vie de l'animal.

Actuellement l'IBR a une incidence clinique restreinte, par contre elle représente un enjeu commercial important. En effet, certains pays ont exigé des garanties sanitaires vis-à-vis du BHV1 pour la vente d'animaux. En France, l'ACERSA (Association pour la Certification de Santé Animale en élevage) a mis en place un système de contrôle et de certification des cheptels. Mais le dépistage de BHV1 peut poser des problèmes, avec parfois l'obtention de résultats aberrants. Etant donné l'impact commercial de l'IBR, il faut pourtant être en mesure de garantir la qualification des cheptels bovins. C'est pourquoi l'une des techniques de diagnostic consiste à rechercher la présence du virus dans les ganglions trijumeaux du bovin après l'abattage de l'animal.

Le travail réalisé ici consiste dans un premier temps à décrire l'agent infectieux avec ses particularités, son épidémiologie, les méthodes de diagnostic et la gestion de l'IBR en France. Dans un deuxième temps nous décrirons la méthode que nous avons développée afin de prélever les ganglions trijumeaux des bovins. Enfin nous verrons de quelle façon ces ganglions sont analysés et les résultats qui ont été obtenus. Nous pourrions alors conclure quant à l'intérêt de cette technique dans le cadre de la gestion nationale de l'IBR.

2. Etude bibliographique

2.1. Etiologie

2.1.1. Taxonomie

2.1.1.1. Famille des herpesviridae

La famille des herpesviridae se divise en trois sous-familles : alpha, bêta et gamma herpesvirinae. Les virus de cette famille sont caractérisés par la présence d'une enveloppe, une molécule d'ADN double brin et une capsidie icosaédrique. Le virion se compose de quatre unités structurales : le core, la capsidie, le tégument et l'enveloppe. La sous-famille des α herpesvirinae sera étudiée plus loin.

La sous-famille des β herpesvirinae est constituée des genres *Cytomegalovirus*, *Muromegalovirus* et *Roseolovirus*. Elle a très peu d'importance en médecine vétérinaire. Le cycle de réplication des virus est lent (plus de 24h), ils ont une étroite spécificité d'hôtes et provoquent une destruction lente des cultures cellulaires. Les cellules infectées ont une taille augmentée par la présence d'inclusions cytoplasmiques et nucléaires. Ces virus établissent des infections latentes dans les cellules glandulaires sécrétoires, les cellules lymphoréticulées, les reins...

La sous-famille des γ herpesvirinae contient le genre *lymphocryptovirus* dont les cibles sont des poissons d'eau douce et d'eau salée et le genre *Rhadinovirus* ayant pour cibles des singes dont les ouistitis. Le virus responsable du coryza gangréneux ovin fait également partie de cette sous-famille (herpesvirus ovin type 2) ⁽⁸⁹⁾. Il s'agit de virus à tropisme lymphocytaire, capable de rester latent dans les lymphocytes. Certains ont des propriétés oncogéniques. D'autres infectent les cellules épithéliales et les fibroblastes.

Tableau 1 : Famille des Herpesviridae ^(72, 94, 95)

Sous-famille	Genre	Virus associés	
<i>Alpha herpesvirinae</i>	<i>Simplexvirus</i>	Bovine Herpesvirus 2	Mammite ulcerative, thélite
	<i>Varicellovirus</i>	Bovine Herpesvirus 1	Rhinotrachéite infectieuse bovine
		Bovine Herpesvirus 5	Méningoencéphalite
		Suis Herpesvirus 1	Maladie d'Aujesky encéphalite mortelle
		Caprine Herpesvirus 1	Vulvovaginite, infection néonatale mortelle
		Ovine Herpesvirus 1	Surinfection d'adénomatose pulmonaire
		Cervine Herpesvirus 1 (cerf)	Pathologies oculaires
		Elk Herpesvirus 1 (Elan)	Infection génitale subclinique
		Buffalo Herpesvirus 1 (buffle)	Infection subclinique
		Rangiferine Herpesvirus 1 (renne)	Infection génitale subclinique
<i>Gamma herpesvirinae</i>	<i>lymphocryptovirus</i>	Bovine Herpesvirus 4	Vulvovaginite, métrite post- partum, avortements
		Ovine Herpesvirus 2	Coryza gangréneux, forme européenne
		Caprine Herpesvirus 2	Subclinique

2.1.1.2. Sous-famille des alpha herpesvirinae

Les alpha herpesvirinae sont caractérisés par un cycle de réplication court (moins de 24h), une grande variabilité d'hôtes et provoquent en général une destruction rapide des cultures cellulaires. Ils ont la capacité d'établir des infections latentes principalement dans les cellules nerveuses. Ils ont une grande importance vétérinaire ⁽⁹⁰⁾.

On peut distinguer deux genres : le genre *simplexvirus* (herpesvirus bovin de type 2) et le genre *varicellovirus* (herpesvirus bovin de type 1, herpesvirus bovin de type 5, herpesvirus porcine de type 1, virus responsable de la maladie de Marek chez les volailles, virus responsable de la laryngo trachéite infectieuse chez les volailles)

La sous-famille des α herpesvirinae regroupe des virus présentant des caractéristiques communes, certains présentent un intérêt particulier dans la maîtrise de l'IBR du fait de leur proximité avec le virus BHV1. Il s'agit des virus suivants :

Tableau 2 : Herpesvirus de ruminants apparentés au BHV1

Virus	Hôte naturel	Pathologie	Distribution géographique
<u>Herpesvirus bovin 1 (BHV1)</u>	bovins	Rhinotrachéite infectieuse bovine Vulvovaginite infectieuse pustuleuse	Europe, Amérique, Asie, Australie
<u>Herpesvirus bovin 5 (BHV5)</u>	bovins	Méningo-encéphalite mortelle	Europe, Amérique, Australie
<u>Herpesvirus du buffle (BuHV1)</u>	buffle d'eau	Infection génitale subclinique	Europe (Italie), Australie
<u>Herpesvirus caprin 1 (CapHV1)</u>	chèvre	Vulvovaginite, avortements, infections néonatales systémiques	Europe, Amérique, Australie, N ^{elle} Zélande
<u>Herpesvirus du cerf (CerHV1)</u>	cerf élaphe	Syndrome oculaire	Europe
<u>Herpesvirus du renne (CerHV2)</u>	renne	Infection génitale subclinique	Europe, Amérique
<u>Herpesvirus de l'élan (ElkHV1)</u>	élan	Infection génitale subclinique	Europe, Amérique du Nord

- BHV5

L'infection se fait par inoculation intranasale. La réplication a lieu au niveau du site d'entrée : la muqueuse respiratoire. L'excrétion virale dure pendant 10 à 60 jours avec un pic entre le 4^{ème} et le 6^{ème} jour post infection. La virémie est transitoire puis le virus va se localiser dans des organes secondaires. La diffusion se fait par le sang, par passage de cellules à cellules (échappement au système immunitaire), par le système nerveux : infection des nerfs périphériques et migration intra axonale. Le virus atteint alors des neurones du ganglion trigéminal et des cellules olfactives de la muqueuse nasale.

Chez le veau BHV5 provoque une méningo-encéphalite fatale. Cela se traduit par un écoulement nasal séreux, de l'apathie, de l'anorexie. Les signes neurologiques sont une dépression sévère avec hypersalivation, tremblements musculaires, tourner en rond, pousser au mur, ataxie, opisthotonos. Les lésions histologiques dans le cerveau sont multiples : méningite, infiltration périvasculaire de cellules mononuclées, neuronophagie, inflammation des cellules satellites et des cellules gliales, hémorragie, nécrose, œdème. De plus l'inoculation du virus BHV5 au niveau de la conjonctive provoque une conjonctivite, au niveau de la muqueuse nasale une rhinite et au niveau vaginal une vulvovaginite.

Après une première infection, la latence s'établit chez les survivants dans le ganglion trijumeau, les muqueuses nasales et trachéales et le système nerveux central. Après réactivation le virus pourra s'installer sous forme latente dans d'autres sites du cerveau.

- CapHV1

L'inoculation nasale ou génitale est suivie par une virémie associée aux cellules mononuclées, qui provoque une infection systémique et des avortements. Les sources d'infection sont les animaux infectés en phase symptomatique ou en phase de latence. L'excrétion virale se fait au niveau oculaire, nasal et génital. La voie génitale est la principale voie d'entrée.

Chez les chevreaux CapHV1 provoque une maladie systémique à morbidité et mortalité élevées. On trouvera à l'autopsie des lésions ulcérales et nécrotiques le long du tractus digestif. Chez l'adulte, CapHV1 provoque une balanoposthite ou une vulvovaginite et des avortements dans la 2^{ème} moitié de la gestation.

On peut mettre en évidence l'ADN viral dans le placenta et dans les organes fœtaux. La réactivation virale a lieu suite à un stress physiologique (saison de reproduction), aux hormones pendant l'oestrus, à l'administration de hautes doses de dexaméthasone. La réexcrétion virale a lieu chez des animaux présentant un faible taux d'anticorps. Le site de latence est le ganglion sacré. Le site d'excrétion dépend du site d'infection.

- CerHV1

L'infection se fait au niveau de l'appareil respiratoire supérieur et de la muqueuse oculaire. L'excrétion virale débute 2 à 6 jours post infection, dans les sécrétions nasales et oculaires. La voie génitale semble également jouer un rôle.

CerHV1 est responsable d'un syndrome oculaire avec conjonctivites, sécrétions oculaires purulentes, hypopion, opacification cornéenne uniforme sans ulcération, sécrétions nasales mucopurulentes, photophobie, œdème de la paupière supérieure. Le virus possède un cycle de latence et de réactivation.

- CerHV2

L'infection est asymptomatique. On note une excrétion génitale. Le virus présente un cycle de latence, réactivation et réexcrétion. La transmission se fait par voie génitale.

- Latence

Le site de latence, quelque soit l'herpesvirus en cause, est toujours un ganglion nerveux. Il dépend du site d'inoculation : ganglion trigéminé pour une infection par voie respiratoire, ganglions sacrés lors d'infection par voie génitale.

Les α herpesvirus sont proches sur les plans antigénique et génétique. La sérologie ne permet pas de faire la distinction entre ces virus du fait de réactions croisées. Des études expérimentales ont mis en évidence que ces α herpesvirus étaient capables de franchir la barrière d'espèce et d'établir une infection dans une autre espèce que l'espèce cible⁽⁵¹⁾.

2.1.2. Infections croisées

Différentes études ont montré l'existence d'infections croisées par les herpesvirus de ruminants. L'herpesvirus apparenté à une espèce de ruminants peut infecter une espèce différente, parfois provoquer des signes cliniques, parfois induire une réponse sérologique, d'autres fois l'infection croisée aboutit à la réalisation d'un cycle viral complet ^(14, 95).

Tableau 3 : Infection des bovins par des herpesvirus autres que BHV1

virus	Infection primaire	Excrétion virale	Réponse sérologique	Latence	Réactivation - réexcrétion
BHV5	+	+++	+	+	+
CapHV1	+	++	+	+	-
CerHV1	-	+/-	-	-	-
CerHV2	+/-	+	+/-	-	-

Tableau 4 : Infection de ruminants domestiques et sauvages par BHV1

espèce	Infection primaire	Excrétion virale	Réponse sérologique	Latence	Réactivation - réexcrétion
Chèvre	+	++	++	+	++ (signes cliniques)
Cerf	+/-	+	+/-	-	-
Renne	+/-	+	-	-	-
Mouton	+	++	++	+	++

Ces possibilités d'infections croisées ont des conséquences sur la gestion et le contrôle de l'IBR en élevage. En effet il faut tenir compte du fait que :

- les moutons et les chèvres sont de potentiels réservoirs de BHV1 (latence, excrétion et réexcrétion virale massives). Cependant leur capacité de transmission de BHV1 aux bovins est limitée (un mouton inoculé avec BHV1 peut infecter 0,1 veau alors qu'un bovin en infecte 9) ⁽³⁷⁾. Cerfs et rennes ne constituent pas des sources majeures de transmission du BHV1 ^(24, 50).
- il existe des bovins infectés par des alphaherpesvirus hétérologues : CapHV1 est un agent majeur d'infections croisées (excrétion virale, séroconversion, latence chez les bovins). CerHV2 peut infecter et provoquer une séroconversion chez les bovins, mais

ne peut y établir de latence. Cependant cette infection croisée est peu probable dans la nature. D'après différentes études l'infection naturelle de bovins par CerHV1 semble impossible. L'infection de bovins par ElkhV1 est possible expérimentalement et provoque une séroconversion quand l'inoculation est intranasale ⁽²⁰⁾. Cependant aucune réaction croisée avec ElkhV1 n'a été mise en évidence dans la nature ⁽⁹⁰⁾.

Les conséquences des infections croisées de ruminants par les alphaherpesvirus sur le dépistage de l'IBR sont de plusieurs ordres :

- dépistage des ovins et caprins infectés par le BHV1, sources potentielles de transmission virale, dans le cas des élevages mixtes bovins/ovins ou bovins/caprins
- dépistage des bovins infectés par CapHV1, CerHV2 ou BHV5, responsables de réactions croisées positives dans le cas du dépistage de l'IBR par sérologie. Cependant ce risque est limité car :
 - o BHV5 est très peu présent en Europe
 - o CerHV2 n'est présent en Europe qu'en Finlande et en Norvège
 - o Le risque de transmission de CapHV1 concerne essentiellement les élevages mixtes bovins/caprins ⁽¹⁴⁾

2.2. Le virus BHV1

2.2.1. Présentation

Le virus BHV1 est l'agent pathogène responsable de la rhinotrachéite infectieuse bovine. On peut distinguer deux sous-types du virus BHV1, différenciables par des analyses de restriction enzymatique ou par liaison avec des anticorps monoclonaux. Chaque sous-type possède des propriétés antigéniques caractéristiques et des pathologies associées :

- le sous-type BHV1.1 est responsable principalement de la forme clinique respiratoire
- le sous-type BHV1.2 est responsable principalement de la forme clinique génitale (Vulvovaginite infectieuse pustuleuse (IPV), balanoposthite infectieuse pustuleuse (IPB)), et est lui-même divisé en sous-types BHV1.2a et BHV1.2b, ce dernier ne présentant pas la capacité de provoquer des avortements.

Cependant cette distinction BHV1-1/BHV1-2 ne correspond pas exactement à la distinction forme respiratoire / forme génitale. Dans la plupart des cas, mais pas la totalité, on retrouvera BHV1-1 dans le tractus respiratoire et BHV1-2 dans le tractus génital ⁽⁹³⁾.

2.2.2. Structure

2.2.2.1. Composition

Le virus possède une taille allant de 150 à 200 nm. Le BHV1 est composé d'une molécule d'ADN bicaténaire enroulée autour d'une bobine fibrillaire et fixée à ses extrémités à la face interne de la capsidie icosaédrique. Cette dernière comporte 162 capsomères et mesure 100 nm de diamètre. Elle est entourée par le tégument, lui-même recouvert d'une enveloppe de nature phospholipidique, portant des glycoprotéines à sa surface : les spicules.

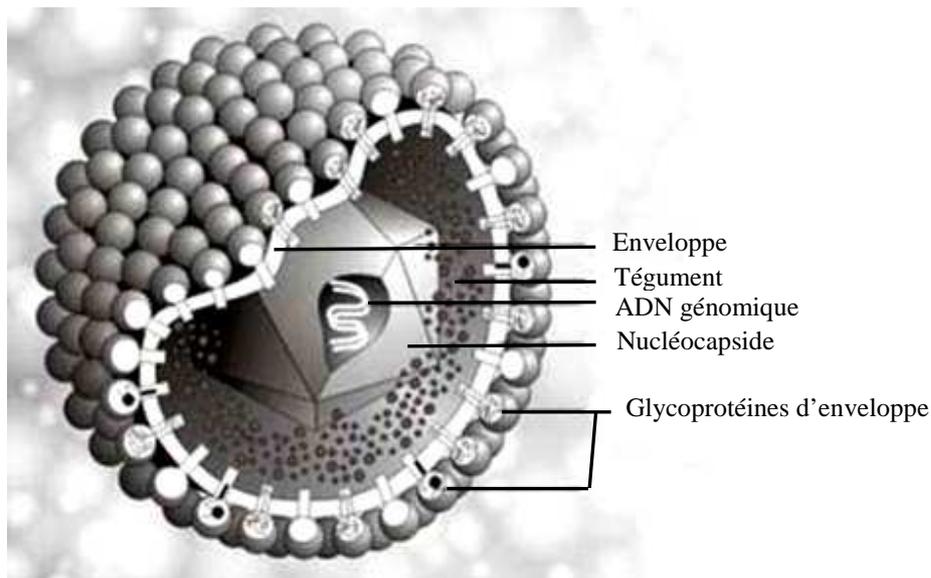


Figure 1 : Structure du virus BHV1 ⁽²²⁾

2.2.2.2. Génome

Le génome du BHV1 est intégralement connu. Il comporte 135301 paires de bases. Il présente une séquence unique courte : U_S , une séquence unique longue : U_L et des séquences répétées interne (IR) et terminale (TR) ⁽⁷²⁾.

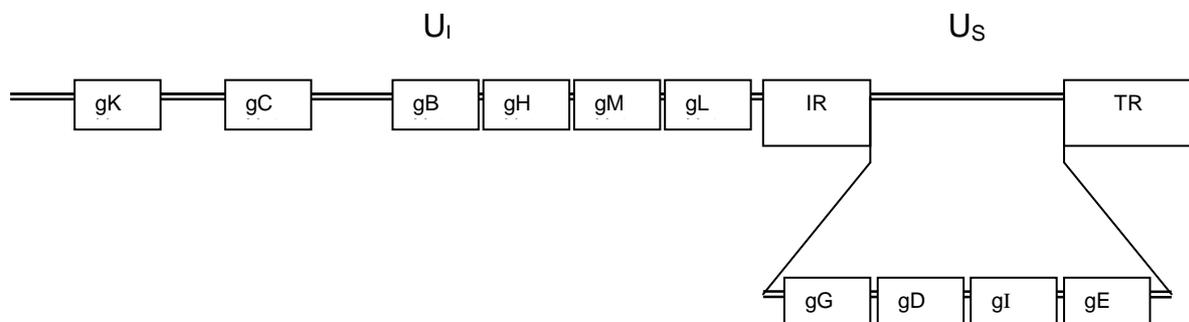


Figure 2 : Organisation du génome des alpha herpesvirus ⁽⁹³⁾

Le génome de BHV1 code pour un grand nombre de protéines impliquées dans la synthèse de l'ADN, le métabolisme des acides nucléiques... Les gènes codant pour ces protéines peuvent être classés en quatre catégories :

- les gènes codant pour des protéines responsables de la multiplication du virus
- les gènes codant pour des protéines permettant la diffusion du virus dans l'organisme hôte à partir de son lieu d'inoculation
- les gènes codant pour des protéines altérant les défenses immunitaires de l'hôte
- les gènes codant pour des protéines responsables de la pathogénicité du virus sur les cellules hôtes ⁽⁷¹⁾

L'expression du génome viral est spécifique du type de cellule dans lequel il se trouve. Lors d'une infection lytique, c'est-à-dire lors de l'infection de cellules autres que nerveuses, l'expression des gènes est intense et se fait selon une cascade particulière :

- expression des gènes α codant pour les protéines précoces immédiates IE (Immediately Early). Leur activation est faite par une protéine virale préexistante. Il s'agit par exemple du gène bICP4.
- expression des gènes β codant pour les protéines précoces E (Early), activée par l'expression des gènes IE. Il s'agit par exemple des gènes thymidine kinase, ribonucléotide réductase. Les protéines synthétisées ont un rôle dans la réplication de l'ADN viral, elles ne sont pas structurales.
- expression des gènes γ codant pour les protéines tardives L (Late) telles que les composants structuraux du virion, ainsi que pour des éléments permettant l'entrée du virus dans la cellule. On distingue les gènes γ_1 , exprimés à un faible niveau même en l'absence d'expression des gènes IE ou E, et à expression maximale lorsque l'ADN est répliqué et qu'il y a au moins une protéine IE synthétisée, et les gènes γ_2 transcrits seulement lorsque l'ADN est répliqué.

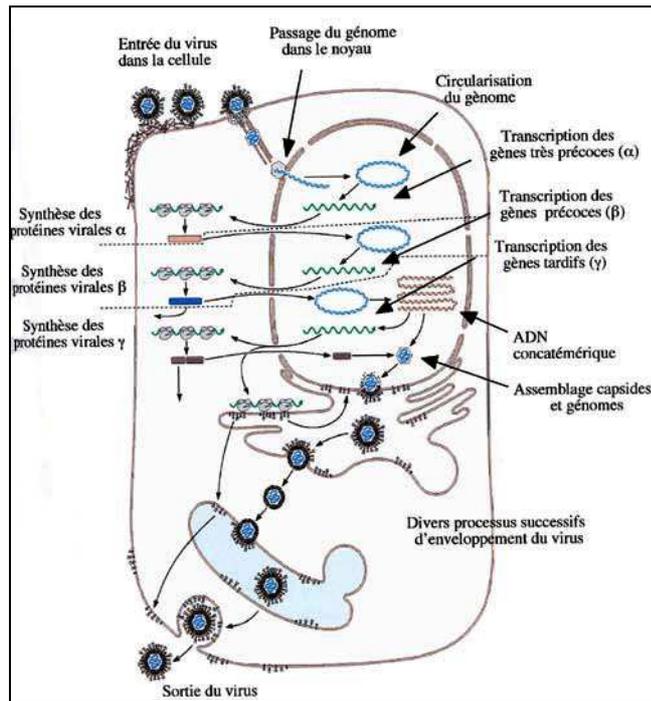


Figure 3 : Cycle de réplication des α herpesvirus ⁽¹⁰⁰⁾

Lors de l'infection de cellules nerveuses où le virus passe en phase de latence, c'est-à-dire dans les neurones sensitifs du ganglion trigéminal, seul le gène LR (Latency Related) est exprimé. L'expression du génome viral est restreinte dans ces cellules car elles ne possèdent pas les facteurs nécessaires à l'expression des gènes IE ^(78, 84). Les protéines issues de l'expression du gène LR bloquent l'entrée en phase S du cycle cellulaire. Elles ont également pour rôle d'éviter l'apoptose induite normalement par le virus BHV1 dans les cellules infectées, permettant ainsi l'entrée en latence du virus ⁽⁵⁸⁾.

2.2.2.3. Glycoprotéines d'enveloppe

2.2.2.3.1. Généralités

On dénombre 10 glycoprotéines d'enveloppe connues : gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL et gM. Six d'entre elles sont localisées sur le segment U_L (gK, gC, gB, gH, gM, gL) et quatre sur le segment U_S (gG, gD, gI, gE). Elles jouent un rôle important dans les interactions entre le virus et la cellule cible : elles permettent l'entrée du virus dans la cellule cible, la fusion et le passage des virions de cellule à cellule. Les glycoprotéines interviennent également à différents niveaux du cycle viral et ont un rôle important dans la pathogénicité du virus.

On distingue les glycoprotéines essentielles qui sont indispensables à la réalisation du cycle viral : gB, gD, gH, gL, gK, des glycoprotéines non essentielles : gC, gE, gI, gG, gM. Une modification dans un gène codant pour une protéine essentielle empêche la survie du virus.

Les glycoprotéines sont situées sur l'enveloppe du virus et à la surface des cellules hôtes. Elles ont donc un rôle important dans la mise en place de la réponse immunitaire. Cependant cet effet immunogène est d'intensité variable selon la glycoprotéine. On distingue gB, gC et gD qui sont hautement immunogènes et considérées de ce fait comme des glycoprotéines majeures, de gE, gG, gH, gI, gK, gL et gM faiblement immunogènes donc glycoprotéines mineures.

Tableau 5 : Classification et fonctions des glycoprotéines de BHV1 ^(6, 73)

<u>Nom</u>	<u>Gène</u>	<u>Propriétés</u>	<u>Fonctions</u>	<u>Interactions</u>
gB	U _L 27	Hautement immunogène	Essentielle Attachement, entrée dans la cellule, passage de cellule à cellule, fusion	Récepteurs héparine-like
gC	U _L 44	Hautement immunogène	Non essentielle Attachement, virulence (hémagglutinine)	Récepteurs héparine-like, complément (C ₃ b)
gD	U _S 6	Hautement immunogène	Essentielle Entrée dans la cellule, passage de cellule à cellule	Associée à gH
gE	U _S 8	Faiblement immunogène	Non essentielle Passage de cellule à cellule	gI
gG	U _S 4	Faiblement immunogène	Non essentielle Maintien les jonctions intercellulaires	
gH	U _L 22	Faiblement immunogène	Essentielle Entrée dans la cellule, passage de cellule à cellule, sortie	Forme un complexe avec gL qui permet l'ancrage de gL dans la membrane cellulaire
gI	U _S 7	Faiblement immunogène	Non essentielle Passage de cellule à cellule	Associée à gE, permet la fusion cellulaire
gK	U _L 53	Faiblement immunogène	Essentielle Transport intracellulaire vers la surface de la cellule des composants viraux contrôlant la fusion des cellules	
gL	U _L 1	Faiblement immunogène	Essentielle Entrée dans la cellule	Complexe avec gH
gM	U _L 10	Faiblement	Non essentielle	

		immunogène	Influence la fluidité membranaire donc favorise l'entrée et la sortie du virus de la cellule hôte	
--	--	------------	---	--

La glycoprotéine B, codée par le gène UL27, est hautement conservée chez les herpesvirus proches de BHV1. C'est la glycoprotéine la plus immunogène, les anticorps anti-gB apparaissent précocement et persistent deux à trois ans après l'infection. C'est pourquoi on utilise ces anticorps anti-gB pour le diagnostic sérologique de l'IBR.

La glycoprotéine D a un rôle essentiel pour la pénétration du virus dans la cellule hôte et dans le passage du virus de cellule à cellule ⁽¹⁹⁾. En effet, elle agit sur les neurones en provoquant la formation de diverticules le long des axones. Ces formations se créent suite à l'attachement du virus sur le neurone, mais ne nécessitent pas forcément son infection. Ces diverticules vont permettre ensuite la sortie des particules virales nouvellement formées. L'attachement, la pénétration du virus dans les neurones et la formation des diverticules résultent de l'échange de signaux entre les deux éléments. La formation de diverticules le long des axones permet également la diffusion du virus vers les muqueuses. En effet, les fibres sensibles du nerf trijumeau gagnent les membranes basales des épithéliums où elles perdent leur gaine de myéline et sont alors aptes à former des diverticules, laissant sortir les virions.

La glycoprotéine H est un composant structural du virion. Elle forme un complexe avec gL. gH est essentielle pour la réalisation du cycle viral infectieux. Elle est spécifiquement impliquée dans l'entrée du virus dans la cellule et son passage de cellule à cellule. Le complexe gH-gL est important pour la synthèse et le transport de gH, pour l'induction de la réponse d'anticorps neutralisants et l'ancrage de gL dans la membrane plasmique de la cellule ⁽⁶⁷⁾. gH possède plusieurs domaines fonctionnels ⁽⁸⁵⁾.

2.2.2.3.2. Glycoprotéines et phylogénie des herpesvirus

L'étude des gènes et des glycoprotéines des herpesvirus a permis de mettre en évidence les homologues entre ces différents virus. Pour cela, des techniques de restriction enzymatique par des endonucléases ainsi que la PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne) ont été utilisées. Les glycoprotéines B et D ont été séquencées. La glycoprotéine B, hautement conservée, présente des pourcentages d'homologies entre les virus BHV1, BHV5, CapHV1,

CerHV1 et RanHV1 allant de 87,2 à 99,6%. On note également que parmi les herpesvirus de ruminants, BHV5 est le plus proche de BHV1 et que CapHV1 en est le plus éloigné ^(59, 82).

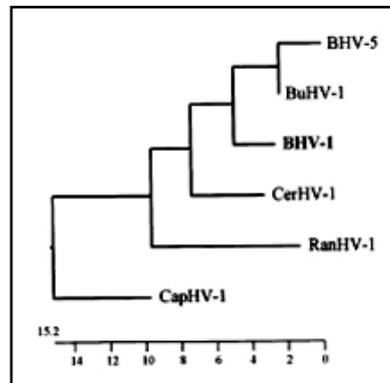


Figure 4 : Phylogénie de différents herpesvirus proches de BHV1 obtenue après séquençage des acides aminés de la glycoprotéine B ⁽⁸¹⁾

La recombinaison entre génomes est également à l'origine de variations génétiques importantes. Des virus recombinants sont détectés à la fois après une primo infection et après réactivation d'un état latent. Cette recombinaison peut facilement avoir lieu entre deux souches différentes de la même espèce d'herpesvirus. Par contre le risque de recombinaison entre deux herpesvirus d'espèces différentes, même très proches génétiquement, est faible. C'est pourquoi des fragments hautement conservés du gène de la glycoprotéine B sont utilisés comme amorces pour la mise en évidence des virus par PCR.

2.2.3. Propriétés biologiques

Les herpesvirus sont relativement fragiles, ils survivent difficilement en dehors de l'hôte. Différents facteurs interviennent sur leur stabilité :

- la température : le virus BHV1 survit en hiver pendant un mois dans le milieu extérieur, 6 à 13 jours dans un bâtiment : il est très stable à des températures inférieures à -65°C et inactivé en un mois à +4°C. En été il survit 5 à 9 jours dans un bâtiment (9 jours à +37°C). Il est détruit en quelques secondes à plus de 63°C.
- l'humidité relative : la survie de BHV1 est optimale avec une humidité relative de 90%.
- le pH : le virus est stable à un pH compris entre 6 et 9.

- les UV : BHV1 est détruit par les UV et par l'action combinée d'agents photosensibles comme l'hématoporphyrine avec la lumière ⁽¹⁰⁾.
- les agents chimiques : les virions possèdent une enveloppe lipidique, ils sont donc sensibles à l'action des désinfectants. Ils sont détruits par le formaldéhyde à 38% en 6 heures, l'eau de Javel à 1,5% de chlore en 1 heure, l'acide peracétique à 3% en 1 heure. Ils sont également sensibles à l'action de la chaux chlorée 1%, de la soude 0,5%, des ammoniums quaternaires 1% et des dérivés du phénol 1%.
- les enzymes : le BHV1 est sensible à l'action de la trypsine ⁽¹⁰⁾.

2.2.4. Pouvoir pathogène

Le virus BHV1 est responsable de différentes actions pathogènes.

2.2.4.1. Lésions des tissus

Le virus de l'IBR provoque des lésions tissulaires notamment au niveau des cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur et de la muqueuse génitale. La multiplication du virus dans ces sites provoque la lyse des cellules infectées, qui se traduit cliniquement par des ulcères. Le virus possède également un tropisme pour les cellules nerveuses, il peut de ce fait provoquer des encéphalites chez les jeunes bovins. Lors de la phase aiguë de l'infection, l'expression du gène de latence LR permet la réplication du virus dans l'œil ou le nerf optique, d'où des conjonctivites. De plus le virus sera excrété au niveau de l'œil.

2.2.4.2. Altération du métabolisme cellulaire

Le virus BHV1 est également responsable de dysfonctionnements du métabolisme cellulaire. En effet il provoque l'arrêt de la synthèse des protéines cellulaires de l'hôte, dès les premières heures suivant l'infection, au profit de la synthèse de ses propres protéines. Cela engendre de la nécrose. La protéine responsable de cette action est la protéine vhs (Virion Host Shutoff) ⁽⁷¹⁾ codée par le gène tardif U_L41. Elle provoque la destruction des ARN messagers de la cellule. Le virus agit également sur le cycle cellulaire. Le gène de latence LR empêche la mort programmée des neurones infectés en bloquant le cycle cellulaire. Cela permet au virus de persister dans les cellules du système nerveux.

2.2.4.3. Altération de la réponse immunitaire

2.2.4.3.1. Induction d'apoptose

L'apoptose est un phénomène physiologique de mort cellulaire programmée. Elle se caractérise au niveau cellulaire par la condensation de la chromatine, la fragmentation de l'ADN, une asymétrie de la membrane plasmique et la rupture de celle-ci. L'apoptose est précédée, lors de l'infection par le BHV1, d'une réplication virale intensive⁽¹⁸⁾. Cependant la pénétration du virus dans la cellule cible n'est pas toujours nécessaire, seul l'attachement du virus est essentiel. L'interaction entre une ou des glycoprotéines d'enveloppe de BHV1 et un récepteur membranaire pendant le processus d'attachement du virus est responsable de l'induction de l'apoptose dans la cellule cible⁽³⁸⁾.

Le virus induit l'apoptose en fonction du type de cellule qu'il a infecté, certaines catégories de cellules étant plus résistantes que d'autres. L'infection de cellules mononuclées ou de lymphocytes T_{CD4+} par le virus BHV1, infectieux ou inactivé, entraîne leur apoptose. Par contre le virus inactivé ne pourra pas provoquer l'apoptose de fibroblastes ou de cellules épithéliales⁽²¹⁾. Dans le cas des neurones, sites de latence du virus, seul le gène LR (Latency Related) y est exprimé. Or les produits de ce gène inhibent l'apoptose. Cela permet au virus de maintenir sa latence en empêchant la mort des neurones infectés⁽⁵⁸⁾.

L'apoptose induite par le BHV1 est liée à l'expression de la protéine virale bICP0 (bovine Infected Cell Protein 0) qui a un rôle majeur dans la régulation de la transcription des gènes viraux. En activant l'expression du génome viral, donc la production de nouveaux virions, bICP0 provoque la mort de la cellule infectée. De plus cette protéine possède une toxicité cellulaire, liée à un domaine hautement conservé de sa structure. Ce site est appelé «zinc ring finger». Il est situé à l'extrémité N-terminale de bICP0. Il induit l'agrégation de la chromatine dans les cellules infectées, modifiant ainsi leur survie^(40, 44). La protéine p53, chargée du contrôle de l'intégrité de l'ADN cellulaire, détecte ces anomalies génétiques et provoque l'apoptose de la cellule infectée⁽²¹⁾.

Le virus BHV1 provoque également la mort des cellules mononuclées sanguines ainsi que des lymphocytes T_{CD4+}. Or ces derniers ont pour rôle de produire des cytokines qui activent les lymphocytes T_{CD8+} cytotoxiques, les cellules NK, les macrophages et les lymphocytes B. Leur destruction a donc des répercussions sur l'ensemble de la réponse immunitaire de l'hôte⁽²⁷⁾.

2.2.4.3.2. Modification de l'expression du CMH

Le virus BHV1 modifie la réponse immunitaire de l'hôte en interférant avec l'expression des molécules de CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) de classe I⁽¹¹¹⁾. En effet, il provoque dans les cellules infectées une diminution de la surface d'expression du CMH I, dès 2 heures après l'infection. Ceci est dû à l'expression de gènes précoces β ainsi qu'à la protéine vhs présente chez le virion, qui inhibe la synthèse des protéines cellulaires. L'assemblage et le transport des molécules du CMH sont alors bloqués. Les protéines du CMH sont retenues dans le réticulum endoplasmique. Cela permet au virus d'échapper à l'action des lymphocytes T cytotoxiques de l'hôte. De plus la protéine Circ du BHV1 bloque le signal de transduction de l'interféron γ qui induit normalement l'expression des molécules du CMH de type II au niveau des monocytes⁽¹⁰⁾.

2.2.5. Pouvoir antigénique

Le pouvoir antigénique du BHV1 est porté par les glycoprotéines d'enveloppe qui sont le support de la réponse immunitaire spécifique. La glycoprotéine gC stimule surtout les lymphocytes T_{CD4+} auxiliaires, gI stimule l'activité des cellules NK (Natural Killer). La glycoprotéine gB est très antigénique et induit un niveau élevé et persistant d'anticorps.

La réponse immunitaire est la même vis-à-vis des différents sous-types de BHV1 et des différentes souches présentes chez les bovins⁽⁴⁸⁾. Des réactions croisées sont possibles avec d'autres α herpesvirus de ruminants ayant des épitopes communs.

2.2.6. Pouvoir immunogène

L'infection par le virus BHV1 induit la mise en place de 3 sortes de réponses immunitaires⁽⁵⁾ :

- une première réponse non spécifique, cellulaire, avec l'action des polynucléaires neutrophiles et la production précoce de cytokines
- une réponse spécifique cellulaire au cours de laquelle interviennent les lymphocytes T
- une réponse spécifique humorale faisant intervenir les lymphocytes B.

2.2.6.1. Réponse immunitaire non spécifique

Il s'agit de la première ligne de défense de l'organisme face à l'agression par un virus. Elle implique les polynucléaires neutrophiles, les cellules NK (Natural Killers), les macrophages et les fibroblastes. Il y a alors production rapide d'interférons α et β ⁽⁹³⁾ ainsi que de facteurs qui limitent l'attachement du virus à l'épithélium respiratoire. Certains mécanismes de l'immunité non spécifique sont constitutifs comme le complément, d'autres sont induits par l'infection virale comme les interférons.

Les interférons α et β sont présents dès la cinquième heure post-infection, leur niveau atteint un pic dans les sécrétions nasales et le sang dans les 36 à 72 heures suivant l'infection. Il reste ensuite élevé jusqu'à l'arrêt de la multiplication virale. La production d'interférons est induite directement par la multiplication du virus et indirectement par les macrophages recrutés sur le site de l'infection.

Les cellules intervenant sur le site de l'infection (macrophages, polynucléaires neutrophiles et cellules NK) libèrent une vague de cytokines précoces qui initie la réponse inflammatoire, le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires, puis sont relayées par la réponse immunitaire spécifique.

Les cytokines pro inflammatoires (interleukine 1, interféron α) libérées par les macrophages alvéolaires et les cellules épithéliales pulmonaires induisent une hyperthermie et une infiltration massive des poumons par des polynucléaires neutrophiles dans les 24 à 48 heures post-infection. Elles entraînent également l'expression de molécules d'adhésion intracellulaires par les cellules endothéliales, permettant l'adhésion des leucocytes.

Des cytokines précoces (IL 1, IL 6) induisent la production par les cellules du parenchyme pulmonaire et les lymphocytes, de facteurs stimulant les colonies de macrophages et de granulocytes. Cela participe à la différenciation des macrophages dès 24 heures post-infection.

L'interféron α provoque un passage massif des lymphocytes T_{CD8+} du torrent circulatoire vers le poumon, où ils sécrètent des cytokines tardives. Celles-ci déclenchent la destruction des cellules infectées par BHV1 par les macrophages et les lymphocytes T_{CD8+} eux-mêmes.

Pour éviter un effet excessif et délétère de cette réponse inflammatoire, notamment au niveau des poumons, on note la libération d'annexines I et IV à la surface des alvéoles

pulmonaires. Ces molécules inhibent la phospholipase A2 qui est à l'origine de la cascade inflammatoire. Les annexines diminuent donc la réponse inflammatoire dans les poumons. Leur libération est induite par les glucocorticoïdes. Cette action ne dépend pas de l'agent pathogène en cause, elle se met en place systématiquement en cas de pneumonie, quelle qu'en soit l'origine ⁽⁴⁹⁾.

La vitesse et l'amplitude de cette première réponse immunitaire déterminent la capacité de l'hôte à contrôler une primo-infection par le BHV1.

2.2.6.2. Réponse immunitaire spécifique de type cellulaire

Après la mise en place précoce de la réponse immunitaire non spécifique, la réponse immunitaire à médiation cellulaire s'établit, 7 à 10 jours après l'infection. Les glycoprotéines virales gB, gC et gD, qui sont les glycoprotéines majeures d'enveloppe, déclenchent la réponse immunitaire spécifique et en sont les cibles. La glycoprotéine gC agit notamment en stimulant les lymphocytes T_{CD4+} ⁽¹¹⁴⁾. gC et gD constituent également des cibles pour les lymphocytes T_{CD8+} cytotoxiques ⁽⁹³⁾. Les autres acteurs de cette réponse sont les macrophages, les cellules NK, les polynucléaires neutrophiles, les lymphocytes T_{h1} et T_{h2}. Ils produisent des interférons γ qui sont dirigés contre les antigènes viraux. Ces éléments de la réponse immunitaire détectent et détruisent les cellules de l'hôte qui sont infectées. Lors d'une seconde infection ou de la réactivation d'une phase de latence les polynucléaires neutrophiles détruisent les cellules infectées par cytotoxicité dépendante des anticorps (Antibody Dependant Cell Cytotoxicity) ou par l'intermédiaire du complément.

Des cytokines tardives : interleukine 2, interleukine 12, interféron γ , sont produites par des lymphocytes auxiliaires et déterminent l'intensité de la réponse immunitaire cellulaire. L'interleukine 2 entraîne une prolifération des lymphocytes et l'activation des cellules cytotoxiques. L'interféron γ active les polynucléaires neutrophiles et les cellules NK.

2.2.6.3. Réponse immunitaire spécifique de type humorale

La réponse humorale faisant intervenir les anticorps intervient surtout pour prévenir une nouvelle infection par BHV1, plus que pour la guérir. Lors d'une primo-infection les anticorps ont un rôle moins important que l'immunité à médiation cellulaire. Les anticorps n'empêchent pas le passage du virus de cellule à cellule. De plus il y a un délai de réponse.

Par contre, en cas de seconde infection, la réponse de type humorale avec production d'anticorps est plus efficace que la réponse cellulaire. Les anticorps persistent deux à trois ans chez l'animal.

Les anticorps agissent en neutralisant les particules virales extracellulaires et en limitant la diffusion extracellulaire de l'infection. Un taux élevé d'anticorps anti-BHV1 dans la muqueuse nasale va permettre, même en cas de réactivation virale, de neutraliser le virus et d'empêcher sa transmission à d'autres animaux.

Les acteurs principaux de la réponse humorale sont les lymphocytes B. Ils produisent des anticorps entre le septième et le douzième jour post-infection. Il s'agit d'anticorps neutralisants. Les glycoprotéines gB, gC et gD induisent la réponse humorale et en sont la cible. Les lymphocytes B agissent avec des cellules cytotoxiques via le système de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC).

La cinétique de la réponse humorale par anticorps après exposition au virus BHV1 par voie intra-nasale est la suivante :

- apparition d'IgG1 au 7^{ème} jour post infection (j.p.i.). Pic d'IgG à 35 j.p.i. chez des animaux non gestants, 14 j.p.i. chez des animaux gestants. Puis diminution progressive du niveau d'anticorps IgG. En cas de seconde exposition au virus il y a formation d'IgG1 et d'IgG2.
- apparition d'IgM à partir du 7^{ème} j.p.i., pic à 14 j.p.i. puis diminution rapide du niveau d'anticorps IgM. La présence d'IgM dans le sang signifie donc qu'il y a eu une exposition récente de l'animal au virus BHV1. En cas de seconde exposition au virus il n'y a pas de synthèse d'IgM⁽³⁶⁾.
- apparition d'IgA de façon transitoire après réinfection par BHV1 et de façon rapide après réactivation. Détection de ces IgA dans les sécrétions nasales et oculaires, parfois génitales, avec une sensibilité élevée⁽⁶⁰⁾.

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

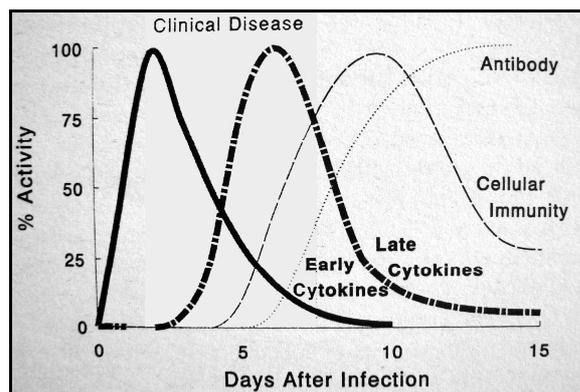


Figure 9 : Organisation de la réponse immunitaire face à une infection par BHV1 ⁽⁵⁾

2.2.6.4. Echappement du virus à la réponse immunitaire

Le virus BHV1 est capable d'échapper en partie aux systèmes de défense de l'organisme. En effet, les alphaherpesvirus ont une activité immunosuppressive : ils infectent les lymphocytes T_{CD4+} et provoquent leur apoptose, ils infectent les monocytes et les macrophages et provoquent une diminution de l'expression du CMH I ⁽¹¹⁷⁾. Macrophages et monocytes ne jouent alors plus leur rôle de cellules présentatrices d'antigènes et le système immunitaire n'est pas stimulé. De plus les virions portent des protéines qui miment des molécules clefs du système immunitaire de l'hôte (par exemple la fraction du complément C3b). Enfin le virus infecte de nouvelles cellules soit en lysant la cellule dans laquelle il se trouvait, soit en passant de cellule à cellule par des ponts intercellulaires. Ce dernier mode d'infection lui permet d'échapper à la reconnaissance par le système immunitaire, notamment les anticorps neutralisants ⁽⁷²⁾.

Le virus BHV1 provoque une immunosuppression qui favorise d'autres infections virales et bactériennes. Il affaiblit l'action des macrophages, des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes. Il y a une diminution des récepteurs à l'interleukine 2, diminution de la prolifération des cellules mononuclées du sang périphérique, diminution du nombre de lymphocytes T circulants. Enfin, l'infection des monocytes et des macrophages par le virus entraîne une baisse de la phagocytose, une diminution de la fonction ADCC, une diminution de la stimulation des lymphocytes T ⁽³³⁾.

2.2.6.5. Immunité chez le jeune

Le fœtus est capable de fabriquer des IgM dès le 3^{ème} mois de gestation, cependant c'est insuffisant pour le protéger d'une infection par le BHV1 qui entraîne alors la mort du

fœtus. Le veau nouveau-né ne possède pas d'anticorps anti-BHV1. En effet le placenta des ruminants est de type syndesmo-chorial et ne permet pas le transfert des γ globulines. Cependant on remarque que certains veaux possèdent des anticorps en faible concentration. L'hypothèse retenue pour expliquer cela est que le veau ingère du sang maternel à la mise bas, contenant des anticorps ⁽¹²⁾.

L'immunité passive du veau se fait par l'intermédiaire des anticorps colostraux qui le protègent efficacement de l'expression clinique de la maladie. Leur demi-vie est courte : 2,5 jours pour les IgA, 4 jours pour les IgM, 16 à 32 jours pour les IgI et les IgE. Les anticorps maternels persistent 95 à 231 jours selon le titre initial. Le problème est que la présence de ces anticorps maternels chez le veau peut interférer avec le développement d'une réponse immunitaire active face à une infection par le BHV1 ⁽⁵⁷⁾. Le virus se multiplie et s'installe alors à l'état latent, alors que le veau ne fabrique pas d'anticorps endogènes ⁽⁵⁵⁾. On obtient alors des veaux séronégatifs porteurs latents SNLC (Sero Negative Latent Carriers). On ne peut détecter ces animaux par des tests sérologiques, même après la disparition des anticorps maternels. En cas de réactivation du virus le veau ne produira pas d'anticorps. Par contre une réponse immune à médiation cellulaire peut être mise en évidence par le test à l'interféron γ entre 1 et 10 semaines après l'infection ⁽¹⁰⁾. De la même façon des animaux SNLC peuvent être obtenus en vaccinant des veaux nouveaux-nés sous immunité colostrale avec un vaccin vivant atténué ⁽⁵²⁾.

Les animaux SNLC posent un problème au niveau du contrôle de l'IBR. En effet la détection du virus BHV1 se fait par des tests sérologiques. Chez ces animaux les tests seront négatifs alors qu'ils sont bien porteurs du virus. En cas de réactivation virale ils deviennent excréteurs et peuvent contaminer les animaux avec lesquels ils sont en contact. Le seul moyen de trouver ces animaux est de les traiter à la dexaméthasone pour réactiver le virus. Il existe une autre possibilité de détection des veaux SNLC. Elle consiste à vacciner les mères avec un vaccin délété pour gE. Les veaux possèdent alors des anticorps colostraux contre les différentes glycoprotéines virales, excepté gE. En cas d'infection par le virus BHV1, les animaux deviennent porteurs latents. Après disparition des anticorps colostraux ils deviennent séronégatifs sauf pour gE. On peut ainsi différencier un animal infecté d'un animal vacciné ⁽⁵⁴⁾.

2.3. Pathogénicité

Le virus BHV1 possède une spécificité cellulaire. Il provoque une infection productive dans certaines cellules : les cellules épithéliales de l'appareil respiratoire supérieur, la muqueuse vaginale ou préputiale, les lymphocytes T_{CD4+}, les monocytes, les macrophages, les amygdales et les conjonctives.

2.3.1. Première infection

2.3.1.1. Contamination

La voie d'entrée principale du BHV1 est la voie respiratoire, par l'intermédiaire de l'épithélium des cavités nasales et de l'oropharynx. Il se transmet également par voie génitale. Une même souche de virus peut donner différentes infections selon son lieu d'inoculation ⁽³⁾. Le BHV1 se transmet aussi par voie conjonctivale.

Les contacts directs « nez à nez » constituent le principal facteur de risque de transmission. Le passage du virus entre animaux sous la forme d'aérosols est également possible. L'infection génitale se fait soit de façon directe au cours de la saillie, soit indirectement par les paillettes d'insémination artificielle ou le transfert d'embryons, le virus résistant bien à la cryoconservation ⁽⁸⁾. L'alimentation et l'eau contaminées sont également des sources d'infection, ainsi que les manchons trayeurs de la machine à traire.

2.3.1.2. Multiplication locale et excrétion virale

Le virus se multiplie au niveau du site d'infection : dans les cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur, dans la sphère génitale ⁽²⁵⁾... BHV1 réalise un cycle lytique infectieux qui conduit à la production de nouveaux virions et à la mort de la cellule par nécrose (inhibition des synthèses protéiques de la cellule) ou apoptose. Le virus empêche également la migration de nouvelles cellules épithéliales vers les zones lésées ⁽⁷²⁾. L'excrétion de BHV1 débute dès l'infection de l'animal, présente un pic concomitant au pic d'hyperthermie et persiste 1 à 2 semaines.

2.3.1.2.1. Cycle viral de multiplication

L'infection de la cellule cible se fait en trois étapes :

- attachement du virus à des structures particulières de la surface de la cellule cible telles que des sucres, par l'intermédiaire des glycoprotéines B et/ou C. Il s'agit d'une fixation faible. Puis l'interaction des glycoprotéines D avec des récepteurs cellulaires spécifiques assure une fixation forte.
- pénétration du virus par fusion de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique de la cellule. Cette étape implique quatre glycoprotéines : B, D, H et L.
- dans la cellule les particules virales sont transportées par des microtubules associés à un complexe moteur de dynéine. Les virions sont ainsi conduits jusqu'aux pores du noyau, permettant le transfert du génome viral à l'intérieur. Celui-ci devient circulaire. Il est alors transcrit et répliqué.

Ce processus est hautement conservé chez les α herpesvirus. Une fois que le virus est entré dans la cellule, des protéines du téguement viral sont libérées dans le cytoplasme de la cellule infectée, où elles interagissent avec les éléments cellulaires. VP8 est la protéine la plus importante en quantité. La protéine codée par le gène UL41, hautement conservé chez tous les α herpesvirus, provoque une baisse rapide de la synthèse des protéines propres à la cellule infectée. La protéine VP16, aussi appelée α TIF (Trans Inducing Factor of α genes) active l'expression des gènes IE (Immediately Early). Il existe deux unités de transcription des gènes IE : IETu1 qui code pour BICP0, BICP4 et Circ, et IETu2 qui code pour BICP22. BICP0 active tous les promoteurs du génome viral, il a donc un rôle très important dans la multiplication virale.

- il y a ensuite formation des capsides. L'ADN viral est synthétisé sous la forme de concatémères qui sont clivés avant d'être empaquetés dans les capsides préformées.
- Les particules virales constituées de l'ADN et de la capside quittent le noyau de la cellule hôte et acquièrent leur téguement, puis sortent de la cellule en s'entourant d'une enveloppe formée par la membrane plasmique de la cellule.

2.3.1.2.2. Excrétion virale

Les virions produits après la multiplication locale passent dans le mucus nasal ou vaginal, en concentration élevée. C'est le point de départ de la diffusion de l'infection dans le troupeau, mais également de la dissémination du virus dans l'organisme hôte ⁽⁷²⁾.

2.3.1.3. Extension de l'infection

2.3.1.3.1. Dissémination locale

Le virus diffuse au niveau des muqueuses infectées. Les virions nouvellement produits sont entourés d'une enveloppe portant des glycoprotéines qui leurs permettent d'interagir avec les cellules sensibles et de les infecter. Les glycoprotéines gB, gD et le complexe gH/gL permettent la formation de ponts intercellulaires et le passage du virus de cellule à cellule, lui permettant d'échapper aux défenses de l'organisme, notamment aux anticorps neutralisants ⁽⁷²⁾. Le virus peut également provoquer la lyse de la cellule dans laquelle il s'est multiplié. Les particules virales se retrouvent alors dans le milieu interstitiel et peuvent infecter de nouvelles cellules.

Ce mode de transmission intervient au niveau des sites d'infection locale : tractus respiratoire supérieur, tractus génital, yeux.

2.3.1.3.2. Diffusion systémique par virémie

Après la lyse des cellules infectées, les virions passent dans le milieu extra cellulaire et gagnent le torrent circulatoire. La dissémination du virus dans la circulation sanguine lui permet d'atteindre d'autres organes, donnant lieu à d'autres manifestations cliniques ⁽⁷²⁾. Chez des veaux très jeunes et séronégatifs, la virémie de BHV1 provoque une infection systémique fatale. Le virus peut également atteindre le tractus digestif, les ovaires, la mamelle ou le fœtus. L'atteinte de la sphère génitale peut provoquer l'avortement ⁽⁸⁷⁾. Le transport dans le sang se fait par l'intermédiaire des lymphocytes sur lesquels le virus est adsorbé, ainsi que par les monocytes dans lesquels il se multiplie ⁽¹⁰⁾. L'épisode de virémie est transitoire.

2.3.1.3.3. Dissémination par voie nerveuse

La muqueuse du nasopharynx est innervée par six principaux nerfs. Parmi eux le nerf olfactif et le nerf trijumeau innervent la muqueuse nasale. La partie rostrale de la cavité nasale

est innervée uniquement par le nerf trijumeau, alors que la partie caudale portant l'épithélium olfactif est innervée à la fois par le trijumeau et le nerf olfactif. Le virus BHV1 utilise préférentiellement la voie du trijumeau pour gagner le ganglion trigéminé ⁽⁷²⁾.

Le virus pénètre dans le nerf périphérique au niveau des terminaisons nerveuses. Il est ensuite transporté par voie rétrograde le long des axones, jusqu'au ganglion régional correspondant : le ganglion trigéminé pour une infection de l'appareil respiratoire, le ganglion sacré pour l'infection au niveau génital. Le transport dans l'axone se fait par l'intermédiaire des microtubules ⁽⁷²⁾. Capside et protéines de l'enveloppe sont transportées séparément ⁽²⁶⁾.

2.4. Latence

2.4.1. Définition

Le phénomène de latence correspond à la persistance du virus dans l'organisme en l'absence de détection possible de celui-ci. Le virus peut persister ainsi de nombreuses années. La latence se met en place après une infection primaire, une réactivation ou la vaccination avec un vaccin vivant atténué ou délété ⁽⁵³⁾. Après la phase de multiplication et de dissémination, le virus persiste uniquement dans le noyau des neurones qu'il a infectés, sous forme d'ADN. Aucun agent infectieux ou antigène viral ne peut être mis en évidence chez l'hôte ⁽¹⁰⁾. Pendant la latence, l'animal ne présente aucun signe clinique. Seuls des tests sérologiques peuvent mettre en évidence le passage du virus.

2.4.2. Localisation

Les sites de latence du virus BHV1 sont principalement les neurones sensitifs du ganglion trigéminé lors d'une infection de l'appareil respiratoire (IBR) ⁽²⁾. Lors de l'atteinte de l'appareil génital le site de latence principal sera le ganglion sacré ⁽¹⁾. BHV1 peut parfois établir une latence dans les cellules mononuclées du sang ⁽¹¹⁰⁾ ainsi que dans les tissus lymphoïdes, notamment les amygdales. En effet, on peut mettre en évidence l'infection par le BHV1 des lymphocytes T_{CD4+} des amygdales et des nœuds lymphatiques adjacents. Lors de la phase d'infection aiguë le virus provoque leur apoptose. Pendant la phase de latence seul le transcrit LR est détectable dans les amygdales et en faible quantité, soit parce que peu de cellules contiennent de l'ADN viral, soit parce qu'il est transcrit de façon peu importante. La capacité de BHV1 à se mettre en latence dans les amygdales et à être réactivé à cet endroit joue un rôle important dans sa transmission ⁽¹¹⁶⁾.

2.4.3. Mise en place de la latence

Après sa réplication dans les muqueuses nasales, BHV1 pénètre dans les terminaisons nerveuses des nerfs sensitifs de la cavité nasale et remonte le long des axones jusqu'au corps cellulaire du neurone infecté, situé dans le ganglion régional correspondant ⁽⁷²⁾. Il reste alors en latence.

Lors de la phase de latence on peut mettre en évidence la formation d'un infiltrat inflammatoire chronique de cellules mononuclées dans le ganglion trigéminal. Il produit des facteurs de régulation de l'équilibre entre latence et réactivation : des cytokines. En cas de rupture de cet équilibre entre facteurs viraux, facteurs cellulaires et cytokines, il y a réactivation du virus ⁽¹⁰⁾. Un faible niveau de réactivation spontanée permanente du virus maintient cet infiltrat en activité ⁽¹¹⁸⁾.

2.4.4. Rôles du gène LR

L'étude de l'expression des gènes viraux au cours de la latence a révélé que durant cette période seul le gène LR (Latency Related) est transcrit. Le produit de ce gène est une protéine localisée dans le noyau de la cellule infectée ⁽⁴⁵⁾. Le gène LR possède plusieurs propriétés ⁽⁴³⁾.

On a pu remarquer qu'il était anti-sens du gène bICP0 et le chevauchait. Or bICP0 est responsable de l'activation de l'infection productive. L'ARN de LR a donc la capacité de réguler la synthèse de bICP0. L'extrémité 3' du gène est essentielle pour cette fonction. L'expression d'ARN du gène LR en quantité élevée dans les neurones sensitifs est un des facteurs qui empêchent la multiplication virale et permettent à la latence de s'établir. La synthèse de la protéine LR n'est pas indispensable à ce fonctionnement ⁽³²⁾.

Le gène LR a également pour fonction de maintenir le neurone en vie pendant la latence. Il inhibe la mort cellulaire programmée des neurones infectés ⁽¹⁶⁾. Pour se faire il interagit avec des protéines de régulation du cycle cellulaire : les cyclines.

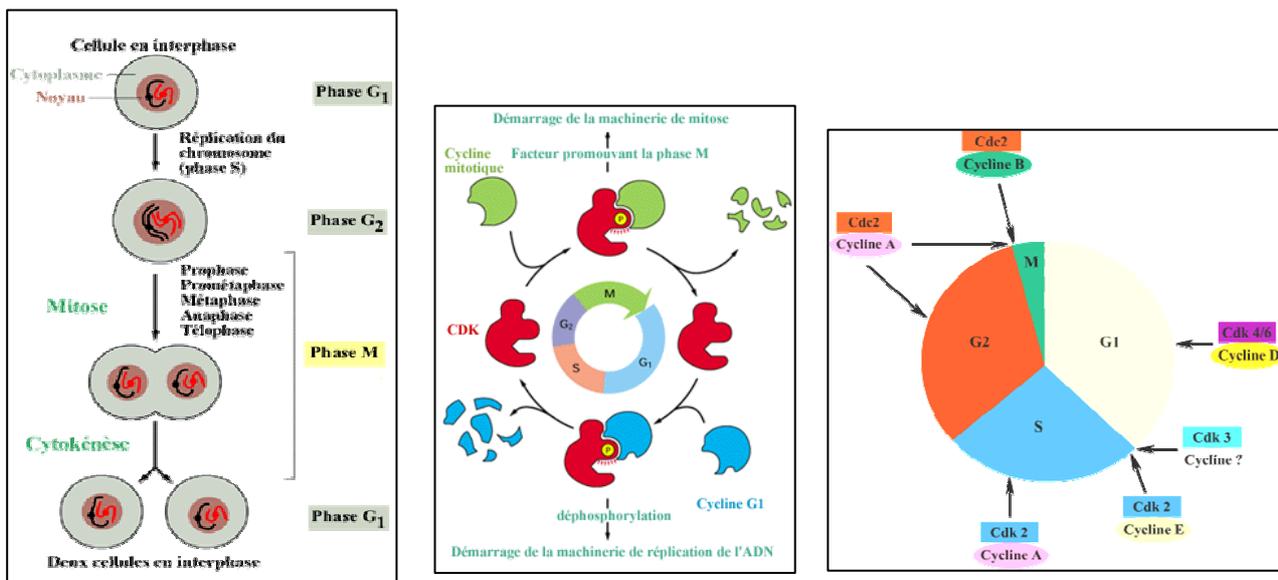


Figure 5 : Rappels sur le cycle cellulaire et sa régulation ⁽⁴⁾

Le produit du gène LR interagit avec les complexes cdk-cyclines, bloquant ainsi leur fonction et empêchant le déroulement du cycle cellulaire ⁽⁴⁵⁾. De plus l'infection d'un neurone par le BHV1 induit la synthèse de cycline A en quantité importante ⁽¹¹⁹⁾. Cette protéine permet l'entrée de la cellule en phase S du cycle cellulaire, elle peut également induire l'apoptose du neurone lorsqu'elle est synthétisée de façon inappropriée. La protéine LR interagit avec la cycline A pour bloquer son action et empêcher l'apoptose du neurone infecté. Les produits du gène LR doivent également empêcher la progression du cycle cellulaire ou l'apoptose du neurone en cas d'échec de réactivation et/ou permettre à la réactivation d'être complète en empêchant la mort prématurée du neurone. Pour que BHV1 persiste dans l'animal infecté il est plus intéressant que les neurones survivent à plusieurs épisodes de réactivation ⁽⁸³⁾.

Enfin la protéine LR est responsable de l'excrétion virale dans les sécrétions oculaires de l'animal infecté, pendant la phase aiguë de l'infection. Elle n'a pas d'influence sur l'excrétion virale nasale. En effet le produit du gène LR stimule la multiplication du virus pendant l'infection aiguë dans certains types de cellules : yeux, nerfs optiques ⁽⁴²⁾.

2.4.5. Réactivation

2.4.5.1. Généralités

Le virus BHV1 peut sortir de sa latence jusqu'à plusieurs années après l'infection primaire, suite à divers stimuli. Après réactivation il y a synthèse de nouveaux virions dans le

du site de latence. Dans le cas du BHV1 on peut détecter des particules virales après réactivation dans les cellules de Schwann, les cellules gliales, les cellules satellites et le mucus nasal dès 10 jours après la réactivation ⁽⁷⁴⁾. On détecte également de l'ADN viral dans les follicules lymphoïdes des amygdales ⁽¹¹⁶⁾. Les particules virales migrent le long des axones vers la périphérie, sortent du neurone et gagnent l'épithélium par lequel elles étaient entrées. Il peut alors y avoir réexcrétion virale et transmission à d'autres individus, selon l'immunité de l'hôte. De même l'expression de signes cliniques n'est pas systématique.

2.4.5.2. Stimuli

Les éléments déclenchant la réactivation du virus sont de différentes sortes. Le traitement à la dexaméthasone correspond à une réactivation induite par un stress dans la nature qui entraîne une augmentation des glucocorticoïdes endogènes. Les glucocorticoïdes sont des régulateurs de l'expression des gènes cellulaires et viraux. Ce sont également des agents immunosuppresseurs. L'injection de dexaméthasone a des effets rapides sur les interactions virus/neurones, elle induit des changements dans le ganglion trigéminal ⁽⁷⁹⁾. La dose permettant la réactivation virale est de 0,1 mg/kg/jour pendant 5 jours.

Le transport des animaux est un stimulus qui est suivi de réexcrétion virale chez 40% des animaux infectés latents, le lendemain du voyage. Cela est important à prendre en compte lors des rassemblements d'animaux car le pic d'excrétion est atteint quand ils sont en contacts, la transmission virale est alors majeure ⁽⁹¹⁾.

La parturition peut également être à l'origine d'une réactivation virale. En effet, elle provoque chez la vache un pic de cortisol, lié au stress de la mise bas et aux efforts expulsifs du part ⁽⁹²⁾.

L'infestation par des larves de *Dictyocaulus viviparus* est responsable de la réactivation du BHV1 chez les animaux infectés latents. Elle est suivie, une à trois semaines après l'infestation larvaire, par la réexcrétion du virus, l'apparition de signes cliniques et de lésions d'IBR ⁽⁷⁰⁾.

2.4.5.3. Mécanisme de la réactivation

Après réactivation dans les neurones du ganglion trigéminal, BHV1 débute un cycle de réplication lytique qui peut conduire à la mort du neurone. On peut détecter de la

neuronophagie, une dégénérescence des neurones et l'inflammation du ganglion trigéminal dans les trois jours suivant un traitement à la dexaméthasone chez un animal porteur latent du virus ⁽⁷⁹⁾. Les nouveaux virions gagnent leur site d'entrée par voie axonale comme lors de la dissémination par voie nerveuse. Les protéines de la membrane virale sont transportées séparément de la capsid et du tégument. Les sites d'assemblage et de sortie des particules virales sont répartis le long de l'axone et au niveau de ses terminaisons. Ces sites de sorties permettent l'infection des cellules gliales étroitement accolées au neurone. Par contre le virus ne peut pas ensuite passer de la cellule gliale infectée à une autre cellule non nerveuse. Les cellules gliales et autres cellules non nerveuses accolées à l'axone limitent ainsi la diffusion du virus ⁽⁹⁷⁾.

La réactivation du virus dans les amygdales entraîne l'apoptose des cellules des follicules lymphoïdes. La multiplication virale et la libération de virions à cet endroit jouent un rôle important dans la transmission du virus à d'autres individus ⁽¹¹⁶⁾.

On retrouve également le virus dans les sécrétions oculaires dans les 24 à 48 heures qui suivent le traitement à la dexaméthasone. La multiplication du virus au niveau de la muqueuse nasale et sa réexcrétion dépendent du statut immunitaire préexistant de l'hôte et de sa réponse immunitaire à la réactivation. La réactivation du virus dans les deux mois suivants l'infection primaire ne donnera pas un taux élevé de réexcrétion virale. De plus des animaux ayant un taux élevé en anticorps neutralisants après la première infection ne réexcréteront pas le virus après réactivation ⁽⁷²⁾.

Enfin le phénotype des nouveaux virions influence la réactivation. En effet des virus délétés de gE établissent une latence mais ne se réactivent pas après traitement ⁽⁶⁴⁾.

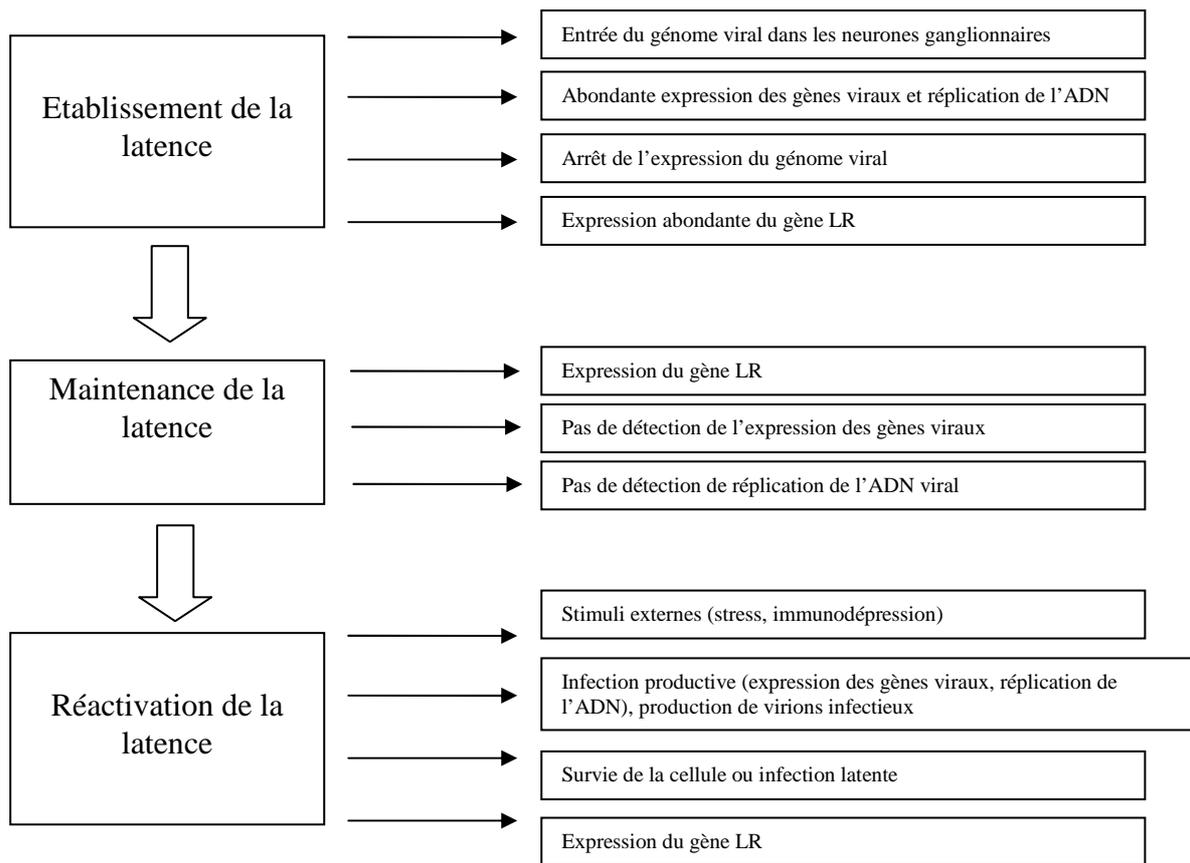


Figure 6 : Bilan du cycle latence - réactivation ⁽⁴⁶⁾

2.5. Clinique

On peut rencontrer des formes subcliniques d'expression de BHV1 dans le cas de souches très peu virulentes. Cela se traduira par une séroprévalence en IBR élevée dans une même région ou un même troupeau, associée à une faible incidence de signes cliniques liés au BHV1.

L'herpesvirus bovin de type 1 est également responsable de différentes formes cliniques.

2.5.1. Forme respiratoire

Il s'agit de l'IBR ou Rhinotrachéite Infectieuse Bovine, due principalement à la souche BHV1-1. Elle atteint des animaux de tous âges et la gravité des signes cliniques est variable selon la souche virale, la résistance de l'hôte etc... L'incubation dure 2 à 4 jours. L'animal présente un jetage nasal d'abord séreux, dans lequel le virus est présent dès 24 heures après l'infection, et qui devient mucopurulent par la suite. Le bovin a une forte

hyperthermie (supérieure à 40°C), du ptyalisme, de l'abattement et de l'anorexie ainsi qu'une chute brutale de la production de lait. La muqueuse nasale présente de l'érythème et des ulcères qui s'étendent au pharynx, à la trachée et aux cavités nasales. L'inflammation peut s'étendre à l'appareil respiratoire profond sous forme de bronchopneumonie, provoquant toux et éternuements. Les muqueuses oculaires sont congestionnées avec du larmoiement. ⁽⁹⁴⁾

Le pic d'hyperthermie et d'expression des signes cliniques est atteint en 3 à 4 jours après l'apparition des premiers symptômes. En l'absence de complication bactérienne l'animal peut guérir en 15 jours. Le taux de mortalité est variable selon la virulence de la souche.

2.5.2. Forme génitale

L'atteinte de l'appareil génital est attribuée à la souche BHV1-2 la plupart du temps.

2.5.2.1. Vulvovaginite et balanoposthite

L'incubation dure de 1 à 3 jours. Il s'agit d'une inflammation de la muqueuse génitale externe (vulve et vagin chez la femelle, prépuce et gland chez le mâle) associée à de l'érythème, de l'hyperhémie, des plaques blanches de membranes fibrineuses et des vésicules qui évoluent en ulcères, avec coalescence des lésions. Elle est associée à de l'hyperthermie (41,5°C), un abattement et une baisse d'appétit. Les animaux présentent en outre une conjonctivite bilatérale avec écoulement séreux et dans la moitié des cas un jetage nasal séreux. Cette affection est traditionnellement appelée « exanthème coïtal » chez la femelle.

Chez le mâle l'affection se traduit par des mictions fréquentes, une incapacité à saillir, un pénis rouge et douloureux. Le sperme est de moins bonne qualité, avec une mobilité réduite et des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (conséquences de la baisse d'état général plus que d'une action virale).

Les symptômes perdurent pendant une à deux semaines. La douleur causée par l'inflammation provoque des efforts expulsifs qui peuvent être suivis d'un prolapsus utérin. (80, 94, 105)

2.5.2.2. Avortements

Les souches BHV1-1 et BHV1-2 sont toutes deux potentiellement responsables d'affections génitales. On peut rencontrer des cas d'avortements lors d'épidémie de forme respiratoire, l'avortement étant une conséquence de la virémie. Il s'agit d'avortements entre 4 et 7 mois de gestation. Le délai entre l'inoculation du virus et son effet sur la gestation varie entre 15 et 64 jours. Le virus peut être isolé dans le placenta dès 8 jours après l'infection. Le fœtus meurt 24 à 48 heures après l'infection et il est expulsé jusqu'à 7 jours après. Le titre viral diminue dans le fœtus, il reste stable ou augmente dans le placenta. Le passage du virus de la mère au fœtus se ferait par passage transplacentaire et diffusion par voie hématogène par la veine ombilicale, ce qui expliquerait les lésions hépatiques. L'infection du fœtus entraîne des anomalies importantes dans les viscères fœtaux, l'arrêt progressif de la circulation sanguine dans le placenta et sa dégénérescence. ^(86, 94)

Les lésions trouvées sur le fœtus sont des taches blanches de 1 à 3 mm de diamètre sur le foie et les reins, un œdème péri rénal sérosanguin, la nécrose massive de la corticale rénale et des hémorragies.

BHV1 est également responsable de mortalité embryonnaire précoce lorsque le bovin est infecté peu après la saillie. Le virus s'adsorbe sur la zone pellucide de l'ovocyte. Il y pénètre ensuite par l'intermédiaire du spermatozoïde, se multiplie dans les cellules de l'embryon et provoque ses effets cytopathiques ⁽⁷⁶⁾. Le virus se retrouve dans la semence des taureaux, il est donc transmis lors de saillies ou d'inséminations artificielles. Il agit à différents niveaux ^(34, 88) puisqu'il infecte l'ovaire (stroma, cellules du cumulus, ovocytes) et les follicules (liquide folliculaire, cellules de la granulosa) ⁽⁶¹⁾, d'où des conséquences multiples :

- ovarite aiguë pendant l'oestrus ^(101, 102)
- endométrite nécrotique sévère ⁽⁶¹⁾
- nécrose hémorragique focale ou généralisée du corps jaune, d'où chute du taux de progestérone et arrêt de la gestation ⁽⁶¹⁾
- nécrose des follicules ovariens

Tous ces effets aboutissent à de l'infertilité et des retours en chaleur.

Enfin l'infection de la vache pendant le dernier tiers de gestation peut provoquer de la mortalité néonatale chez les veaux dans les 12 jours suivants la mise-bas.

Cependant la prévalence de l'IBR dans les causes d'avortements est très faible. Sa recherche systématique n'est donc pas nécessaire lorsqu'un cas d'avortement se présente ⁽¹¹⁾.

2.5.2.3. Métrites après césarienne

L'infection de vaches par le BHV1 peut également favoriser les métrites après césarienne, les rétentions placentaires, voire des métrites péritonitiques ^(61, 94). Cela se produit toujours suite à une primo infection, et non après réactivation d'une infection latente ⁽⁶¹⁾.

2.5.2.4. Mammites

Lorsqu'on inocule du BHV1 dans la mamelle d'une vache, on observe l'apparition de signes cliniques de mammite : quartier dur, chaud, douloureux, chute de la production de lait avec modification de son aspect : grumeaux, sang ⁽¹¹⁴⁾. Le virus peut être isolé dans le lait des quartiers inoculés seulement, et non dans les autres, il n'y a donc pas de passage d'un quartier à l'autre. Au niveau histologique l'inoculation du virus dans la mamelle provoque une nécrose de l'épithélium glandulaire avec infiltration de cellules mononuclées et de polynucléaires et formation de corps d'inclusion dans le noyau des cellules épithéliales.

BHV1 peut être isolé dans des cas de mammites naturelles, mais son rôle semble peu important, il ne s'agit pas d'un germe pathogène majeur de la mamelle. Il peut avoir un rôle facilitateur des infections bactériennes par son activité immunosuppressive.

2.5.3. Autres formes

2.5.3.1. Encéphalite

On rencontre des cas d'encéphalites liées au BHV1 lorsqu'il infecte de jeunes animaux, cependant il s'agit de cas rares ⁽⁶⁸⁾. On en recense aux Etats-Unis, en Allemagne, en Belgique et en Hongrie. Les cas d'encéphalites dues à BHV1 sont la plupart du temps associés à des symptômes respiratoires ou systémiques ⁽⁸⁰⁾.

Les lésions rencontrées sont peu caractéristiques : légère congestion des méninges, petites hémorragies en partie ventrale du cerveau, congestion de la muqueuse digestive et de

l'appareil respiratoire supérieur avec de petites hémorragies. Les nœuds lymphatiques médiastinaux et rétropharyngiens et les amygdales sont hyperplasiques et congestionnés.

A l'examen histologique on note des lésions cérébrales de type méningo-encéphalite non purulente : manchons périvasculaires de cellules mononuclées, gliose, plus ou moins associée à de la myélite. On note également la présence de nécrose, œdème et spongieuse des neurones, avec de nombreux péricaryocytes neuronaux.

2.5.3.2. Septicémie des nouveaux-nés

Lorsque le virus atteint des veaux nouveaux-nés n'ayant pas encore pris le colostrum ou n'ayant pas encore été vaccinés, l'infection se généralise et conduit à la mort rapide du veau ^(86, 94).

A l'autopsie on observera des lésions de nécrose miliaire du foie, de la rate, des reins, des glandes surrénales, du thymus, des plaques de Peyer et des testicules, des ulcères de la muqueuse digestive et de la langue. Dans l'appareil respiratoire on trouve un exsudat fibrino-purulent, des pétéchies, un piqueté nécrotique, des fausses membranes dans le larynx et des poumons congestionnés. Tout cela traduit la généralisation de l'atteinte.

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

2.5.3.3. Atteinte podale

On peut relever l'existence d'un cas où le virus BHV1 a été isolé d'un ulcère de l'espace interdigité chez un bovin ⁽⁹⁴⁾.

2.5.4. Surinfections

Lors d'une atteinte par le BHV1 on peut rencontrer des cas de surinfection bactérienne, notamment dans les cas de rhinotrachéite infectieuse. La pathologie évolue alors sous forme de bronchopneumonie avec atteinte de l'appareil respiratoire profond.

2.6. Modalités de contrôle de l'IBR en France : méthodes et limites

2.6.1. Epidémiologie de l'IBR

2.6.1.1. Généralités

2.6.1.1.1. Situation actuelle

2.6.1.1.1.1. En France

En France en 1997 on dénombrait 10 à 30% des cheptels comme étant infectés par le virus BHV1 ⁽⁹⁴⁾. La qualification des troupeaux mise en place par l'ACERSA à partir de 1996, dans le but d'éradiquer l'IBR, a permis de réduire ce nombre.

La prévalence d'une maladie désigne le nombre total de cas recensés. L'incidence correspond au nombre de nouveaux cas apparus depuis une date que l'on précise. En France, au cours de la campagne laitière 2005-2006, les données étaient les suivantes :

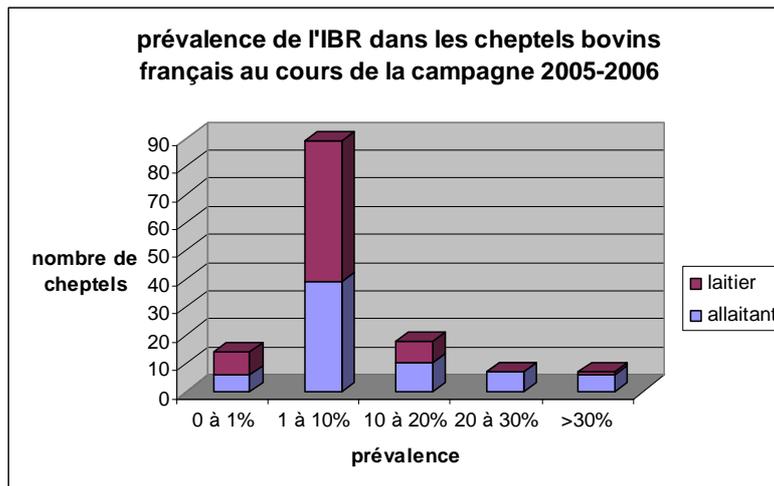


Figure 18 : Prévalence de l'IBR dans les cheptels bovins français au cours de la campagne 2005-2006

(Données de l'ACERSA)

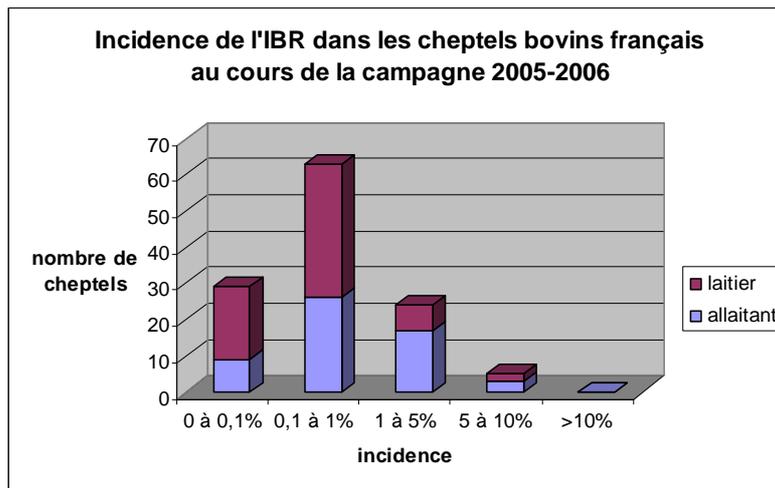


Figure 19 : Incidence de l'IBR dans les cheptels bovins français au 30 juin 2006
(Données de l'ACERSA)

Nous pouvons constater que les ateliers allaitants présentent les plus forts taux d'infection. Cela s'explique par le fait que les opérations de contrôle de l'IBR ont commencé d'abord au niveau des ateliers laitiers.

D'autre part nous observons qu'il existe actuellement peu de cheptels concernés par de forts taux d'infection. Ceci est le résultat de l'action mise en place depuis 1996 par l'ACERSA. En effet, la proportion de cheptels qualifiés a nettement augmenté en France et concerne maintenant une grande part des élevages français :

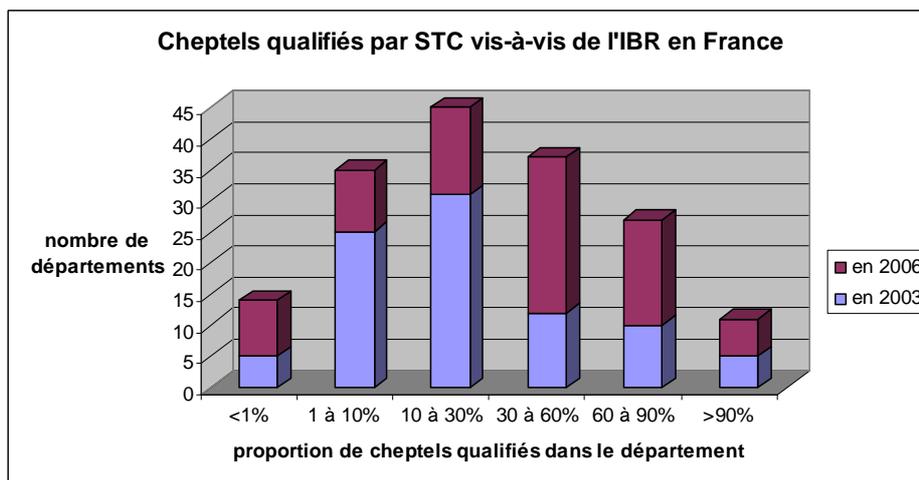


Figure 20 : Cheptels qualifiés par STC vis-à-vis de l'IBR en France

2.6.1.1.1.2. En Europe

La situation des différents pays de l'Europe vis-à-vis de l'IBR est très variable. En effet certains états ont adopté des plans de lutte plus tôt que d'autres, basés sur des actions obligatoires ou volontaires.

Au 1^{er} septembre 2007 on recensait 7 états officiellement indemnes d'IBR : l'Autriche, le Danemark, la Suède, la Finlande, la Norvège, la région de Bolzano en Italie et hors UE, la Suisse. D'autres pays présentent une prévalence en IBR faible à moyenne : l'Allemagne, la France et le reste de l'Italie. Enfin certains états ont une prévalence élevée en IBR : la Belgique et les Pays-Bas ⁽¹⁰⁾.

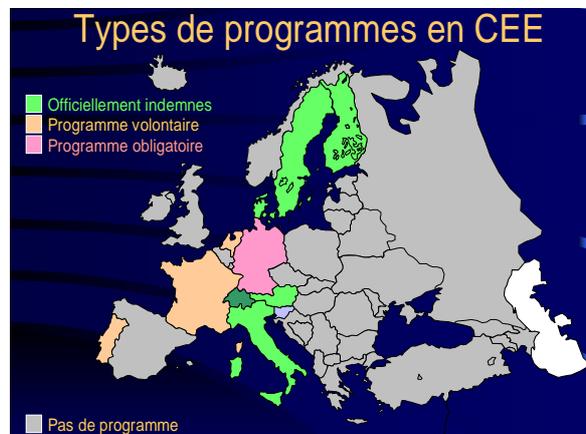


Figure 21 : Statuts des différents pays européens vis-à-vis de l'IBR ⁽⁴¹⁾

2.6.1.1.2. Sources de BHV1

Tous les bovins rencontrant le virus BHV1 deviennent une source de transmission du virus. En effet, même sous immunité colostrale ou vaccination anti-BHV1 le virus peut s'établir à l'état latent dans les ganglions des bovins. En cas de réactivation (liée à un stress) le virus est excrété et l'animal devient une source de contamination pour ses congénères. La vaccination limite cette excrétion virale mais son efficacité n'est pas totale.

La contamination par BHV1 d'un veau sous immunité colostrale pose problème car, comme nous l'avons vu précédemment, le virus entre en latence, peut être réactivé et ré excrété, mais l'animal ne produit pas d'anticorps spécifiques. Il s'agit de bovins porteurs latents séronégatifs, indétectables par les méthodes classiques de sérologie. Ces animaux représentent un risque majeur de transmission de BHV1. Cependant il est difficile d'évaluer leur importance puisqu'on ne peut les détecter sérologiquement.

D'autre part, nous avons vu précédemment que BHV1 peut infecter des ruminants autres que les bovins, établir une latence et être ensuite excrété. Ces espèces représentent donc des sources de transmission de BHV1. Il s'agit principalement des ovins et des caprins. Les cerfs et les chevreuils présentent également un risque faible de transmission de BHV1, cependant chez ces derniers l'excrétion virale n'a lieu qu'au moment de la primo-infection puisqu'il n'y a pas d'établissement d'une latence ^(14, 95).

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

Enfin les paillettes d'insémination artificielle ou les embryons utilisés pour le transfert peuvent être contaminés par le BHV1 et constituer une source de transmission du virus ⁽¹⁰⁵⁾.

2.6.1.1.3. Modes de transmission de l'IBR

2.6.1.1.3.1. Matières virulentes

La transmission du virus BHV1 se fait par l'intermédiaire de matières virulentes sur lesquelles le virus peut s'adsorber ⁽⁹⁾ : les sécrétions nasales et oculaires, le mucus vaginal ou préputial, la semence des taureaux, les embryons. Le virus est excrété de façon massive lors de la phase aiguë de la primo infection : jusqu'à 10^{10} DICC₅₀/g (Dose Infectante en Culture Cellulaire à 50%) de mucus dans les sécrétions nasales et oculaires, jusqu'à 10^{11} DICC₅₀/g de mucus dans les sécrétions génitales et 10^4 DICC₅₀/g de liquide séminal ⁽¹¹²⁾. Or la dose infectante est de 3,2 DICC₅₀ environ ⁽⁵⁶⁾, ce qui est très bas par rapport à l'excrétion. La dose infectante par Insémination Artificielle est de 200 DICC₅₀ ⁽¹⁰⁵⁾.

2.6.1.1.3.2. Transmission directe

La transmission directe de BHV1 peut se faire de deux façons. Elle peut se faire par voie respiratoire, par contact direct de nez à nez. Les animaux malades excrètent le virus dans leurs sécrétions nasales. La toux, les éternuements, voire la respiration, sont alors des sources

de contaminations pour les autres animaux, sous forme d'aérosols. Les conditions environnementales (humidité de l'air, température) influent sur ce mode de transmission ^(62, 63).

Le passage du virus d'un bovin à l'autre peut également se faire par voie génitale. Après infection du tractus génital d'un animal, le virus se multiplie puis est excrété dans le mucus vaginal ou préputial, dans le sperme ou les ovocytes. De cette façon un taureau infecté au niveau génital pourra transmettre le virus au moment de l'accouplement.

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

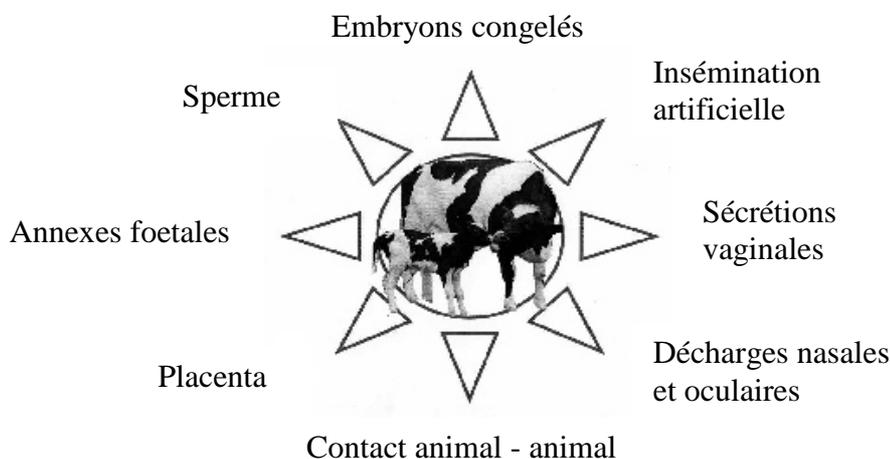


Figure 7 : Modalités de transmission de BHV1 ⁽⁹⁸⁾

2.6.1.1.3.3. Transmission indirecte

La transmission de BHV1 peut se faire de façon indirecte, par l'intermédiaire de vecteurs : toutes les personnes circulant dans les fermes peuvent véhiculer le virus sur leurs vêtements, les mains... Le matériel souillé passant d'un animal à l'autre, voire d'une exploitation à l'autre est également vecteur de BHV1.

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

2.6.1.1.4. Facteurs de réceptivité des troupeaux

Il existe peu de facteurs prédisposant à l'infection par le BHV1. L'espèce la plus sensible est bien sûr l'espèce bovine. La race a très peu d'influence, on peut noter une plus grande sensibilité des Holstein et des Charolaises ⁽⁶⁹⁾. Les mâles semblent plus souvent atteints que les femelles ⁽⁷²⁾, l'âge n'intervient pas comme facteur de réceptivité hormis pour les veaux nouveaux-nés sans anticorps maternels chez qui l'infection par le BHV1 a des conséquences plus graves ⁽¹⁰⁾. Le mode d'élevage ainsi que la proximité d'autres fermes sont des facteurs favorisant également la transmission du virus, par exemple la pratique de la mise en estive ⁽³⁵⁾, la participation à des expositions, des concours agricoles... Enfin l'état de stress de l'animal participe à sa réceptivité vis-à-vis de l'IBR ⁽¹⁰⁶⁾.

Certains facteurs extrinsèques interviennent également : le climat (la forme respiratoire est le plus souvent exprimée en automne et en hiver), l'alimentation (une carence en vitamine A fragilise la muqueuse respiratoire et favorise l'infection par le BHV1) ⁽⁶⁹⁾.

2.6.1.1.5. Réservoirs

Contrairement aux sources de virus qui interviennent dans la transmission de l'agent pathogène d'un animal à l'autre, les réservoirs permettent la survie de l'agent infectieux. Dans le cas de la rhinotrachéite infectieuse bovine, seuls les ovins et les caprins peuvent être considérés comme des réservoirs. En effet après leur infection par le virus BHV1 il s'établit une latence virale dans les ganglions trijumeaux, contrairement à l'infection des cerfs, des rennes et des chevreuils chez qui il n'y a pas de latence ^(14, 95).

2.6.1.2. Facteurs de risque de transmission

2.6.1.2.1. Intervention de vecteurs du virus

Le facteur de risque le plus important dans la transmission de l'IBR est l'intervention d'extérieurs : vétérinaires, inséminateurs, techniciens... ne portant pas de vêtements de protection et passant d'une ferme à l'autre, véhiculant ainsi le virus. Ce facteur représenterait la cause de la moitié des nouveaux foyers d'IBR ⁽¹⁰⁸⁾. Les bovins échappés et mélangés à

d'autres troupeaux constituent également un facteur de risque important, de même que la participation à des concours agricoles, des foires. L'achat d'animaux et leur introduction dans le troupeau sans précautions particulières conduit aussi à des transmissions virales, tout comme le transport en camion d'animaux de différentes provenances. Enfin la présence sur l'exploitation de rongeurs, chiens, chats ou autres pourrait également être un facteur de risque de la transmission de l'IBR, ainsi que les véhicules circulants entre des fermes ⁽¹⁰⁸⁾.

Des études ont mis en évidence la capacité de BHV1 à être transmis entre animaux par l'air, que ce soit à l'étable ou dans les prés ⁽⁶³⁾. Des animaux porteurs du virus de l'IBR au pâturage constituent donc un risque pour les animaux des pâtures voisines par le contact au travers des barrières. Dans une étable la transmission de BHV1 par l'air peut être rapide (environ trois jours), jusqu'à une distance d'environ 4 mètres ⁽⁶²⁾.

2.6.1.2.2. Transmission par insémination artificielle

L'insémination artificielle constitue un facteur de risque de transmission de l'IBR. En effet, un taureau infecté par le BHV1, par voie intranasale ou génitale, excrète des particules virales dans sa semence. On peut mettre en évidence la présence de virions dans le prépuce de ces taureaux infectés.

Le virus persiste à l'état latent dans les ganglions sacrés, permettant ainsi sa réexcrétion après réactivation. L'excrétion virale au niveau du prépuce débute 2 à 7 jours après l'infection de l'animal et a lieu de façon spontanée et intermittente. Les particules virales sont présentes dans le liquide séminal plutôt que dans les spermatozoïdes.

Le pouvoir infectieux de BHV1 est conservé malgré le passage de la semence dans l'azote liquide. Les paillettes fabriquées sont donc contaminées et infectieuses pour les vaches qui les reçoivent. Les paillettes sont contaminées en partie ou en totalité selon le titre infectieux de la semence de départ. De plus le pouvoir infectieux par voie génitale varie selon les souches virales. L'infection d'une vache par BHV1 après insémination artificielle dépend donc du titre viral de la paillette et de la souche présente. La transmission à d'autres animaux est ensuite possible par simple contact.

De plus l'utilisation de paillettes contaminées par BHV1 affecte la fertilité des animaux, raccourcit le cycle oestral et provoque des endométrites.

La semence infectée peut être traitée par ajout d'un immun sérum contenant des anticorps anti-BHV1 ou par traitement à la trypsine qui inactive le virus. ⁽¹⁰⁵⁾

La mise en évidence du virus dans le sperme se fait principalement par PCR.

2.6.1.2.3. Sevrage des veaux

L'isolement social au moment du sevrage, de veaux initialement en groupe, augmente le niveau de facteurs neuro-endocriniens associés au stress, tel que le cortisol. Cet effet se traduit chez les veaux par une hyperthermie associée à une diminution des signes cliniques. Le cortisol agit sur l'organisme en créant une immunodépression favorable au développement viral ⁽¹⁰⁶⁾.

2.6.1.2.4. Mise en estive

La mise en estive constitue un facteur de risque de transmission de l'IBR. En effet, elle regroupe un ensemble d'éléments favorables :

- des facteurs favorisant l'excrétion virale : transport, vêlages et/ou avortements, stress dû au changement d'habitudes des animaux (alimentation, lieu, climat), parasitisme...
- des facteurs favorisant la contamination virale : rassemblement d'animaux sur une surface réduite, mélange de différents troupeaux, variation des cheptels pendant la même saison d'estive, contacts entre animaux lors du transport en camion, promiscuité sur l'estive (regroupement des animaux pour la traite, l'abreuvement, la surveillance la nuit, les contacts avec les autres estives...)
- des facteurs favorisant l'amplification de la circulation virale : mélange de troupeaux de statuts différents, animaux de classes d'âges différentes, éventuellement présence d'animaux porteurs latents séronégatifs ⁽³⁵⁾.

2.6.2. Modalités de contrôle de l'IBR en France

2.6.2.1. Intérêts : impacts économiques

La rhinotrachéite infectieuse bovine n'est pas une zoonose, ni une maladie à forte incidence économique. En effet les atteintes cliniques sont peu fréquentes. L'intérêt de mettre

en place une certification des cheptels est principalement commercial. La certification apporte une garantie de vente à un acheteur ^(28, 69). De nombreux pays européens se sont engagés dans l'éradication de l'IBR sur leur territoire. Certains en sont indemnes, d'autres ont une prévalence élevée. Cependant il existe une volonté d'harmonisation du statut IBR des cheptels européens. La qualification des troupeaux apporte alors une garantie sanitaire à l'acheteur et autorise les transactions avec d'autres pays européens, quel que soit leur statut.

2.6.2.2. Les acteurs

Il faut distinguer dans la gestion de l'IBR la prophylaxie obligatoire mise en place par le Ministère de l'Agriculture, du programme de qualification de l'ACERSA ⁽⁷⁷⁾.

2.6.2.2.1. Le Ministère de l'Agriculture

Le Ministère de l'Agriculture définit et coordonne la gestion de l'IBR au niveau national. Par l'intermédiaire de décrets et d'arrêtés préfectoraux, le ministre de l'agriculture réglemente un certain nombre de maladies. Contrairement à l'action de l'ACERSA qui est basée sur le volontariat des éleveurs, les décisions prises par le Ministère doivent obligatoirement être appliquées.

2.6.2.2.2. L'ACERSA

L'ACERSA : Association pour la Certification en Santé Animale en élevage a été créée conjointement par la FNGDS (Fédération Nationale des Groupements de Défense Sanitaire) et la SNGTV (Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires), en 1996. Cette création avait pour but d'« engager toute action utile concourant à la certification du statut sanitaire de cheptels vis-à-vis de maladies ne faisant pas l'objet d'une prophylaxie réglementée ». C'est-à-dire que l'ACERSA intervient dans la qualification du statut sanitaire des cheptels français par rapport aux maladies réglementées ou non, pour lesquelles l'Etat n'est pas maître d'œuvre. La qualification des cheptels par rapport à l'IBR est basée sur le volontariat des éleveurs.

L'ACERSA est agréée par le Ministère de l'Agriculture pour la qualification officielle des cheptels en IBR, hypodermose bovine et Visna Maedi chez les ovins.

2.6.2.2.3. Les GDS (Groupements de Défense Sanitaire)

Le GDS constitue le maître d'œuvre de la prophylaxie IBR dans chaque département. Il veille au respect des dispositions techniques : la gestion de l'IBR doit se faire par l'intermédiaire de SIGAL (Suivi Informatique et Gestion de troupeaux bovins Allaitants, logiciel de suivi et de bilan de troupeaux pour les éleveurs, dans le cadre d'un suivi vétérinaire ⁽²⁹⁾). Les GDS ont alors accès aux informations sur les mouvements de bovins et les résultats des analyses IBR effectuées par les laboratoires. De plus ils reçoivent les certificats de vaccination IBR des vétérinaires sanitaires. Les GDS doivent en outre détecter les défauts de dépistage ou de vaccination. Ils effectuent alors les premières relances administratives, informent les éleveurs des sanctions encourues. Puis les GDS transmettent le dossier à la DDSV, ainsi qu'une copie au vétérinaire sanitaire.

2.6.2.2.4. Les laboratoires d'analyses

Il existe une liste de laboratoires agréés pour le dépistage de l'IBR, ainsi qu'un laboratoire de référence national situé au sein de l'AFSSA à Lyon. Les laboratoires doivent analyser les échantillons en respectant un cahier des charges, notamment en assurant la traçabilité de ces échantillons. Des Essais Inter Laboratoires d'Aptitudes sont organisés par l'AFSSA pour garantir la qualification des laboratoires pour réaliser les analyses IBR ⁽⁶⁹⁾.

2.6.2.2.5. La DDSV (Direction Départementale des Services Vétérinaires)

La DDSV prend le relais du GDS dans le traitement des litiges avec les éleveurs (refus de se soumettre aux obligations de dépistage ou de vaccination). La sanction pénale encourue correspond à une contravention de 4^{ème} classe.

2.6.2.2.6. Organisation

Les intervenants sont organisés selon des Schémas Territoriaux de Certification (STC) qui délivrent, sur la base du volontariat des éleveurs, des appellations sanitaires aux cheptels de la zone géographique concernée.

Le STC comporte :

- un ou plusieurs Organismes à Vocation Sanitaire (OVS)
- un ou plusieurs GTV
- un ou plusieurs laboratoires

L'activité des STC est coordonnée par un OVS.

La contractualisation des relations entre l'Etat et l'ACERSA s'est faite par l'application de la directive 96/93/CE du Conseil du 17 décembre 1996. L'ACERSA est une association Loi 1901. Elle est constituée d'une Assemblée Générale (AG), d'un Conseil d'Administration (CA) et de deux organes de certification : le Comité de Certification (CC) et le Comité Permanent (CP).

- Le CA définit quelles maladies doivent avoir un cahier des charges.
- Le CC établit et suit le système qualité, sollicite les personnes qualifiées pour le groupe d'experts, valide le cahier des charges « maladie », habilite le STC et règle les contentieux.
- Le CP examine le cahier des charges et donne un avis favorable.
- Les laboratoires réalisent les analyses définies dans le cahier des charges.
- L'OVS coordonne le STC, suit le système qualité, délivre les appellations.
- Le GTV forme et informe les vétérinaires praticiens, inscrit les vétérinaires intervenants en élevage.
- Le vétérinaire intervenant en élevage informe et sensibilise les éleveurs et réalise les actes définis dans le cahier des charges.
- L'éleveur adhère volontairement au système qualité et s'engage à respecter le cahier des charges « maladies ».

Les STC sont habilités par un comité de suivi et d'évaluation de l'ACERSA.

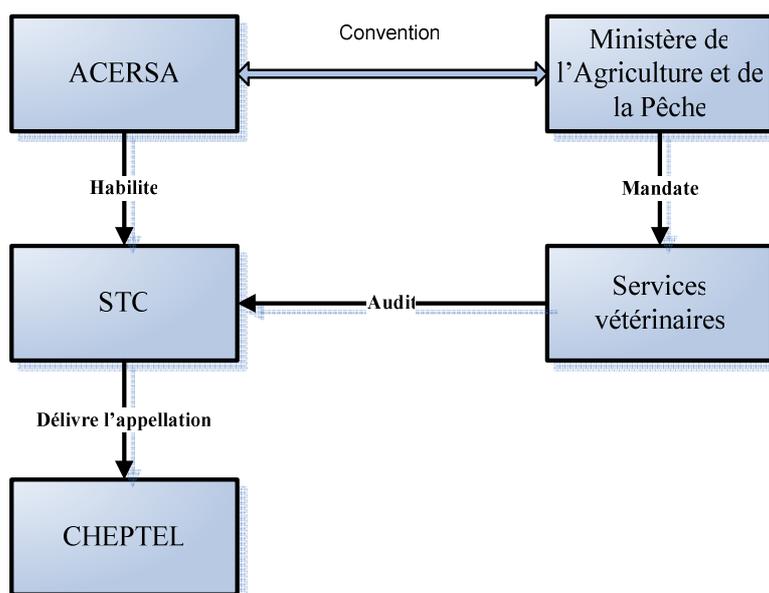


Figure 8 : Organisation de la certification des cheptels bovins vis-à-vis de l'IBR en France ⁽⁷⁷⁾

2.6.2.3. Plan de contrôle national et mesures sanitaires

2.6.2.3.1. Généralités

D'après la directive 64/432/CEE datée du 26 juin 1964, l'IBR peut « donner lieu à des garanties additionnelles lors d'échanges intracommunautaires de bovins ». Cela consiste en une généralisation des mesures de dépistage annuel de l'IBR, dépistage à l'introduction et vaccination ou élimination des bovins séropositifs. La Corse et les Départements d'Outre Mer ne sont pas concernés par la généralisation de la prophylaxie IBR.

Le plan de contrôle national de la rhinotrachéite infectieuse bovine concerne tous les détenteurs de bovinés des élevages présents sur le territoire national. Les opérations de prophylaxie doivent être réalisées par le vétérinaire sanitaire désigné par l'éleveur. Les épreuves de diagnostic sont effectuées par des laboratoires agréés par le Ministère de l'Agriculture. ^(X-1, X-2, X-3)

2.6.2.3.2. Prophylaxie annuelle

Toute exploitation de bovinés doit être contrôlée une fois par an pour l'IBR. Cela s'effectue :

- dans les ateliers allaitants par examen sérologique sur sérum de grand mélange (10 sérums mélangés) pour tous les animaux reproducteurs de plus de 24 mois, non

vaccinés. La prise de sang doit être faite par le vétérinaire sanitaire de l'exploitation. En cas de résultat non négatif (c'est-à-dire positif ou douteux) il faut réaliser l'examen sérologique sur chaque sérum du mélange non négatif. Dans le cas où il y a beaucoup de mélanges positifs il est possible de vacciner d'emblée tout le troupeau.

- dans les ateliers laitiers par examen sérologique sur un échantillon de lait de grand mélange. En cas de résultat positif ou douteux sur lait de grand mélange, alors que le statut de l'élevage est indemne ou inconnu, on confirme le résultat par une deuxième analyse du même type dans les deux mois suivants le premier prélèvement. En cas de résultat positif sur la deuxième analyse, on procédera comme en atelier allaitant par examen sérologique sur mélange de sérums puis individuellement.

La technique utilisée pour le dépistage de l'IBR sur sérum ou sur lait est la technique ELISA. Il existe des kits de diagnostic qui sont contrôlés par le laboratoire de référence. La recherche va porter sur les anticorps totaux et sur les anticorps spécifiques de gB.

Les résultats positifs sont communiqués par le laboratoire agréé ayant réalisé l'analyse au GDS, à l'éleveur et au vétérinaire sanitaire.

Ce contrôle annuel peut ne pas être obligatoire pour les élevages détenteurs d'une dérogation. Il s'agit :

- des bovinés dont la vaccination anti-IBR est certifiée par un vétérinaire sanitaire. Le dépistage d'effectif peut alors être remplacé par la vaccination de tous les bovins de l'atelier.
- des bovinés appartenant à un troupeau d'engraissement dérogatoire, strictement élevés en bâtiments fermés.
- de bovinés présents dans une station de quarantaine agréée ou dans un centre de collecte agréé de la filière Insémination Animale, ayant un protocole spécifique de détection de l'IBR.

2.6.2.3.3. Contrôle à l'introduction

Tout boviné nouvellement introduit dans une exploitation, quelque soit son âge, doit être isolé dès sa livraison et soumis à une recherche sérologique de l'IBR dans les 15 jours

précédant ou les 10 jours suivant son arrivée (la mise en estive n'est pas considérée comme une introduction dans un nouveau cheptel, le dépistage de l'IBR au départ et au retour des bovins n'est donc pas obligatoire). Le contrôle est réalisé par un examen sérologique individuel sur une prise de sang effectuée par le vétérinaire sanitaire.

Certains animaux bénéficient d'une dérogation vis-à-vis du contrôle à l'introduction.

Il s'agit :

- des bovinés dont la vaccination anti-IBR est certifiée par un vétérinaire sanitaire. La vaccination du bovin par le vétérinaire sanitaire, au moment de l'introduction, peut alors remplacer le test individuel de dépistage.
- des bovinés entrants dans un troupeau d'engraissement dérogatoire, élevés exclusivement en bâtiments fermés.
- des bovinés introduits dans une station de quarantaine agréée ou un centre de collecte agréé de la filière Insémination Animale avec un protocole spécifique de dépistage de l'IBR.
- des bovinés détenteurs d'une appellation A « indemne d'IBR » ou B « contrôlé en IBR », délivrée par l'ACERSA, dans les conditions suivantes :
 - dérogation ponctuelle pour un bovin titulaire d'une appellation A « indemne d'IBR », si le transport a été direct entre l'exploitation d'origine et l'exploitation de destination
 - départements ayant obtenu une dérogation au contrôle IBR à l'introduction dans le cadre de la certification ACERSA, c'est-à-dire les départements
 - avec une prévalence IBR annuelle de troupeau < 1% pendant deux années consécutives ou
 - avec une incidence IBR de troupeau annuelle < 0,2% pendant deux années consécutives

« Les bovins titulaires d'une appellation A « indemne d'IBR » ou B « contrôlé en IBR », en provenance d'une exploitation située dans un département à situation épidémiologique favorable et introduits dans une exploitation située dans le même département ou dans un autre département de situation sanitaire équivalente au regard de l'IBR, peuvent déroger au test à l'introduction sous réserve d'un transport sécurisé par un transporteur engagé (démarche d'engagement gérée par les GDS). »^(X-3)

2.6.2.3.4. Mesures en cas de résultat non négatif

Les bovins présentant un résultat non négatif à la suite de l'analyse individuelle doivent recevoir une primo-vaccination contre l'IBR en injection dans les deux mois suivant l'obtention du résultat. Cette injection doit être effectuée par un vétérinaire sanitaire, avec tout vaccin ayant une AMM en France, selon les modalités prévues pour le vaccin utilisé. Dans le cas d'élevages qualifiés ou pré-qualifiés ACERSA, cela ne provoquera pas de préjudice. Un résultat non négatif lors du contrôle à l'introduction peut donner lieu à une action en réhabilitation.

La vaccination est ensuite entretenue par des rappels vaccinaux effectués par un vétérinaire sanitaire, selon les indications prévues lors de la mise sur le marché du vaccin.

Après la réalisation d'une primo-vaccination ou d'une vaccination anti-IBR, le vétérinaire sanitaire transmet au maître d'œuvre (c'est-à-dire le GDS du département) un certificat de vaccination indiquant le nom du vaccin utilisé et les numéros d'identification nationale des animaux vaccinés.

Un animal qui est vendu pour l'élevage après avoir donné un résultat individuel non négatif, doit être vacciné dans l'élevage de départ dans un délai de deux mois après obtention du résultat, et transféré avec une copie du certificat de vaccination. Il ne subira alors pas de contrôle à l'introduction.

Par dérogation, un animal non négatif à l'examen sérologique individuel peut ne pas être vacciné s'il est abattu dans les deux mois suivants le résultat d'analyse.

Les frais engendrés par l'application des mesures de prophylaxie sont à la charge de l'éleveur.

2.6.2.3.5. La certification des cheptels

La certification des élevages a pour but de répondre :

- aux exigences du commerce, c'est-à-dire des clients (apporter la garantie que les animaux achetés présentent les qualités demandées) et des fournisseurs (être placé

en situation équivalente par rapport aux autres vendeurs). La mise sous assurance qualité de la certification permet de satisfaire à ces exigences.

- aux exigences des certificateurs : un partenariat est mis en place entre les différents acteurs de la certification : éleveurs, vétérinaires, opérateurs... dans le cadre de la certification des maladies autres que Maladies Réputées Contagieuses

Il existe deux types de qualification des cheptels bovins en matière d'IBR ^(23, 30, 31) :

- appellation A : élevage indemne d'IBR. Cette mention est inscrite sur les ASDA (Attestation Sanitaire à Délivrance Anticipée). La vaccination anti-IBR des animaux est alors interdite.

Tableau 6 : Procédure d'acquisition et de maintien de l'appellation A « indemne d'IBR »

	Acquisition	Maintien
Elevage laitier	4 Lait de Grand Mélange (LGM) consécutifs négatifs, espacés chacun de 6 +/- 2 mois.	1 LGM négatif par an.
Elevage allaitant (adaptable laitier)	2 sérologies individuelles ou de mélanges négatives successivement de tous les bovins de plus de 24 mois, espacées de 3 à 15 mois.	1 sérologie de mélange négative par an sur les bovins de plus de 24 mois.

- appellation B : élevage contrôlé en IBR, c'est-à-dire qu'au moins tous les bovins de moins de 4 ans sont séronégatifs. Le principe est de surveiller la circulation virale dans le cheptel en suivant une population sentinelle : les bovins de 12 à 48 mois, en contact avec une population adulte contenant des animaux séropositifs.

Tableau 7 : Procédure d'acquisition et de maintien de l'appellation B « contrôlé en IBR »

Acquisition	1 sérologie de mélange négative de tous les bovins de plus de 24 mois, non connus positifs, et une sérologie individuelle négative de tous les bovins de plus de 12 mois, non connus positifs. Sérologies espacées de 3 à 15 mois.
Maintien	1 sérologie de mélange annuelle négative de tous les bovins de plus de 24 mois non connus positifs, ou 1 LGM négatif annuel.

2.6.2.3.6. Cas particulier des estives

La certification IBR des bovins transhumants se déroule selon deux modalités ⁽³⁹⁾ :

- si la totalité des cheptels présents sur l'estive ont une qualification, l'estive est qualifiée « indemne d'IBR ». Aucune contrainte n'est imposée aux troupeaux présents.
- L'estive peut également être qualifiée de « statut X », c'est-à-dire sans statut défini. Les animaux de la totalité du cheptel (bovins en estive et bovins sur l'exploitation) sont alors suspendus d'appellation, à partir de la montée en estive. L'appellation est rétablie après un contrôle sérologique de mélange au retour de l'estive soit des animaux transhumants, soit de la totalité des animaux, au plus tard au moment de la prophylaxie annuelle.

Lors de la vente d'animaux de cheptels transhumants dont l'appellation est suspendue, les bovins vendus doivent être isolés pendant au moins 15 jours, puis tous les bovins du lot doivent être testés, en plus du contrôle sérologique obligatoire à l'introduction.

Si la suspension d'appellation des cheptels en estive est supérieure à 3 mois, les cartes vertes (ASDA) doivent être échangées. Un test sérologique négatif est ensuite nécessaire pour les récupérer.

2.6.2.3.7. Les mesures de contrôle en centres de collecte de semence

Le contrôle des taureaux et des boules-en-train en centre de collecte se fait en application de l'Arrêté Ministériel du 12 juillet 1994 (Bulletin Officiel n°185). Ce dernier correspond à la traduction dans le droit français de la Directive européenne 88/407, modifiée par la Directive 2003/43. Cet Arrêté devrait être mis à jour en fin d'année 2007. Le protocole de contrôle en IBR des animaux destinés aux centres de collecte comprend une phase de quarantaine et une phase de contrôle annuel dans le centre ⁽⁹⁾¹.

La Directive européenne définit la quarantaine comme la succession d'une période de 28 jours de quarantaine stricte dans un centre agréé par le Ministère de l'Agriculture, précédée d'une période de 28 jours dans l'élevage d'origine. Deux contrôles sérologiques doivent être réalisés : l'un au cours de la période J₋₂₈-J₀, au plus tard à J₋₁, le second pendant la période de quarantaine stricte. Les deux contrôles devant être espacés d'au moins 21 jours. Si les deux résultats sérologiques sont négatifs, l'animal peut entrer dans le centre de collecte.

¹ B. GUERIN : communication personnelle. 13/07/2007.

En France ces deux périodes de 28 jours doivent être réalisées dans un centre de quarantaine, soit 56 jours passés en quarantaine stricte. La gestion de la station de quarantaine se fait selon le schéma « tout plein, tout vide », avec la constitution de lots d'animaux.

De plus en France les taureaux entrant en centre de collecte doivent être issus de mères séronégatives, ceci pour éviter l'introduction d'animaux Porteurs Latents SéroNégatifs présentant un risque d'excrétion virale en cas de réactivation. C'est pourquoi on réalise un contrôle sérologique du couple mère – veau dans l'élevage d'origine. La qualification « cheptel indemne » de l'ACERSA n'est pas une garantie suffisante pour l'introduction d'un taureau dans un centre de collecte de semence. Enfin une recherche sérologique d'IBR est effectuée lors du passage du bovin en station de contrôle individuel où il séjourne jusqu'à l'âge d'un an.

Parfois le centre de collecte réalise en plus un test de réactivation virale à la dexaméthasone. Mais les injections répétées de corticoïdes induisent une diminution importante de la qualité de la semence et notamment une baisse du nombre de doses produites par éjaculat (ceci étant dû aux corticoïdes mais également au stress des manipulations). De plus cette épreuve a un coût élevé et nécessite des garanties sanitaires strictes.

2.6.2.3.8. La vaccination

Le but de la vaccination anti-IBR est double⁽¹⁰⁷⁾: prévenir les signes cliniques, donc diminuer les pertes économiques en cas d'infection, et diminuer la multiplication et l'excrétion virale à l'origine de l'extension de la maladie. Cependant cette protection n'est pas totale.

Il existe plusieurs types de vaccins :

- les vaccins conventionnels vivants atténués, ou inactivés. L'utilisation de souches vaccinales vivantes induit une immunité à la fois cellulaire et humorale, alors que les vaccins inactivés induisent une immunité humorale seulement. C'est pourquoi le vaccin inactivé doit être administré plus fréquemment que le vaccin atténué. Cependant l'utilisation de vaccins vivants présente des risques puisque la souche vaccinale atténuée peut subir une recombinaison génétique avec une souche sauvage pathogène, pendant sa multiplication dans l'organisme⁽⁶⁹⁾. Le vaccin

sous-unitaire est un type particulier de vaccin inactivé. Il contient certains composants viraux immunogènes, comme des glycoprotéines d'enveloppe.

- les vaccins vivants et inactivés marqués ou délétés. Ils sont constitués de souches mutantes délétées d'une ou plusieurs glycoprotéines d'enveloppe non essentielles ⁽¹⁰⁷⁾. Les vaccins marqués commercialisés en France sont délétés de gE. Cela permet de différencier les animaux infectés des animaux vaccinés, par un test sérologique ELISA :

Tableau 8 : Intérêt des vaccins délétés dans le dépistage de l'IBR

Statut de l'animal	Test	Anticorps totaux	Anticorps gB	Anticorps gE
Infecté		+	+	+
Vacciné (vaccin conventionnel)		+	+	+
Vacciné (vaccin délété)		+	+	-

L'utilisation de vaccins délétés permet également de distinguer des veaux infectés de veaux sous immunité colostrale.

- les vaccins anti-IBR peuvent être associés à d'autres agents infectieux responsables de pathologies respiratoires chez les bovins, pour constituer des vaccins multivalents : parainfluenza 3, virus respiratoire syncytial (RSV), BVD, *Pasteurella...*

Il existe actuellement deux vaccins commercialisés autorisés en France :

- Iffavax® IBR : commercialisé par Merial. C'est un vaccin inactivé et adjuvé. La primo-vaccination se fait chez les bovins à partir de 7 jours, avec rappel à 1 mois, puis à 4-6 mois et ensuite une fois par an.
- Bovilis® IBR Marker: commercialisé par Intervet. C'est un vaccin vivant adjuvé, délété de la glycoprotéine d'enveloppe gE. L'administration se fait :
 - par voie intranasale chez les animaux de 2 semaines à 3 mois, avec un rappel à 3-4 mois
 - par injection intra-musculaire chez les animaux de plus de trois mois
 - par injection de rappel tous les six mois.

2.6.3. Diagnostic de l'IBR

La mise en œuvre de méthodes de recherche de l'IBR peut se faire dans deux cas de figure : dans le cadre d'une suspicion clinique, on va alors rechercher le virus, ses antigènes ou des séquences d'ADN spécifiques, et dans le cadre du contrôle prophylactique du statut immunitaire des animaux. On cherchera alors des anticorps spécifiques. Cela correspond également à la recherche du virus pendant la phase aiguë de l'infection et la recherche d'anticorps spécifiques témoins de l'infection pendant la phase de latence ^(47, 65, 66).

2.6.3.1. Diagnostic clinique et différentiel

Le diagnostic clinique de la maladie repose sur des symptômes caractéristiques : forte hyperthermie (41°C), toux, jetage nasal séreux puis muco-purulent, congestion des muqueuses nasales et oculaires pour la forme respiratoire, inflammation vésiculeuse et pustuleuse des muqueuses génitales externes pour la forme génitale, associé à de l'anorexie et une baisse de la production de lait.

Le diagnostic différentiel de l'IBR se fait avec les principales pathologies respiratoires des bovins à l'engraissement et des bovins adultes ⁽¹³⁾.

Le diagnostic au laboratoire peut se faire soit de façon directe, c'est-à-dire que l'on recherche l'agent viral, un de ses composants ou la mise en évidence de son action. Soit de façon indirecte en recherchant les anticorps dont la production est déclenchée par le passage du virus dans l'organisme et qui sont spécifiques à ce virus.

2.6.3.2. Méthodes de diagnostic directes : mise en évidence du virus

2.6.3.2.1. Réalisation des prélèvements

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

Il peut s'agir d'écouvillonnages nasaux profonds, le prélèvement est alors transporté dans un milieu de culture pour cellules contenant des antibiotiques. On peut également

réaliser un lavage broncho-alvéolaire et acheminer le prélèvement sous régime du froid, en moins de 24 heures. Dans tous les cas le prélèvement est placé dans un contenant stérile.

Il est possible de prélever des échantillons sur un animal mort lorsque cela fait moins de 3 heures. Les échantillons seront alors des fragments d'organes de quelques cm³, comprenant une partie de tissu lésé et une partie de tissu sain, tels que poumons et trachée, ainsi que des organes et tissus lymphoïdes (rate). Les prélèvements sont envoyés sous régime du froid en moins de 24 heures, ou congelés si le délai d'acheminement dépasse 24 heures, dans des flacons stériles.

2.6.3.2.2. Recherche des virions

La mise en évidence directe des particules virales se fait après isolement sur culture cellulaire et identification par séroneutralisation ou immunochimie. Elle peut se faire sur tous types de prélèvement. Le virus doit nécessairement être vivant pour conserver son pouvoir infectieux, ce qui impose des conditions de prélèvements et d'envois stricts et de qualité.

On cherche à mettre en évidence l'effet cytopathogène du virus, c'est-à-dire que l'infection de cellules sensibles (en général des cellules primaires de testicules ou de reins de veaux) par ce virus aboutit à des modifications physiologiques et morphologiques de ces cellules. Dans le cas du BHV1 on observera un arrondissement des cellules, des amas en grappe, la formation de trous dans le tapis cellulaire. Ce sont ces changements que l'on va observer au microscope optique qui permettent d'orienter le diagnostic vers une famille virale. Le diagnostic définitif se fait ensuite par l'utilisation de tests immunologiques.

La séroneutralisation consiste en la mise en contact des cellules infectées à tester avec d'une part un immun sérum contenant des anticorps anti-BHV1, d'autre part un sérum négatif vis-à-vis de BHV1. On évalue alors la neutralisation dans chacun des cas et la différence de neutralisation entre les deux mélanges. Si cette différence est significative, on en conclut que l'échantillon testé contient effectivement le virus BHV1.

L'immunochimie correspond à la mise en contact des cellules infectées avec des anticorps anti-BHV1 associés à un fluorochrome. On peut également utiliser des anticorps anti-BHV1 non marqués, il y a alors une seconde étape de révélation par ajout d'anticorps anti-immunoglobulines bovines marqués. Cette dernière technique est plus sensible. La

lecture se fait ensuite au microscope à fluorescence. Les cellules infectées par BHV1 présenteront une fluorescence caractéristique à l'intérieur et en périphérie du noyau.

L'immunochimie est une technique rapide et facile à réaliser mais le tapis cellulaire doit être peu détruit par le virus.

Ces méthodes de mise en évidence directe des particules virales présentent une bonne sensibilité, avec un seuil de détection inférieur à 10^5 particules virales. Le délai d'obtention de résultat est assez long, 3 à 4 jours, et l'envoi doit être fait vers un laboratoire particulier réalisant des cultures cellulaires. Si après 4 à 5 jours de mise en culture on n'observe aucun effet cytopathogène, on réalise un deuxième (voire un troisième) passage sur cellules pour confirmer l'absence de BHV1.

2.6.3.2.3. Recherche des antigènes viraux

La technique utilisée pour la recherche des antigènes viraux est l'immunochimie. Elle s'utilise sur des coupes congelées de muqueuses ou d'organes présentant des lésions, ou sur des frottis de cellules nasales obtenues par écouvillonnage. Les virions ne sont pas nécessairement vivants.

La méthode consiste à mettre en contact les préparations cellulaires avec des anticorps anti-BHV1 associés ou non à un fluorochrome, selon le même principe que pour la mise en évidence directe du virus.

Il s'agit d'une technique pratique à réaliser et apportant un résultat rapide (24h). Cependant sa sensibilité est moyenne, le seuil de détection est supérieur à 10^5 particules virales. Les résultats négatifs doivent donc être confirmés par une recherche virale sur culture cellulaire.

2.6.3.2.4. Recherche de l'ADN viral

La détection d'ADN de BHV1 se fait par association d'une hybridation Dot Blot ou Southern Blot à une PCR (Polymerase Chain Reaction). Elle peut être pratiquée sur tout type de prélèvement, sans obligation d'avoir un virus à l'état vivant. Le seuil de sensibilité est inférieur à 10^5 particules virales, c'est donc une technique sensible. Le résultat est obtenu

rapidement, en 24 heures, cependant cette technique requiert un laboratoire spécialisé et a un coût important.

La technique d'hybridation consiste à mettre en évidence des fragments spécifiques d'ADN de BHV1 par des sondes d'acides nucléiques marquées. Cette méthode est rapide mais peu sensible lorsqu'elle est utilisée seule et coûteuse. L'utilisation de l'amplification génomique par PCR permet d'augmenter la sensibilité de l'hybridation en augmentant la quantité d'ADN présente dans l'échantillon.

Le diagnostic de l'IBR par PCR présente les avantages d'être rapide, de bonne sensibilité, ne nécessitant pas que le virus soit vivant. Par contre c'est une technique sensible aux contaminations, pouvant donner lieu à des cas de faux positifs.

L'ADN de BHV1 est détectable dans le sang périphérique d'animaux infectés, pendant la phase aiguë mais également pendant la phase subclinique. On recherchera alors la présence du virus dans les leucocytes du sang périphérique. De plus la PCR permet une détection du virus avant la séroconversion et la production d'anticorps, voire chez les individus séronégatifs porteurs latents ⁽³⁰⁾.

La recherche du virus par PCR est particulièrement utilisée sur le sperme des taureaux, notamment en centre d'insémination. En effet, le sperme a un effet cytotoxique naturel et inhibe l'effet cytopathique du virus. La technique d'isolement viral sur culture cellulaire ne peut donc être utilisée. De plus cette technique manque de sensibilité : le titre infectieux du sperme nécessaire pour infecter une vache est inférieur au seuil de détection par isolement viral sur culture cellulaire ⁽¹⁰³⁾. On utilise alors la technique de PCR associée à une hybridation Southern Blot pour rechercher la présence de BHV1 dans le sperme. Cette technique présente une très bonne sensibilité et spécificité. De plus la détection du virus dans le sperme peut être faite avant même l'apparition des anticorps neutralisants dans le sérum, détectables par sérologie. Le virus BHV1 peut être mis en évidence dans le sperme dès 24 heures post infection ⁽¹²⁰⁾. Le sperme se contamine au moment de l'éjaculation, lorsqu'il passe au contact des muqueuses infectées (prépuce, gland) ⁽¹⁰⁴⁾.

Tableau 9 : Bilan sur les techniques de diagnostic direct de l'IBR

	Sensibilité	Spécificité	Faisabilité	Rapidité	Coût
Isolement viral sur culture cellulaire	++	++	-	-	++
Mise en évidence des antigènes viraux (immunochimie)	+/-	+/-	++	++	-
Mise en évidence de l'ADN viral (PCR + hybridation)	++	++	+/-	++	++

2.6.3.3. Méthodes de diagnostic indirectes : mise en évidence des anticorps

2.6.3.3.1. Réalisation des prélèvements

Les échantillons utilisés pour la recherche d'anticorps anti-BHV1 sont le sérum et le lait, le sérum contenant vingt fois plus d'anticorps que de lait. On réalise soit des analyses individuelles, pour chaque bovin, ou sur mélange de prélèvements de plusieurs animaux (mélange de sérums, lait de tank). Les prélèvements sont conservés au frais et sont acheminés rapidement dans un laboratoire habilité, sous régime du froid. On a pu mettre en évidence la persistance d'anticorps anti-BHV1 jusqu'à 3 ans post infection ⁽⁴⁷⁾. Lorsque l'analyse sérologique est réalisée dans un but diagnostic, sur un animal malade, il faut prélever du sang pendant la phase aiguë mais également deux à trois semaines plus tard.

2.6.3.3.2. Réaction d'hypersensibilité retardée

Des injections intradermiques répétées de solution contenant des antigènes inactivés de BHV1 provoquent une réaction d'hypersensibilité retardée caractérisée par une augmentation d'épaisseur du pli de peau dans les 48 à 72 heures suivantes. Dans 25% des cas on note une séroconversion. Mais cette réponse sérologique est faible et parfois transitoire. Le test peut être fait sur des animaux qui ont déjà rencontré le virus BHV1 et y sont sensibilisés (ils ont développé une réponse immunitaire à médiation cellulaire avec activation de lymphocytes T). Ce test est intéressant pour détecter les animaux porteurs latents séronégatifs qui auront une réaction cutanée positive et vont présenter des anticorps anti-BHV1 après réactivation par le test ⁽⁹⁴⁾. Cependant ce test ne permet pas de différencier des animaux vaccinés et infectés.

2.6.3.3.3. Réactions de sérologie

2.6.3.3.3.1. Séroneutralisation

Le principe de la séroneutralisation est de mettre en contact le sérum à tester avec une suspension contenant des particules virales. Les anticorps sériques anti-BHV1 vont se fixer sur le virus, empêchant ainsi son action cytopathogène. Le mélange réalisé est ensuite inoculé à des cellules sensibles. Après une incubation de trois à cinq jours on observe au microscope les cultures cellulaires et les éventuelles lésions caractéristiques provoquées par le BHV1. La réalisation de dilutions croissantes du sérum à tester permet d'en évaluer le titre en anticorps anti-BHV1.

2.6.3.3.3.2. Hémagglutination passive

L'hémagglutination passive consiste à mettre en présence le sérum à tester avec des hématies de mouton porteuses d'antigènes spécifiques du BHV1. L'interaction entre antigènes et anticorps de BHV1 se traduit par une agglutination des globules rouges entre eux. Cette technique est peu utilisée à présent.

2.6.3.3.3.3. Immunofluorescence indirecte

Le principe de l'immunofluorescence indirecte est de fixer des antigènes de BHV1 sur un support solide et d'y ajouter le sérum à tester. On ajoute alors des immunoglobulines marquées par un fluorochrome. Ces dernières se fixent sur les anticorps anti-BHV1 du sérum. La lecture se fait au microscope à fluorescence. De même que l'hémagglutination passive, cette technique est peu utilisée.

2.6.3.3.3.4. ELISA

Contrairement aux techniques vues précédemment, la méthode ELISA est quantitative, c'est-à-dire qu'elle permet de quantifier la réponse immunitaire humorale. Les autres techniques sont qualitatives, elles permettent de confirmer ou d'infirmer une suspicion d'infection, sans pouvoir évaluer l'intensité de la réponse anticorps (sauf pour la technique de séroneutralisation).

ELISA indirecte ⁽⁶⁵⁾

L'échantillon à tester est mis au contact de déterminants antigéniques spécifiques de BHV1, qui sont adsorbés sur un support solide. La révélation des anticorps fixés sur les antigènes se fait par ajout d'anticorps anti-immunoglobulines bovines. Ces derniers sont conjugués à une enzyme. On ajoute enfin le substrat chromogène correspondant à cette enzyme et la lecture se fait au spectrophotomètre. La densité optique obtenue est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-BHV1 présents dans le sérum bovin testé ⁽⁹⁹⁾.

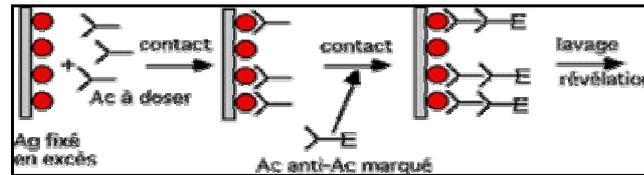


Figure 10 : Principe de la méthode ELISA indirecte ⁽⁹⁹⁾

ELISA de compétition ⁽⁶⁵⁾

La technique ELISA de compétition reprend le même principe que l'ELISA indirecte mais la révélation se fait par ajout d'un sérum contenant des anticorps anti-BHV1 associés à une enzyme. Ces anticorps se fixent sur les sites antigéniques, en compétition avec les anticorps éventuellement fixés présents dans l'échantillon à tester. On ajoute ensuite le substrat chromogène. La densité optique obtenue est inversement proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon bovin.

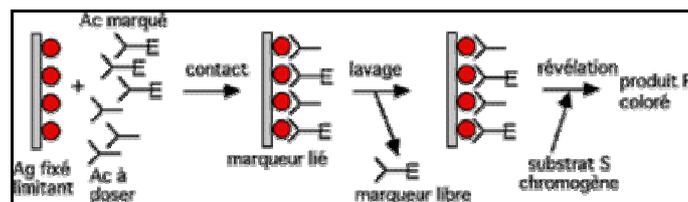


Figure 11 : Principe de la méthode ELISA de compétition ⁽⁹⁹⁾

ELISA spécifique d'une glycoprotéine

On peut rechercher les anticorps dirigés spécifiquement contre gB en utilisant un test ELISA de compétition. Ces anticorps sont intéressants car gB est un antigène viral majeur qui induit une immunité protectrice chez l'hôte. Les anticorps anti-gB ont donc un titre élevé, apparaissent tôt et persistent longtemps après l'infection ⁽⁸⁶⁾. Le test ELISA gB assure donc une bonne sensibilité. Cependant gB est hautement conservée entre les différents herpesvirus de ruminants. Des réactions croisées sont donc possibles, la spécificité du test est limitée de ce fait.

La technique ELISA de compétition gE permet, dans les pays où l'utilisation de vaccins délétés pour gE est courante, de différencier les animaux infectés des animaux vaccinés ^(109, 113). Elle présente notamment une très bonne sensibilité et spécificité dans le lait, ce qui permet de réaliser les analyses sur échantillons individuels de lait au lieu de sérum. La réalisation du prélèvement est alors plus facile et moins coûteuse ⁽¹¹⁵⁾.

La sérologie ELISA est très utilisée dans la détection de l'IBR car c'est une méthode facile à mettre en œuvre et peu coûteuse. Cependant cette méthode présente un défaut de sensibilité qui limite la détection des animaux porteurs latents ayant un titre bas en anticorps. Les techniques sérologiques ont donc été standardisées au niveau européen avec la création de sérums de référence communs. Ces derniers permettent d'établir un minimum requis pour la commercialisation de tests ELISA. En France le niveau de performance des tests est établi selon la détectabilité, la spécificité et la répétabilité du test ⁽⁶⁵⁾.

Tableau 10 : Bilan des méthodes de diagnostic sérologique de l'IBR

	Sensibilité	Spécificité	Faisabilité	Rapidité	Coût
Séroneutralisation	+/-	+++	-	-	+++
Hémagglutination passive	+/-	+++	-	+++	
Immunofluorescence indirecte	+/-	+++	-		
ELISA indirect	+++	+ /-	+++	+++	
ELISA compétition	+++	+/-	+++	+++	

2.6.3.4. Limites de la détection du BHV1 par ces méthodes

2.6.3.4.1. Les animaux porteurs latents séronégatifs

Les veaux infectés ou vaccinés avec un vaccin vivant, sous immunité colostrale, ne vont pas produire d'anticorps anti-BHV1. Le virus s'installe alors à l'état latent dans les ganglions. Même après réactivation virale il n'y aura pas de synthèse d'anticorps. Il s'agit d'animaux porteurs latents séronégatifs (SNLC : Sero Negative Latent Carrier). Or le dépistage de l'IBR se fait par des méthodes sérologiques. Ces animaux SNLC ne sont donc pas détectés par les méthodes classiques. Ils correspondent à des faux négatifs. En cas de réactivation virale, le virus est ré excrété, ces animaux constituent alors un risque majeur de transmission de BHV1.

2.6.3.4.2. Les infections croisées

Les α herpesvirus présentent une proximité antigénique importante. Le diagnostic sérologique ne permet pas de différencier ces virus. L'infection d'un bovin par un α herpesvirus autre que BHV1 (notamment CapHV1 et OvHV1) se traduira par une réponse positive à un test sérologique de détection de l'IBR, par réaction croisée ^(101, 113). On obtient alors des faux positifs. Seul BHV5 peut être différencié de BHV1 par un test ELISA de compétition spécifique de la glycoprotéine gE.

Ces deux situations constituent des limites à la détection de l'IBR par les techniques de dépistage classiques. Dans ces deux cas la mise en évidence de l'infection ne peut se faire que par virologie. Or le virus BHV1 établit sa latence dans les ganglions trijumeaux des bovins. Une technique consiste alors à rechercher ce virus au niveau des ganglions. C'est pourquoi dans la seconde partie de ce travail nous allons décrire une méthode permettant de prélever les ganglions trigéminés chez un bovin après abattage.

3. Mise au point d'une technique de récupération du ganglion trigéminalé

3.1. Intérêt du ganglion trigéminalé dans la lutte contre l'IBR

3.1.1. Problématique

Comme nous l'avons vu précédemment, les techniques permettant le diagnostic de l'IBR présentent un certain nombre de limites. La fiabilité des tests sérologiques n'est pas totale, la spécificité fait parfois défaut, notamment lors de réactions croisées avec d'autres herpesvirus. D'autre part, afin de détecter un maximum d'animaux positifs, les tests commercialisés présentent une sensibilité élevée, ce qui peut parfois conduire à des résultats faux positifs. Dans tous les cas, animaux SNLC, infections croisées et faux positifs, la seule façon d'identifier BHV1 est le recours à la virologie, le test le plus efficace étant la PCR.

On peut parfois être confronté à un résultat sérologique positif dans un contexte épidémiologique contraire, c'est-à-dire qu'on obtient une sérologie positive sur un animal vivant dans un cheptel certifié indemne, ou acheté dans un cheptel indemne avec un transport contrôlé. Il faut alors soit faire abattre le bovin, soit le faire vacciner dans les deux mois suivants l'obtention du résultat. Cependant si l'on veut s'assurer qu'il s'agit bien d'un cas de faux positif, donc que le statut du cheptel est toujours indemne il faut recourir à la virologie. Deux solutions existent pour cela, avec toutes deux des contraintes.

3.1.2. 1^{ère} solution : réactivation virale à la dexaméthasone

La première possibilité de confirmation d'une sérologie positive est la réactivation virale par administration répétée de dexaméthasone au bovin. L'administration se fait par voie intra musculaire, pendant 5 jours, selon un protocole précis. On prélève ensuite du mucus nasal par écouvillonnage, de J5 à J10, du mucus vaginal ou préputial également de J5 à J10 et du sang à J0, J10, J20 et J30. La recherche du virus se fait ensuite par isolement sur culture cellulaire. On effectue également des examens sérologiques (séroneutralisation et ELISA). Ces analyses sont réalisées au Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs⁽²⁸⁾.

Cette technique a pour but de provoquer la réactivation du virus à partir de son site de latence. Celui-ci est alors ré-excrété dans les sécrétions nasales et génitales. Le bovin est donc considéré comme hautement contagieux pendant toute la durée du protocole et doit être totalement isolé de ses congénères, avec des mesures strictes d'hygiène.

Il existe des contre indications à la réalisation de ce protocole. En effet l'injection de dexaméthasone provoque l'avortement chez une femelle gestante. D'autre part elle induit une immunodépression favorisant les infections secondaires. Le protocole de réactivation virale à la dexaméthasone doit donc être réalisé sous contrôle d'un vétérinaire.

3.1.3. 2^{ème} solution : recherche virale sur les ganglions trijumeaux

L'autre possibilité pour confirmer une suspicion de faux positif est de rechercher la présence du virus au niveau de son site de latence, le ganglion trijumeau. On peut alors effectuer une analyse PCR permettant d'identifier BHV1 avec certitude. Cela permet également de contrôler l'hypothèse d'une réaction croisée avec un autre herpesvirus et de l'identifier. L'inconvénient est que cette méthode implique l'abattage de l'animal. Cependant dans un contexte où l'animal provient d'un élevage indemne, la réglementation prévoit qu'il soit abattu ou vacciné. Or la vaccination n'est pas intéressante dans ce cas-là, il est plutôt conseillé d'abattre le bovin. La récupération des ganglions et leur analyse sont alors envisageables.

3.2. Aspects réglementaires

Les ganglions trijumeaux font partie des Matériaux à Risques Spécifiés (MRS), c'est-à-dire des organes ou tissus présentant un risque potentiel de transmission de l'ESB. Ces MRS sont systématiquement retirés de la carcasse sur la chaîne d'abattage. Ils constituent des sous-produits de catégorie 1 (produits présentant un danger du fait de la présence potentielle de prion, produits dont le risque est inconnu, produits pour lesquels des substances interdites ou des contaminants de l'environnement peuvent être présents) et doivent être incinérés.

Les vétérinaires sanitaires sont en mesure de prélever les ganglions trijumeaux lorsque le prélèvement de l'obex, la recherche de prion et son résultat négatif ont été obtenus.

D'autre part, une fois le prélèvement réalisé, les ganglions sont placés dans un triple emballage, de la même façon que les matières à risque (encéphale...), c'est-à-dire une boîte contenue dans un sac plastique lui-même placé dans une deuxième boîte. Le transport vers le Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs, où les analyses sont effectuées, est fait par un transporteur spécialisé, dans un camion réfrigéré, avec des conteneurs spéciaux.

3.3. Rappels anatomiques

La technique que nous allons décrire requiert une certaine connaissance de l'anatomie de la région considérée, à savoir la tête du bovin et notamment sa partie caudale ⁽¹⁵⁾. En effet le ganglion trijumeau, anciennement appelé ganglion de Gasser, est situé dans la boîte crânienne, dorsalement au foramen ovale, entre le pont et la dure-mère, en avant de la tente du cervelet. C'est un volumineux renflement qui constitue le départ de la racine sensitive du nerf trijumeau (5^{ème} paire de nerfs crâniens). De forme irrégulière et globuleuse, il est noyé dans la substance fibro-cartilagineuse qui comble en partie le foramen ovale.

Le ganglion trijumeau se divise crânialement et latéralement en trois branches : le nerf ophtalmique, le nerf mandibulaire et le nerf maxillaire. Le nerf ophtalmique est le plus petit des trois. Il est situé dans la scissure maxillaire de l'os sphénoïde et passe ensuite hors du crâne par le trou orbito-rond. Le nerf maxillaire est plus volumineux. Il est d'abord fortement accolé au nerf ophtalmique, puis quitte la cavité crânienne par le trou orbito-rond. Ces deux nerfs ont des rôles purement sensitifs. Enfin le nerf mandibulaire part ventralement au ganglion trijumeau et sort du crâne par le foramen ovale. Il chemine ensuite entre les muscles ptérygoïdiens latéral et médial. Il constitue le seul nerf mixte (à la fois sensitif et moteur) issu du nerf trijumeau.

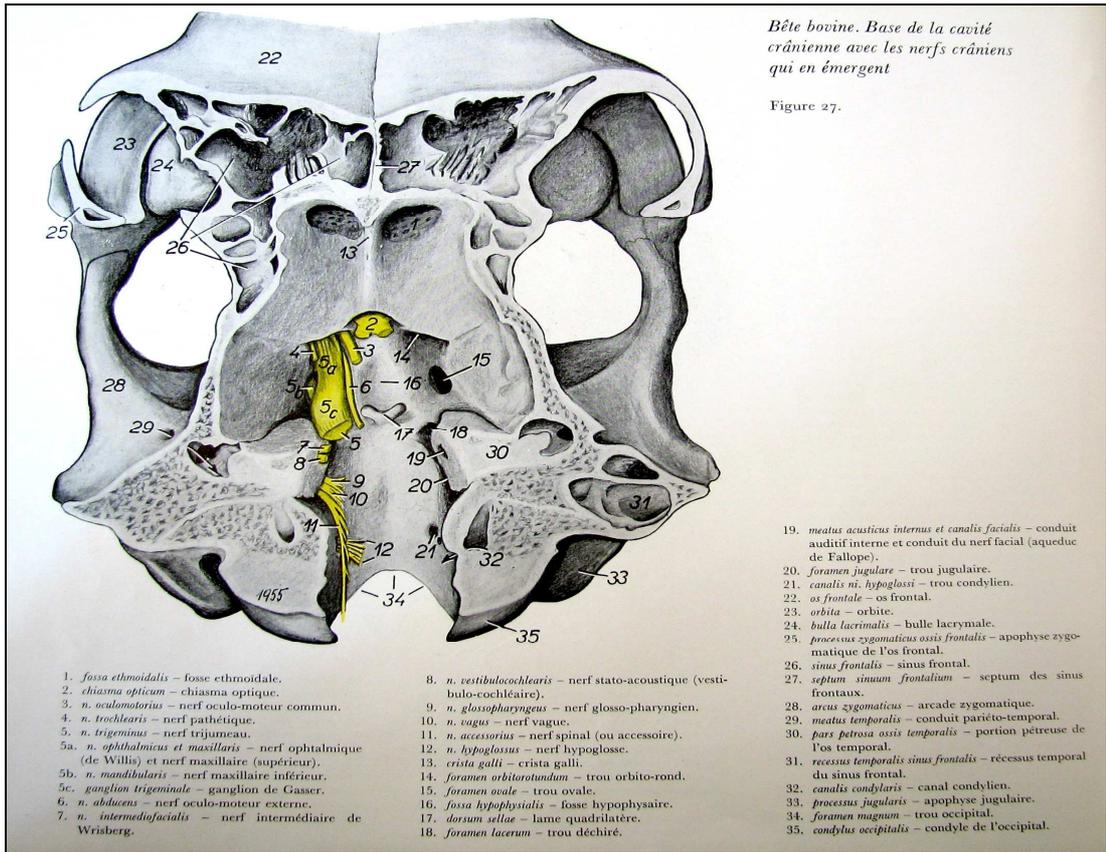


Figure 22 : Bête bovine. Base de la cavité crânienne avec les nerfs crâniens qui en émergent (75).

Le foramen ovale est situé sur l'os temporal, dans la région sous-sphénoïdale, en regard du processus musculaire de l'os temporal.

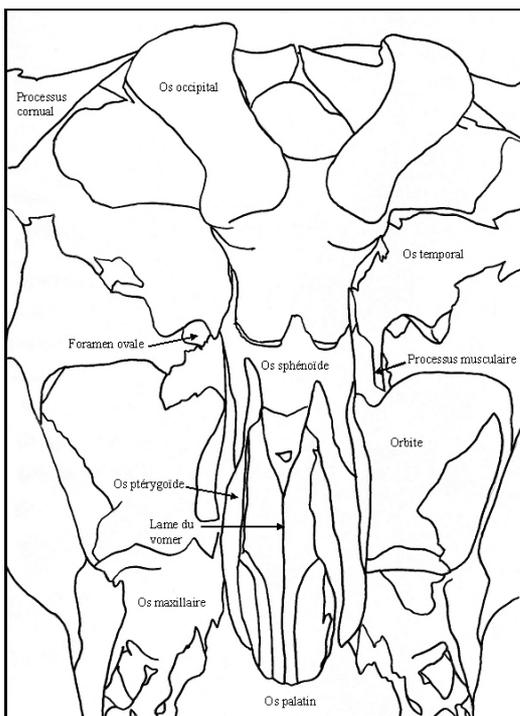


Figure 13 : Ostéologie de la face ventrale du crâne des bovins

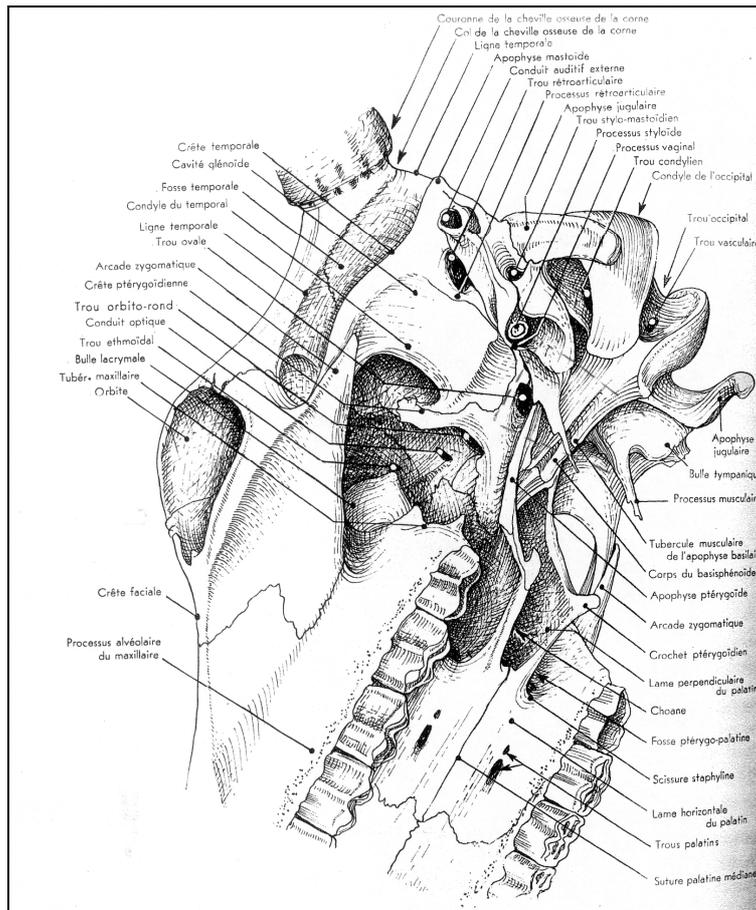


Figure 23 : Base du crâne du bœuf ⁽⁷⁾.

3.4. Description de la méthode

Le prélèvement des ganglions trijumeaux chez un bovin se fait sur la caboche obtenue en fin de chaîne d'abattage, c'est-à-dire la tête à laquelle on a retiré les mandibules, les muscles de la joue et la langue. La caboche comprend alors le crâne et l'appareil hyoïde.

3.4.1. 1^{ère} phase : préparation du site de découpe

La première étape consiste à retirer l'appareil hyoïde par désarticulation et section des tissus mous le maintenant au crâne.

Le site de prélèvement étant situé dans le tiers caudal de la tête, en face interne, il faut également retirer les tissus mous dans cette zone : le palais mou, les masses musculaires restantes, le tissu graisseux.

La seconde étape consiste à isoler les processus musculaires des os temporaux, servant de repères pour la phase de découpe. Cette étape permet ensuite de mettre en évidence les foramens ovales situés sous les processus musculaires.

Le foramen ovale peut également être repéré par visualisation du nerf mandibulaire qui en émerge. Celui-ci chemine ensuite dans le tissu graisseux accolé à l'os sphénoïde.

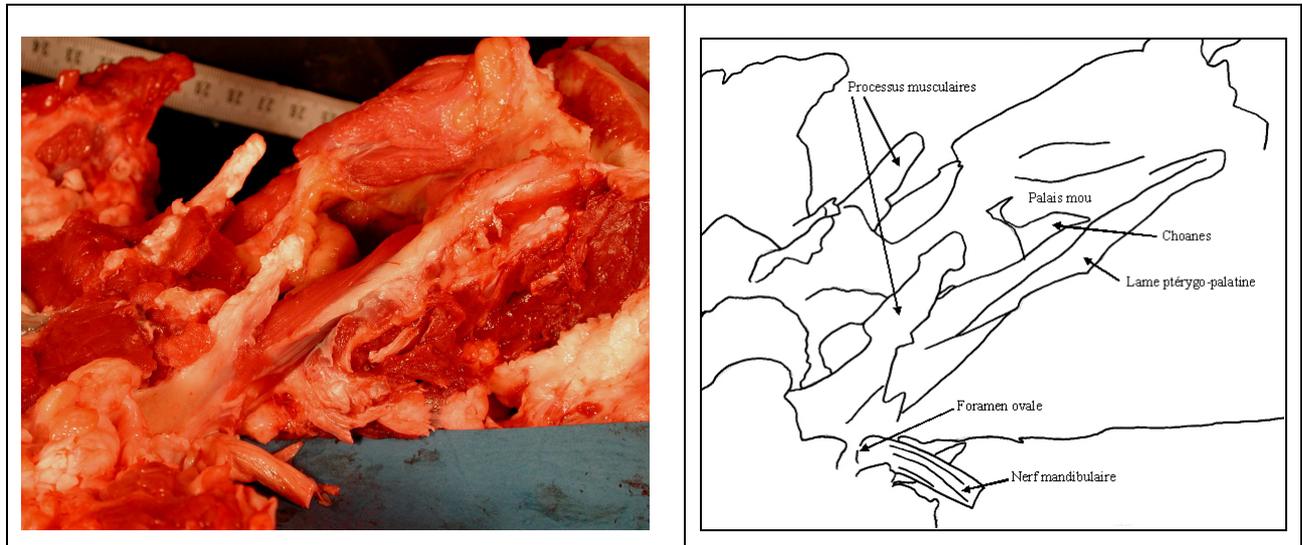


Figure 24 : Préparation du site de découpe – Méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux.

3.4.2. 2^{ème} phase : découpe

Après avoir repéré les deux foramens ovales, la découpe peut commencer. Elle comprend plusieurs sections osseuses qui vont permettre de retirer le fragment d'os masquant les ganglions trijumeaux.

La première phase de découpe consiste en une section au marteau et au burin. Elle doit être caudale aux processus musculaires et transversale par rapport au crâne. Cette section est située dans l'os occipital. Elle dégage la partie caudale du fragment osseux que l'on veut isoler.

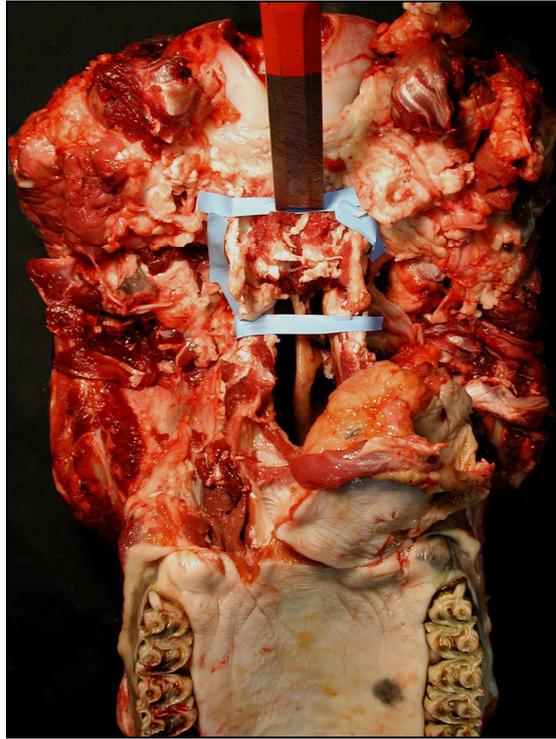


Figure 14 : Première étape de découpe - méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux

La seconde phase correspond à la section des deux parties latérales du fragment osseux. On utilise pour cela les ciseaux à bois et le marteau. De part et d'autre de la section précédente on réalise deux sections obliques sur environ 4 cm de profondeur, passant en arrière des processus musculaires, en direction des foramens ovales. Puis à l'aide du marteau et du burin on prolonge ces sections de façon longitudinale par rapport au crâne, sur 4 à 5 cm de longueur, dans l'os basisphénoïde.

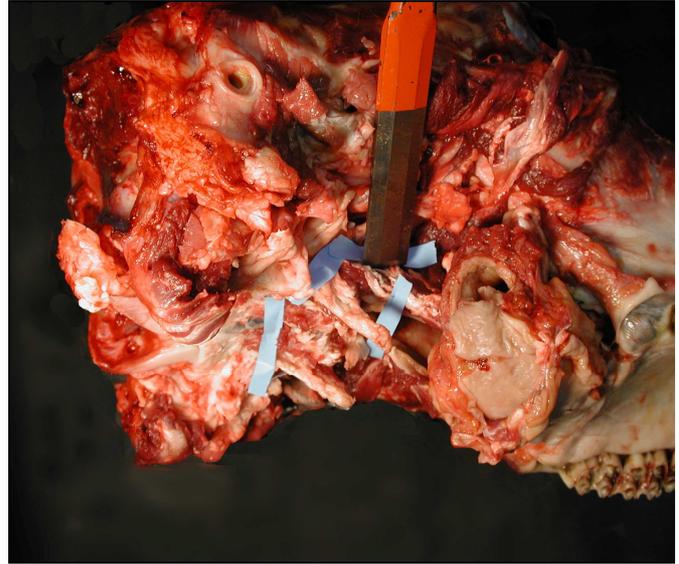
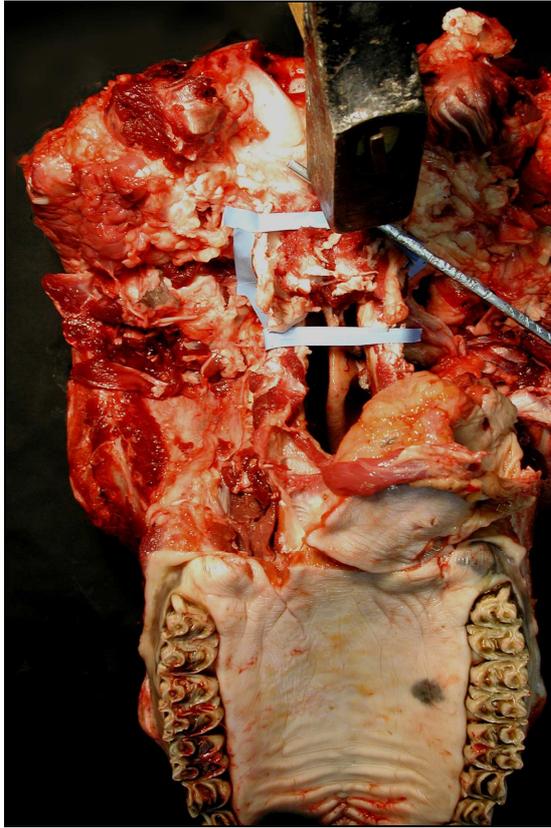


Figure 15 : 2^{ème} et 3^{ème} phases de découpe – méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux

L'étape suivante consiste à dégager le fragment osseux au niveau crânial. Pour cela on effectue une section verticale en avant des processus musculaires au niveau des lames de l'os ptérygoïde. On utilise le marteau et le burin.

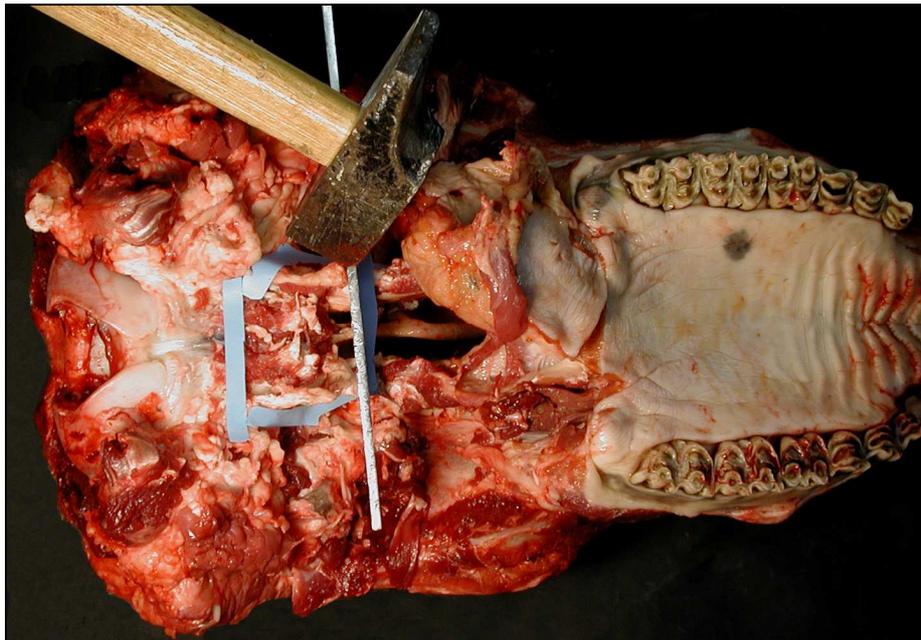


Figure 16 : 4^{ème} étape de découpe – méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux

3.4.3. 3^{ème} phase : prélèvement des ganglions trijumeaux

Nous pouvons alors retirer le fragment osseux formé, délicatement. On peut distinguer une formation sphérique centrale, globuleuse, de 1 à 2 cm de diamètre, correspondant à l'adénohypophyse ou glande pituitaire. De part et d'autre de cette formation, légèrement plus en arrière, on peut distinguer les ganglions trijumeaux. Ces derniers sont dans le prolongement des nerfs mandibulaires sortant des foramens ovales. Les ganglions trijumeaux sont des renflements globuleux, blancs. Ils sont en partie noyés dans une substance fibro-cartilagineuse. On peut alors les extraire délicatement à l'aide d'une pince et d'un scalpel, en sectionnant leur prolongement vers l'encéphale.

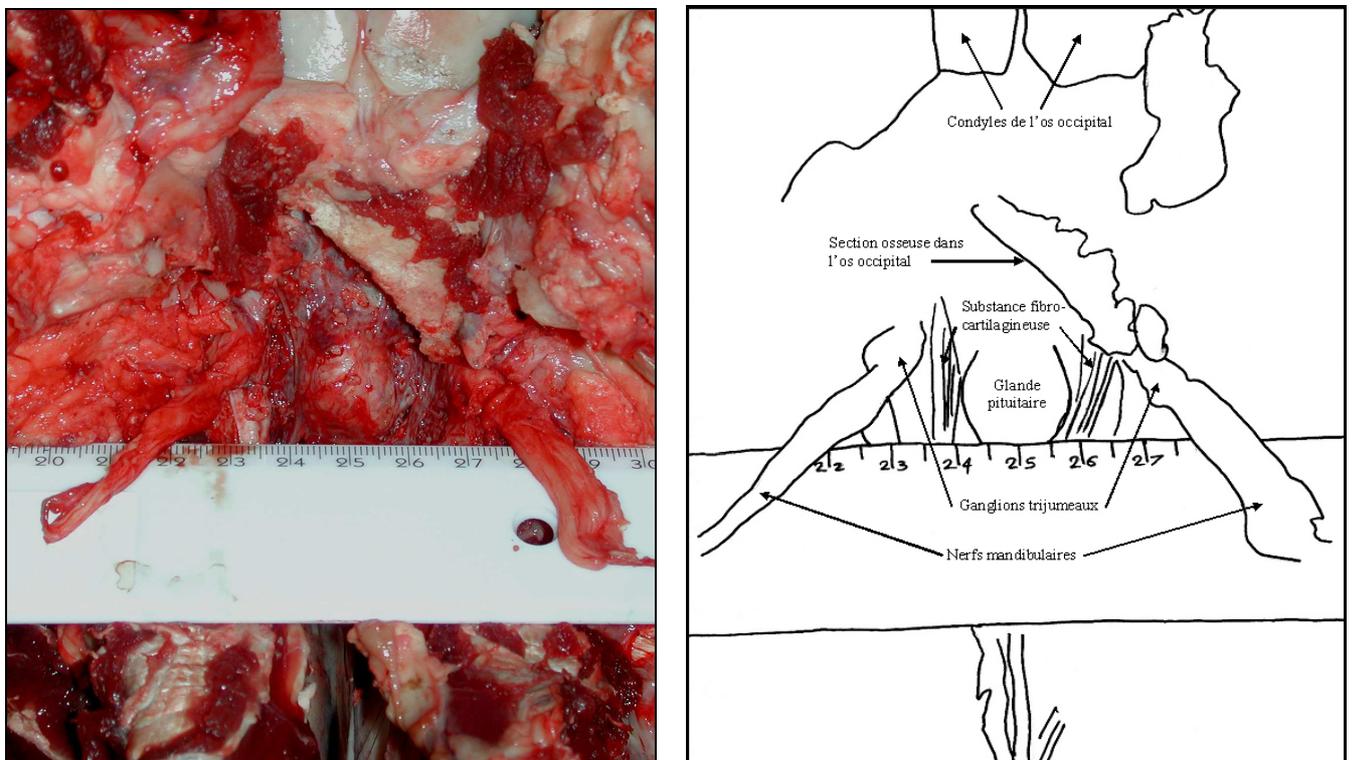


Figure 17 : Mise en évidence des ganglions trijumeaux – méthode de prélèvement des ganglions trijumeaux

4. Analyses et résultats

4.1. Description du contexte

4.1.1. Définitions

Les tests utilisés dans la détection d'une maladie (sérologie, virologie...) ont une fiabilité plus ou moins élevée, en fonction de différents paramètres ⁽⁹⁶⁾.

La sensibilité du test est son aptitude à fournir une réponse positive chez un individu infecté. La spécificité du test est sa capacité à donner une réponse négative chez un animal indemne. Pour un test donné, on définit un seuil de positivité qui détermine sa sensibilité et sa spécificité. Plus le seuil de positivité est élevé, plus la spécificité est élevée et ce au détriment de la sensibilité. Inversement un seuil de positivité bas permettra de détecter un maximum d'individus infectés, mais avec une spécificité moins bonne.

De ce fait, l'utilisation de tests diagnostics est limitée par l'existence de résultats « faux négatifs » lors d'un défaut de sensibilité, et de résultats « faux positifs » lors d'un défaut de spécificité :

Tableau 11 : Réponses exactes et réponses erronées à un test de dépistage ⁽⁹⁶⁾

		Situation réelle	
		Infecté	Indemne
Réponse au test de dépistage	+	Vrai positif	Faux positif
	-	Faux négatif	Vrai négatif

4.1.2. Cas du dépistage de l'IBR

Pour la recherche de l'IBR on privilégie la sensibilité du test afin de détecter un maximum d'animaux positifs. La spécificité est alors moins bonne. C'est ce qui explique l'existence de faux positifs, également appelés Réactions Sérologiques Faussement Positives (RSFP). Par exemple, suite à une infection croisée avec un α herpesvirus autre que BHV1, l'animal produit des anticorps que le test sérologique, par manque de spécificité, va considérer comme des anticorps anti-BHV1. Le bovin présentera alors une RSFP.

En pratique une RSFP est suspectée lorsque l'on obtient une sérologie IBR positive dans un contexte épidémiologique contraire, c'est-à-dire qu'aucun élément ne permet d'expliquer cette positivité (élevage qualifié indemne d'IBR, bovin acheté dans un cheptel

indemne...). L'éleveur a alors la possibilité, soit de faire vacciner ou abattre le bovin dans les deux mois suivant l'obtention du résultat, soit de chercher à infirmer ou confirmer cette positivité pour déterminer le statut de son cheptel.

4.1.3. Procédures en cas de suspicion de RSFP

La procédure PR IBR 04 de l'ACERSA ⁽¹⁷⁾ précise la démarche à suivre en cas de suspicion de RSFP.

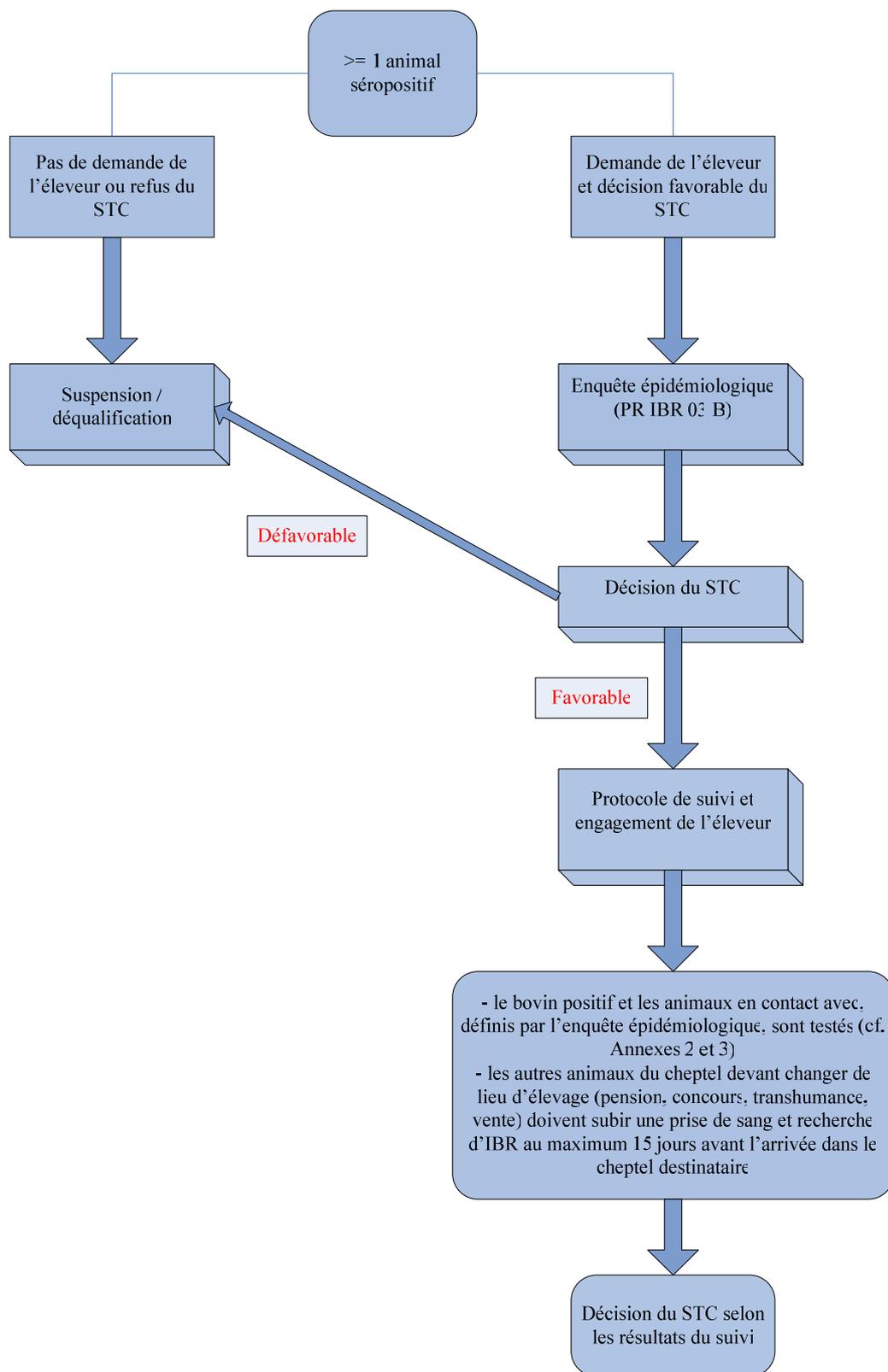


Figure 12 : Procédure en cas de suspicion de Réaction Sérologique Faussement Positive ⁽¹⁷⁾

4.1.4. Enquête épidémiologique

Une enquête épidémiologique a été mise au point par l'ACERSA dans le cas de suspicion de réaction sérologique faussement positive en IBR dans un élevage ⁽¹⁷⁾. Les informations qui y sont demandées concernent l'élevage, l'animal suspect (origine, résultats d'analyses précédents...) et le statut de la mère du bovin suspect. Ensuite l'enquête va consister à étudier tous les risques possibles de transmission de BHV1 au bovin suspect :

- risques de contamination endogène, c'est-à-dire à l'intérieur de l'élevage (donc statut IBR de l'élevage, depuis quand, séroprévalence IBR avant l'acquisition de la certification, existence de résultats d'analyses anciens particuliers (douteux, positifs...), réhabilitation de vente suite à un résultat de recherche IBR)
- risques liés à la reproduction (méthodes employées, origine des taureaux, semences, embryons...)
- risques de contamination par introduction (statut des animaux introduits, résultats sérologiques, transport, isolement, réhabilitation d'achats...)
- risques de contamination par pension ou prêt
- risques de contamination par retour de rassemblement (foire, concours, estives, comices)
- risques de contamination par le voisinage (statut des voisins, type de clôtures, fréquence des contacts directs avec des bovins suspects, avec d'autres bovins, « accidents » de voisinage...)
- risques de contamination par contact indirect (partage de matériel d'élevage, visiteurs...)
- risques d'inversion des sérums (vétérinaire, laboratoire)
- risques d'infection croisée avec d'autres espèces (espèces en contact avec le bovin : ovins, caprins, chevaux, ruminants sauvages, porcs, sangliers, fréquence et risques de contacts, cas d'herpesviroses autres que l'IBR dans l'élevage)

Pour chacun des éléments étudiés, l'enquêteur fait une appréciation du niveau de risque. Il établit également la liste des animaux douteux, à reconstruire : les animaux au contact du bovin suspect au moment du prélèvement positif, les bovins ayant vécu avec le bovin suspect dans les deux mois précédents, les bovins vivants avec le bovin suspect au moment de l'enquête.

En fonction du résultat de l'enquête, le STC prend une décision et émet des propositions de suivi concernant le bovin suspect et les autres bovins de l'élevage. L'éleveur choisit ou non de s'engager dans cette procédure. S'il est d'accord, le protocole de recontrôle et de décision défini par l'ACERSA (Annexe 2.1) dans le cadre d'une suspicion de réaction sérologique faussement positive est mis en place.

4.1.5. Procédure de recontrôle et de décision

La procédure comprend plusieurs points ⁽²⁹⁾:

- des analyses sérologiques sur le bovin séropositif :
 - d'une part sur le prélèvement initial, envoyé au Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs (LNCR) pour effectuer une séroneutralisation sur 24 heures,
 - d'autre part sur un second prélèvement (la prise de sang doit être faite dès la signature du protocole de suivi) envoyé au Laboratoire Départemental d'Analyses (LDA) local, pour réaliser des tests ELISA anticorps totaux et gB, et au LNCR pour effectuer une séroneutralisation sur 24 heures.
- sur les animaux du lot en contact avec le bovin séropositif, on effectue une sérologie ELISA anticorps totaux et gB, au LDA local. Si l'on obtient un ou plusieurs bovins positifs à l'un des deux tests, il faut recontrôler avec un test plus spécifique : une séroneutralisation 24 heures au LNCR. L'infirmité de la positivité entraîne la mise en place d'un nouveau protocole de suivi (cas de RSFP), sa confirmation provoque la perte de qualification IBR du cheptel.
- sur les bovins séropositifs on peut confirmer ou infirmer la présence du virus par examen virologique, soit par réactivation virale à la dexaméthasone (protocole de réalisation très strict, décrit dans l'annexe 3 de la procédure ACERSA PR/IBR/04 ⁽²⁸⁾), soit après abattage de l'animal, recherche du virus par PCR dans les ganglions trijumeaux. Si l'examen virologique est négatif, on conclut à une réaction sérologique faussement positive et le cheptel conserve sa qualification IBR.

Une grille de décision a également été définie par l'ACERSA pour statuer sur le cheptel d'après les résultats des analyses sérologiques et virologiques. Cependant cette grille de décision n'est qu'indicative.

La recherche du virus dans les ganglions trijumeaux peut être proposée à l'éleveur, d'autant que la réglementation impose désormais la vaccination ou l'abattage de l'animal séropositif, dans les deux mois suivant l'obtention du résultat. Or dans un élevage qualifié indemne la vaccination est déconseillée, il vaut mieux abattre le bovin. L'examen virologique sur les ganglions trijumeaux permet alors de conclure sur le statut infectieux de l'animal et éventuellement de confirmer une RSFP, donc de permettre à l'élevage de conserver sa qualification IBR.

4.2. Description de la technique d'analyse

4.2.1. PCR

La PCR ou Polymerase Chain Reaction (Réaction de Polymérisation en Chaîne) est une technique de biologie moléculaire permettant d'amplifier un fragment d'ADN particulier. On utilise pour cela une sonde d'ADN correspondant à une séquence du génome de l'agent infectieux que l'on recherche. Elle présente l'avantage de pouvoir détecter la présence de l'agent pathogène même si celui-ci est mort. La PCR présente une bonne sensibilité et spécificité, cependant elle est très sensible aux contaminations. On peut alors obtenir des résultats faux positifs. C'est pourquoi elle est associée à un isolement viral sur culture cellulaire, qui est la méthode de référence pour le diagnostic de l'IBR ⁽⁶⁹⁾.

4.2.2. Isolement viral après passage sur culture cellulaire

Un extrait des ganglions est mis en culture sur tapis cellulaire. Deux à trois jours après on observe au microscope les cellules. En présence de lésions caractéristiques de BHV1 (dus à son effet cytopathogène), on peut conclure avec certitude que le bovin était bien infecté par le virus de l'IBR. Si aucune modification n'est observée, le prélèvement est remis en culture sur cellules et ce une à deux fois si nécessaire, avant de conclure à l'absence de BHV1.

4.3. Résultats obtenus au cours des analyses

Seules quelques analyses ont été réalisées en France jusqu'à maintenant, puisque cette méthode n'est pas obligatoire. Cependant, les nouvelles obligations législatives

impliquant la vaccination ou l'abattage de l'animal en cas de sérologie positive, vont rendre cette technique plus habituelle.

Tableau 11 : Résultats d'analyses réalisées par le GDS de Corrèze (19)²

animal	sérologie Ac totaux	sérologie Ac gB	recontrôle Ac totaux	recontrôle Ac gB	PCR sur ganglions trijumeaux	virologie après culture cellulaire
campagne 2005-2006						
1	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
2	Positif	Positif		Positif	Négatif	Négatif
3	Positif	Positif			Négatif	Négatif
4	Positif	Positif			Suspect	Négatif
5	Positif	Positif			Négatif	Négatif
6	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
7	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
8	Positif	Positif			Négatif	Négatif
9	Positif	Positif			Négatif	Négatif
10	Positif	Positif			Positif	Négatif
11	Positif	Positif			Positif	Négatif
campagne 2006-2007						
1	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
2	Positif	Positif	Douteux	Positif	Suspect	Négatif
3	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
4	Douteux	Positif	Positif	Positif		
			Douteux	Positif	Négatif	Négatif
5	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
6	Positif	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Négatif
7	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif

4.4. Interprétation

4.4.1. Cas négatifs

Lorsque les analyses virologiques effectuées sur les ganglions trijumeaux se révèlent négatives, l'animal est considéré comme non infecté par le BHV1. La sérologie positive était donc bien une Réaction Sérologique Faussement Positive. L'élevage retrouve alors sa qualification ACERSA sans autres contrôles nécessaires.

² Données fournies par le GDS de Corrèze, directrice : Christelle ROY (christelle.roy@gds19.org).

4.4.2. Cas suspects

L'obtention de cas suspects correspond à des analyses PCR effectuées sur les ganglions trijumeaux, donnant un certain niveau d'homologie avec BHV1 sans que les données soient totalement identiques. Ce résultat associé à une mise en culture cellulaire négative conforte l'idée d'une absence d'infection par BHV1, mais d'une infection probable par un herpesvirus apparenté, de souche sauvage. Une enquête sur l'environnement de l'animal (faune sauvage en contact) est alors intéressante.

En présence d'un cas suspect, il faut définir au niveau du cheptel un lot à risque, c'est-à-dire l'ensemble des bovins vivant au contact de l'animal suspect. Des sérologies individuelles sont pratiquées sur l'ensemble des individus de ce lot. Si tous les résultats sont négatifs, le cheptel retrouve sa qualification IBR.

4.4.3. Cas positifs

Les cas positifs correspondent à des animaux pour lesquels l'analyse PCR sur les ganglions trijumeaux a permis de mettre en évidence la présence de BHV1. Cependant la mise en culture cellulaire du virus n'a pas permis de l'isoler dans les deux situations rencontrées. Le virus était donc détruit. Ceci est probablement lié aux conditions et au délai d'acheminement du prélèvement qui sont délicats.

La conséquence d'un tel résultat est la perte de qualification du cheptel jusqu'au recontrôle de tous les animaux de plus de 24 mois, par sérologies individuelles.

4.5. Intégration de la méthode dans le plan de lutte national

La recherche du virus BHV1 dans les ganglions trijumeaux est jusqu'à présent peu réalisée en France ou en Europe. Ceci est lié entre autres à la difficulté d'effectuer le prélèvement des ganglions, la région du crâne étant d'un abord difficile. D'autre part se pose le problème du financement de cette analyse. Dans les deux départements français où des examens des ganglions trijumeaux ont été effectués, les frais ont été pris en charge en partie par le GDS du département et en partie par le conseil général de par la subvention IBR qu'il alloue au département.

Cependant, la législation impose désormais qu'en cas de résultat sérologique positif, l'animal soit abattu ou vacciné. Dans les cheptels possédant une qualification ACERSA, c'est-à-dire indemnes ou contrôlés en IBR, l'abattage du bovin séropositif se révèle plus intéressant que sa vaccination. La recherche du virus BHV1 sur les ganglions trijumeaux présente alors un double avantage. Le fait de devoir abattre le bovin n'est plus un frein à la réalisation de l'analyse. De plus le diagnostic virologique établi est un diagnostic de certitude. L'élevage peut alors retrouver sa qualification IBR lorsque l'examen virologique donne un résultat négatif. L'utilisation de cette méthode dans le plan de lutte contre l'IBR présente donc un intérêt non négligeable et pourrait être étendue à une plus grande échelle.

Le développement de la méthode de prélèvement du ganglion trigéminal proposée, plus simple que celle utilisée habituellement, et réalisable en abattoir, permettra de faciliter cette analyse.

Dans le département de l'Yonne le GDS met actuellement en place un centre de réactivation à la dexaméthasone des bovins suspects d'IBR. Les animaux chez qui le virus sera isolé seront alors abattus et une recherche sur les ganglions trijumeaux sera effectuée.

5. Conclusion

Le système mis en place par l'ACERSA depuis 1996 a permis de contrôler l'IBR en France efficacement. En effet, la quasi-totalité des cheptels français est actuellement sous certification IBR. La prophylaxie sanitaire rendue obligatoire par l'Etat depuis peu va participer à la mise en évidence et à la gestion des cas sporadiques d'animaux séropositifs. Les garanties alors apportées permettent les échanges commerciaux avec l'ensemble des pays européens.

Dans ce système où de plus en plus d'élevages sont qualifiés indemnes en IBR, il est indispensable de pouvoir expliquer des résultats sérologiques aberrants. C'est pourquoi il faut avoir les outils techniques permettant de rechercher directement le virus chez le bovin. Deux méthodes ont été décrites pour cela, chacune avec ses avantages et ses inconvénients. Nous avons essayé de rendre l'une de ces techniques, la recherche virale sur les ganglions trijumeaux, plus abordable pour les personnes amenées à la pratiquer.

L'objectif est à présent d'étendre l'utilisation de ces techniques afin d'aboutir à une maîtrise complète de l'IBR. La recherche du virus BHV1 au niveau de son site de latence apporte des résultats concrets et des réponses précises dans des situations complexes. Cependant, certains points restent à améliorer, notamment pour assurer la viabilité du virus dans le prélèvement afin de permettre sa mise en culture au laboratoire.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Melle Fanny, Monique, Huguette GARDEUX

a été admis(e) sur concours en : 2002

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 12/07/2007

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussignée, Geneviève BENARD, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :

Melle Fanny, Monique, Huguette GARDEUX

intitulée :

*Recherche du virus BHV1 dans les ganglions trijumeaux des bovins dans le cadre de la gestion nationale de la
Rhino-trachéite Infectieuse Bovine (IBR)*

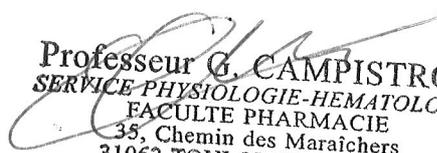
**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Geneviève BENARD**

**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON**

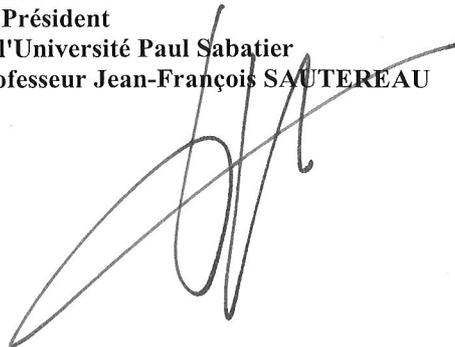


**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Gérard CAMPISTRON**

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



Professeur G. CAMPISTRON
SERVICE PHYSIOLOGIE-HEMATOLOGIE
FACULTE PHARMACIE
35, Chemin des Maraichers
31062 TOULOUSE CEDEX 4
Tél. : 05.62.25.68.20
Fax : 05.62.25.98.15



6. Bibliographie

(1) ACKERMANN M., WYLER R.

The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection.

Veterinary Microbiology, 1984, **9**, (1), 53-63.

(2) ACKERMANN M., PETERHANS E., WYLER R.

DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves.

American Journal of Veterinary Research, 1982, **43** (1), 36-40.

(3) ALLAN P.J., DENNETT D.P., JOHNSON R.H.

Studies on the effects of infectious bovine rhinotracheitis virus on reproduction in heifers.

Australian Veterinary Journal, 1975, **51** (8), 370-373.

(4) ARCANGIOLI B. (Page consultée le 9 février 2007).

Le cycle cellulaire.

Adresse URL [en ligne] : http://virologie.free.fr/11-Cycle_cellulaire/Cycle_cellulaire.htm

(5) BABIUK L.A., VAN DRUNEN LITTLE-VAN DEN HURK S., TIKOO S.K.

Immunology of bovine herpesvirus 1 infection.

Veterinary Microbiology, 1996, **53**, 31-42.

(6) BARANOWSKI E., KEIL G., LYAKU J., RIJSEWIJK F.A., VAN OIRSCHOT J.T., PASTORET PP, THIRY E.

Structural and functional analysis of Bovine Herpesvirus 1 minor glycoproteins.

Veterinary Microbiology, 1996, **53** (1-2), 91-101.

(7) BARONE R.

Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 1. Ostéologie. 4^{ème} édition.

Paris : Vigot Frères, 1999. 761 p.

(8) BIELANSKI A., NADIN-DAVIS S., SAPP T., LUTZE-WALLACE C.

Viral contamination of embryos cryopreserved in liquid nitrogen.

Cryobiology, 2000, **40** (2), 110-116.

(9) BLANC R.

BHV1 et reproduction.

Thèse : Med.Vet. : Alfort : 2002-075, 57 p.

(10) BOLON A.

La certification IBR des cheptels bovins en Europe : situation actuelle et propositions d'harmonisation.

Thèse : Med.Vet. : Lyon : 2003, 115, 132 p.

(11) BOUQUET B.

Recherche étiologique systématique lors d'avortements.

Le Point Vétérinaire, 2005, **36** (257), 10-11.

(12) BOSCH J.C., VAN LIESHOUT J.A., DE WIT J.J., GRAAT E.A., SOMERS M.J.

The serological BHV1 status of dams determines the precolostral status of their calves.

Veterinary Quarterly, 2000, **22** (2), 99-102.

(13) BRUGERE-PICOUX J.

Diagnostic différentiel des principales maladies respiratoires des bovins.

Recueil de Médecine Vétérinaire, 1985, **161** (12), 1213-1226.

(14) CASSARD H.

Infections croisées à alphaherpesvirus chez les ruminants : application au contrôle de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine.

Thèse : Med.Vet : Toulouse : 2003-TOU 159, 111 p.

(15) CHATELAIN E.

Innervation de la tête et organes des sens. Cours d'anatomie de deuxième année.

Laboratoire d'Anatomie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Lyon, 1993, 83 p.

(16) CIACCI-ZANELLA J., STONE M., HENDERSON G., JONES C.

The Latency-Related gene of Bovine Herpesvirus 1 inhibits programmed cell death.

Journal of Virology, 1999, **73** (12), 9734–9740.

(17) CROCHET C.

Suspicion de réaction sérologique faussement positive.

ACERSA, PR/IBR/04, Révision A, 31 mars 2005.

[http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/97cf3f4f3fcb8f8bc1256c0f004d4913/932d48caadb148b9c1256bff006857f7/\\$FILE/PRIBR04A.pdf](http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/97cf3f4f3fcb8f8bc1256c0f004d4913/932d48caadb148b9c1256bff006857f7/$FILE/PRIBR04A.pdf)

Annexe 1, Révision A : Enquête épidémiologique en élevage présentant des suspicions de réactions sérologiques faussement positives.

Annexe 2, Révision A : Suspicion de réaction sérologique faussement positive en élevage : protocole de recontrôle et de décision.

Annexe 3, Révision A : Protocole de réactivation des bovins suspects de réactions sérologiques faussement positives et précautions à prendre.

(18) DELHON G.A., GONZALEZ M.J., MURCIA P.R.

Susceptibility of sensory neurons to apoptosis following infection by BHV1.

Journal of General Virology, 2002, **83**, 2257-2267.

(19) DE REGGE N., NAUWYNCK H.J., GEENEN K., KRUMMENACHER C., COHEN G.H., EISENBERG R.J., METTENLEITER T.C., FAVOREEL H.W.

α -Herpesvirus glycoprotein D interaction with sensory neurons triggers formation of varicosities that serve as virus exit sites.

The Journal of Cell Biology, 2006, **174** (2), 267–275.

(20) DEREGT D., JORDAN L.T., VAN DRUNEN LITTLE-VAN DEN HURK S., MASRI S.A., TESSARO S.V., GILBERT S.A.

Antigenic and molecular characterization of a herpesvirus isolated from a North American elk.

American Journal of Veterinary Research, 2000, **61** (12), 1614-1618.

(21) DEVIREDDY L.R., JONES C.J.

Activation of caspases and p53 by Bovine Herpesvirus 1 infection results in programmed cell death and efficient virus release.

Journal of Virology, 1999, **73** (5), 3778–3788.

(22) DNA TECHNOLOGY. (Page consultée le 20 juillet 2007). [En ligne].

Adresse URL : <http://www.dna-technology.ru/doc/info-Herpesviridae.shtml>.

(23) DUFOUR A.

Cahier des charges technique du système national d'appellation de cheptel en matière de Rhinotrachéite Infectieuse Bovine de l'ACERSA, CC/IBR/01 révision L du 06 avril 2006.

[http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/97cf3f4f3fcb8f8bc1256c0f004d4913/932d48caadb148b9c1256bff006857f7/\\$FILE/CCIBR01L.PDF](http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/97cf3f4f3fcb8f8bc1256c0f004d4913/932d48caadb148b9c1256bff006857f7/$FILE/CCIBR01L.PDF)

(24) EK-KOMMONEN C., VEIJALAINEN P., RANTALA M., NEUVONEN E.

Neutralizing antibodies to bovine herpesvirus 1 in reindeer.

Acta Veterinaria Scandinavia, 1982, **23** (4), 565-569.

(25) ENGELS M., ACKERMANN M.

Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections.

Veterinary Microbiology, 1996, **53** (1-2), 3-15.

(26) ENQUIST L.W., TOMISHIMA M.J., GROSS S., SMITH G.A.

Directional spread of an alpha-herpesvirus in the nervous system.

Veterinary Microbiology, 2002, **86** (1-2), 5-16.

(27) ESKRA L., SPLITTER G.A.

Bovine herpesvirus-1 infects activated CD4+ lymphocytes.

Journal of General Virology, 1997, **78**, 2159-2166.

(28) FDSEA DE LA MARNE (51). (Page consultée le 21 juin 2007).

Site de la FDSEA de la Marne [En ligne].

Adresse URL :

www.fdsea51.fr/presentation/Struct_interne/sections_spe/gdsb/publications/certif_ibr.html

(29) FOUQUET H.

Sigal : logiciel de suivi de troupeaux bovins allaitants.

Thèse : Med.Vet. : Alfort : 1993 : 112, 179 p.

(30) FUCHS M., HUBERT P., DETTERER J., RZIHA H.J.

Detection of Bovine Herpesvirus Type 1 in blood from naturally infected cattle by using a sensitive PCR that discriminates between wild-type virus and virus lacking glycoprotein E. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, **37** (8), 2498–2507.

(31) GDS DE L'EUROPE. (Page consultée le 21 juin 2007).

Site du Groupement de Défense Sanitaire de l'Europe (27) [En ligne].

Adresse URL : http://www.gds-eure.com/rubrique/iso_album/dc-02.pdf

(32) GEISER V., INMAN M., ZHANG Y., JONES C.

The latency-related gene of bovine herpesvirus-1 can inhibit the ability of bICP0 to activate productive infection.

Journal of General Virology, 2002, **83**, 2965–2971.

(33) GOUVERNEMENT AUSTRALIEN. (Page consultée le 16 décembre 2006).

Site du gouvernement australien, Département de la Santé et du vieillissement, centre de régulation de la technologie des gènes [En ligne].

Adresse URL : <http://www.ogtr.gov.au/rtf/ir/biologybovineherpesvirus.rtf>

(34) GUERIN B., MARQUANT-LE GUIENNE B., ALLIETTA M., HARLAY T., THIBIER M.

Effets de la contamination par le BHV1 sur la maturation et la fécondation in vitro des ovocytes de bovins.

Recueil de Médecine Vétérinaire, 1990, **166**, 911-917.

(35) GUERIN D.

L'assainissement anti-IBR des estives.

Bulletin des GTV, 2000, **6**, 65-68.

(36) GUY J.S., POTGIETER L.N.

Bovine herpesvirus-1 infection of cattle: kinetics of antibody formation after intranasal exposure and abortion induced by the virus.

American Journal of Veterinary Research, 1985, **46** (4), 893-898.

(37) HAGE J.J., VELLEMA P., SCHUKKEN Y.H., BARKEMA H.W., RIJSEWIJK F.A., VAN OUIRSCHOT J.T., WENTINK G.H.

Sheep do not have a major role in bovine herpesvirus 1 transmission.

Veterinary Microbiology, 1997, **57** (1), 41-54.

(38) HANON E., MEYER G., VANDERPLASSCHEN A., DESSY-DOIZE C., THIRY E., PASTORET P.P.

Attachment but not penetration of bovine herpesvirus 1 is necessary to induce apoptosis in target cells.

Journal of Virology, 1998, **72** (9), 7638–7641.

(39) HEITZMANN H.

La transhumance bovine en Béarn : aspects socio-économiques et sanitaires.

Thèse : Med.vet. : Alfort : 2003-139, 105 p.

(40) HENDERSON G., ZHANG Y., INMAN M., JONES D., JONES C.

Infected cell protein 0 encoded by bovine herpesvirus 1 can activate caspase 3 when overexpressed in transfected cells.

Journal of General Virology, 2004, **85**, 3511-3516.

(41) HOUTAIN J.Y. (Page consultée le 16 août 2007).

Site de l'Association Régionale de Santé et d'Identification Animale en Belgique. [En ligne].

Adresse URL:

www.arsia.be/documents/presentations_pps/ibr_pourquoi_comment_version_4.pps

(42) INMAN M., LOVATO L., DOSTER A., JONES C.

A mutation in the Latency-Related gene of Bovine Herpesvirus 1 leads to impaired ocular shedding in acutely infected calves.

Journal of Virology, 2001, **75** (18), 8507–8515.

(43) INMAN M., LOVATO L., DOSTER A., JONES C.

A mutation in the Latency-Related gene of Bovine Herpesvirus 1 disrupts the latency reactivation cycle in calves.

Journal of Virology, 2002, **76** (13), 6771–6779.

(44) INMAN M., ZHANG Y., GEISER V., JONES C.

The zinc ring finger in the bICP0 protein encoded by bovine herpesvirus-1 mediates toxicity and activates productive infection.

Journal of General Virology, 2001, **82**, 483–492.

(45) JIANG Y., HOSSAIN A., WINKLER M.T., HOLT T., DOSTER A., JONES C.

A protein encoded by the Latency-Related gene of Bovine Herpesvirus 1 is expressed in trigeminal ganglionic neurons of latently infected cattle and interacts with cyclin-dependent kinase 2 during productive infection.

Journal of Virology, 1998, **72** (10), 8133–8142.

(46) JONES C.

Herpes Simplex Virus Type 1 and Bovine Herpesvirus 1 latency.

Clinical Microbiology Reviews, 2003, **16** (1), 79–95.

(47) KAASHOEK M.J., RIJSEWIJK F.A., VAN OIRSCHOT J.T.

Persistence of antibodies against bovine herpesvirus 1 and virus reactivation two to three years after infection.

Veterinary Microbiology, 1996, **53** (1-2), 103-110.

(48) KAASHOEK M.J., STRAVER P.H., VAN ROOIJ E.M., QUAK J., VAN OIRSHOT J.T.

Virulence, immunogenicity and reactivation of seven bovine herpesvirus 1.1 strains: clinical and virological aspects.

Veterinary Record, 1996, **139** (17), 416-421.

(49) KATOH N.

Detection of Annexins I and IV in bronchoalveolar lavage fluids from calves inoculated with Bovine Herpes Virus-1.

Journal of Veterinary Medicine and Science, 2000, **62** (1), 37–41.

(50) KEUSER V., THIRY E.

Conséquences de l'infection des cervidés par des alpha-herpèsvirus apparentés au virus de l'IBR.

Le Point Vétérinaire, 2000, **207**, 39-43.

(51) KEUSER V., SCHYNTS F., DETRY B., COLLARD A., ROBERT B., VANDERPLASSCHEN A., PASTORET P.P., THIRY E.

Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine, caprine, and cervine Alphaherpesviruses related to Bovine Herpesvirus 1.

Journal of Clinical Microbiology, 2004, **42** (3), 1228–1235.

(52) LEMAIRE M., MEYER G., BARANOWSKI E., SCHYNTS F., WELLEMANS G., KERKHOF P., THIRY E.

Production of Bovine Herpesvirus Type 1-Seronegative Latent Carriers by administration of a live-attenuated vaccine in passively immunized calves.

Journal of Clinical Microbiology, 2000, **38** (11), 4233–4238.

(53) LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., GEORGIN J.P., BARANOWSKI E., GABRIEL A., ROS C., BELAK S., THIRY E.

Latency and reactivation of a glycoprotein E negative bovine herpesvirus type 1 vaccine: influence of virus load and effect of specific maternal antibodies.

Vaccine, 2001, **19** (32), 4795-4804.

(54) LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., THIRY E.

Antibody response to glycoprotein E after bovine herpesvirus type 1 infection in passively immunised, glycoprotein E-negative calves.

Veterinary Record, 1999, **144** (7), 172-176.

(55) LEMAIRE M., SCHYNTS F., ROS C., THIRY E., BELAK S.

Establishment of latency associated with glycoprotein E (gE) seroconversion after bovine herpesvirus 1 infection in calves with high levels of passive antibodies lacking gE antibodies.

Veterinary Microbiology, 2001, **82** (3), 211-222.

(56) LEMAIRE M., PASTORET P.P., THIRY E.

Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine.

Annales de Médecine Vétérinaire, 2004, **138**, 167-180.

(57) LEMAIRE M., WEYNANTS V., GODFROID J., SCHYNTS F., MEYER G., LETESSON J.J., THIRY E.

Effects of Bovine Herpesvirus Type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency.

Journal of Clinical Microbiology, 2000, **38** (5), 1885–1894.

(58) LOVATO L., INMAN M., HENDERSON G., DOSTER A., JONES C.

Infection of cattle with a Bovine Herpesvirus 1 strain that contains a mutation in the Latency-Related gene leads to increased apoptosis in trigeminal ganglia during the transition from acute infection to latency.

Journal of Virology, 2003, **77** (8), 4848–4857.

(59) LYAKU J.R., NETTLETON P.F., MARSDEN H.

A comparison of serological relationships among five ruminant alphaherpesviruses by ELISA.

Archives of Virology, 1992, **124** (3-4), 333-341.

(60) MADIC J., MAGDALENA J., QUAK J., VAN OIRSHOT J.T.

Isotype-specific antibody responses to bovine herpesvirus 1 in sera and mucosal secretions of calves after experimental reinfection and after reactivation.

Veterinary Immunology and Immunopathology, 1995, **47** (1-2), 81-92.

(61) MAILLARD R., CHASTAND-MAILLARD S.

Maladies virales et troubles de la reproduction.

Le Point Vétérinaire, 2006, **37** (268), 28-33.

(62) MARS M.H., BRUSCHKE C.J.M., VAN OIRSCHOT J.T.

Airborne transmission of BHV1, BRSV and BVDV among cattle is possible under experimental conditions.

Veterinary Microbiology, 1999, **66**, 197-207.

(63) MARS M.H., DE JONG M.C., VAN MAANEN C., HAGE J.J., VAN OIRSHOT J.T.
Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions.
Veterinary Microbiology, 2000, **76** (1), 1-13.

(64) MARS M.H., DE JONG M.C., VAN OIRSCHOT J.T.
A gE-negative BHV1 vaccine virus strain cannot perpetuate in cattle populations.
Vaccine, 2000, **18** (20), 2120-2124.

(65) MENARD M.F., PERRIN M.
Le diagnostic de laboratoire de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR).
Bulletin des GTV, 2000, **7**, 145-149.

(66) MENARD M.F., PERRIN M.
La Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR) : diagnostic de laboratoire et contrôle des réactifs commercialisés.
Bulletin des GTV, 1997, **4**, 37-44.

(67) MEYER G., HANON E., GEORLETTE D., PASTORET P.P., THIRY E.
Bovine herpesvirus type 1 glycoprotein H is essential for penetration and propagation in cell culture.
Journal of General Virology, 1998, **79**, 1983–1987.

(68) MEYER G., D'OFFRAY J., THIRY E.
Les encéphalites à Herpesvirus bovins.
Le Point vétérinaire, 2000, **31**, 417-424.

(69) MOHAMADOU L.
Bilan de la mise en place du schéma de certification des élevages bovins vis-à-vis de l'IBR : 1997 – 2001.
Thèse : Med.Vet. : Alfort : 2003-089, 167 p.

(70) MSOLLA P.M., ALLAN E.M., SELMAN I.E., WISEMAN A.

Reactivation and shedding of bovine herpesvirus 1 following *Dictyocaulus viviparus* infection.

Journal of Comparative Pathology, 1983, **93** (2), 271-274.

(71) MUYLKENS B., MEURENS F., SCHYNTS F., THIRY E.

Les facteurs de virulence des alphaherpèsvirus.

Virologie, 2003, **7** (6), 401-415.

(72) MUYLKENS B., THIRY J., KIRTEN P., SCHYNTS F., THIRY E.

Bovine Herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis.

Veterinary Research, 2007, **38**, 181-209.

(73) NAKAMICHI K., MATSUMOTO Y., OTSUKA H.

Bovine herpesvirus 1 glycoprotein G is necessary for maintaining cell-to-cell junctional adherence among infected cells.

Virology, 2002, **294** (1), 22-30

(74) NARITA M., INUI S., NAMBA K., SHIMIZU Y.

Neural changes in recurrent infection of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves treated with dexamethasone.

American Journal of Veterinary Research, 1978, **39** (9), 1399-1403.

(75) POPESKO P.

Atlas d'anatomie topographique des animaux domestiques. Volume 1. Tête et cou.

Paris : Maloine, 1980. 211 p.

(76) PRITCHARD G.C., COOK N., BANKS M.

Infectious pustular vulvovaginitis / Infectious pustular balanoposthitis in cattle.

Veterinary Record, 1997, **140**, 587.

(77) REPIQUET D.

La certification de la santé animale en élevage. Une démarche partenariale.

Bulletin des GTV, 1997, **4**, 53-58.

(78) RENTIER B., SADZOT-DELVAUX C.

Les virus de la varicelle et du zona dans le système nerveux : retraite silencieuse ou guérilla permanente ?

Virologie, 2000, **4** (3), 207-216.

(79) ROCK D., LOKENSGARD J., LEWIS T., KUTISH G.

Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent Bovine Herpesvirus 1. *Journal of Virology*, 1992, **66** (4), 2484-2490.

(80) ROELS S., CHARLIER G., LETELLIER C., MEYER G., SCHYNTS F., KERKHOFS P.

Natural case of bovine herpesvirus 1 meningoencephalitis in an adult cow.

Veterinary Record, 2000, **146**, 586-588.

(81) ROS C., BELAK S.

Characterization of the glycoprotein B gene from ruminant alphaherpesviruses.

Virus Genes, 2002, **24** (2), 99-105.

(82) ROS C., BELAK S.

Studies of genetic relationships between bovine, caprine, cervine, and rangiferine alphaherpesviruses and improved molecular methods for virus detection and identification.

Journal of Clinical Microbiology, 1999, **37** (5), 1247–1253.

(83) SCHANG L.M., HOSSAIN A., JONES C.

The Latency-Related gene of Bovine Herpesvirus 1 encodes a product which inhibits cell cycle progression.

Journal of Virology, 1996, **70** (6), 3807–3814.

(84) SCHANG L.M., JONES C.

Analysis of Bovine Herpesvirus 1 transcripts during a primary infection of trigeminal ganglia of cattle.

Journal of Virology, 1997, **71** (9), 6786–6795.

(85) SCHRODER C., KEIL G.M.

Bovine herpesvirus 1 requires glycoprotein H for infectivity and direct spreading and glycoproteins gHW450 and gB for glycoprotein D-independent cell-to-cell spread.

Journal of General Virology, 1999, **80**, 57–61.

(86) SIX A., BANKS M., ENGELS M., BASCUNANA C.R., ACKERMANN M.

Latency and reactivation of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) in goats and of caprine herpesvirus 1 (CapHV-1) in calves.

Archives of Virology, 2001, **146** (7), 1325-1335.

(87) SMITH K.C.

Herpesviral abortion in domestic animals.

Veterinary Journal, 1997, **153** (3), 253-268.

(88) SMITH P.C., NUSBAUM K.E., KWAPIEN R.P., STRINGFELLOW D.A., DRIGGERS K.

Necrotic oophoritis in heifers vaccinated intravenously with infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine during oestrus.

American Journal of Veterinary Research, 1990, **51**, 969-972.

(89) *The biology of Bovine Herpes Virus 1*, Australian Government, Department of Health and Ageing, Office of the Gene Technology Regulator, August 2005.

www.ogtr.gov.au/rtf/ir/biologybovineherpesvirus.rtf (page consultée le 31/01/07).

(90) THIRY J., KEUSER V., MUYLKENS B., MEURENS F., GOGEV S., VANDERPLASSCHEN A., THIRY E.

Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1.

Veterinary Research, 2006, **37**, 169-190.

(91) THIRY E., SALIKI J., BUBLLOT M., PASTORET P.P.

Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transport.

Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 1987, **10** (1), 59-63.

(92) THIRY E., SALIKI J., SCHWERS A., PASTORET P.P.

Parturition as a stimulus of IBR virus reactivation.

Veterinary Record, 1985, **116** (22), 599-600.

(93) THIRY E., LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., DISPAS M., GOGEV S.

Les conséquences de l'infection des bovins par le virus de l'IBR.

Le Point vétérinaire, 1999, **199** (30), 19-26.

(94) THIRY E., LEMAIRE M., SCHYNTS F., VANDERHEIJDEN N., MEYER G., DISPAS M., PASTORET P.P.

La Rhinotrachéite Infectieuse Bovine : caractéristiques du virus, l'infection et ses manifestations cliniques.

Bulletin des GTV, 1997, **4**, 7-16.

(95) THIRY E., LEMAIRE M.

Infection de ruminants par des herpèsvirus hétérologues.

Le Point Vétérinaire, 2001, **32** (217), 20-25.

(96) TOMA B., DUFOUR B., SANAA M., BENET J.J., SHAW A., MOUTOU F., LOUZA A.

La valeur des tests de dépistage.

In: TOMA B., DUFOUR B., SANAA M., BENET J.J., SHAW A., MOUTOU F., LOUZA A. Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures.

Paris : AEEMA, 2003, 49-59.

(97) TOMISHIMA M.J., ENQUIST L.W.

In vivo egress of an Alphaherpesvirus from axons.

Journal of Virology, 2002, **76** (16), 8310–8317.

(98) TURIN L., RUSSO S.

BHV1 infection in Cattle: an update.

Veterinary Bulletin, 2003, **73** (8).

(99) UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE. (Page consultée le 7 mai 2007).

Site de l'Université Pierre et Marie Curie [En ligne].

Adresse URL : www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/dosages/D3.html

(100) UNIVERSITE DE LIMOGES. (Page consultée le 20 juillet 2007).

Adresse URL [en ligne] :

<http://www.unilim.fr/theses/2003/sciences/2003limo0017/images/image004.jpg>.

(101) VAN DER MAATEN M.J.

Ovarian lesions induced in heifers by intravenous inoculation with modified-live infectious bovine rhinotracheitis virus on the day after breeding.

American Journal of Veterinary Research, 1985, **46**, 1996-1999.

(102) VAN DER MAATEN M.J.

Ovarian lesions in heifers exposed to infectious bovine rhinotracheitis virus by non-genital routes on the day after breeding.

Veterinary Microbiology, 1984, **10**, 155-163.

(103) VAN ENGELENBURG F.A.C., MAES R.K., VAN OIRSCHOT J.T., RIJSEWIJK F.A.M.

Development of a rapid and sensitive Polymerase Chain Reaction assay for detection of Bovine Herpesvirus Type 1 in bovine semen.

Journal of Clinical Microbiology, 1993, **31** (12), 3129-3135.

(104) VAN ENGELENBURG F.A.C., VAN SCHIE F.W., RIJSEWIJK F.A.M., VAN OIRSCHOT J.T.

Excretion of Bovine Herpesvirus 1 in semen is detected much longer by PCR than by virus isolation.

Journal of Clinical Microbiology, 1995, **33** (2), 308-312.

(105) VAN OIRSCHOT J.T.

Bovine Herpesvirus 1 in the semen of bulls and the risk of transmission: a brief review.

The Veterinary Quarterly, 1995, **17** (1), 29-33.

(106) VAN OIRSCHOT J.T.

Social isolation may influence responsiveness to infection with BHV1 in veal calves.
Veterinary Microbiology, 2000, **75**, 135-143.

(107) VAN OIRSCHOT J.T., KAASHOEK M.J., RIJSEWIJK F.A.M.

Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines.
Veterinary Microbiology, 1996, **53**, 43-54.

(108) VAN SCHAIK G., SCHUKKEN Y.H., NIELEN M., DIJKHUIZEN A.A.,
BENEDICTUS G.

Risk factors for introduction of BHV1 into BHV1-free dutch dairy farms: a case-control study.

The Veterinary Quarterly, 2001, **23** (2), 71-76.

(109) VERY P., BLONDET M., GUILLOUX P., BATUT V., MASCARON L.

Evaluation comparée d'un test sérologique ELISA IBR (BHV1) gE et d'un test sérologique ELISA IBR (BHV1) gB à partir de sérums d'un essai terrain.

Bulletin des GTV, 1997, **4**, 45-48.

(110) WANG P., HURLEY D.J., BRAUN L.J., CHASE C.C.

Detection of bovine herpesvirus-1 in peripheral blood mononuclear cells eight months postinfection.

Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2001, **13** (5), 424-427.

(111) WANG C., SPLITTER G.A.

CD4+ Cytotoxic T-Lymphocyte Activity against Macrophages Pulsed with Bovine Herpesvirus 1 Polypeptides.

Journal of Virology, 1998, **72** (9), 7040-7047.

(112) WELLEMANN G., VANOPDENBOSCH E., OUDEWATER J.

Isolement d'un virus BHV1 dans le sperme de deux taureaux séropositifs.

Annales de Médecine Vétérinaire, 1993, **137**, 119-120.

(113) WELLENBERG G.J., MARS M.H., VAN OIRSCHOT J.T.

Antibodies against BHV5 may be differentiated from antibodies against BHV1 in a BHV1 gE blocking ELISA.

Veterinary Microbiology, 2001, **78** (1), 79-84.

(114) WELLENBERG G.J., VAN DER POEL W.H.M., VAN OIRSCHOT J.T.

Viral infections and bovine mastitis: a review.

Veterinary Microbiology, 2002, **88**, 27-45.

(115) WELLENBERG G.J., VERSTRATEN E.R.A.M., MARS M.H., VAN OIRSCHOT J.T.

Detection of Bovine Herpesvirus 1 glycoprotein E antibodies in individual milk samples by Enzyme-Linked Immunosorbent Assays.

Journal of Clinical Microbiology, 1998, **36** (2), 409–413.

(116) WINKLER M.T.C., DOSTER A., JONES C.

Persistence and reactivation of Bovine Herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves.

Journal of Virology, 2000, **74** (11), 5337–5346.

(117) WINKLER M. T. C., DOSTER A., JONES C.

Bovine Herpesvirus 1 Can Infect CD41 T Lymphocytes and Induce Programmed Cell Death during Acute Infection of Cattle.

Journal of Virology, 1999, **73** (10), 8657-8668.

(118) WINKLER M.T.C., DOSTER A., SUR J.H., JONES C.

Analysis of bovine trigeminal ganglia following infection with bovine herpesvirus 1.

Veterinary Microbiology, 2002, **86** (1-2), 139-155.

(119) WINKLER M.T., SCHANG L.S., DOSTER A., HOLT T., JONES C.

Analysis of cyclins in trigeminal ganglia of calves infected with bovine herpesvirus-1.

Journal of General Virology, 2000, **81**, 2993–2998.

(120) XIA J.Q., LOFSTEDT R.M., YASON C.V., KIBENGE F.S.

Detection of bovine herpesvirus 1 in the semen of experimentally infected bulls by dot-blot hybridisation, polymerase chain reaction and virus isolation.

Research in Veterinary Science, 1995, **59** (2), 183-185.

7. Textes Réglementaires

(X-1) Note de service du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, DGAL/SDSPA/N2006-8243, en date du 10 octobre 2006.

ACERSA – Missions des services vétérinaires départementaux.

Bulletin Officiel n°**41** du 13/10/2006.

(X-2) Arrêté du 27 novembre 2006 fixant les mesures de prophylaxie collective de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR).

Journal Officiel n°**293** du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche en date du 19 décembre 2006, texte n°16, p. 19113.

(X-3) Note de service du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, DGAL/SDSPA/N2007-8037, en date du 31/01/2007.

Généralisation de la prophylaxie IBR.

Bulletin Officiel n°**5** du 02/02/2007.

Toulouse, 2007

NOM : GARDEUX

Prénom : Fanny

TITRE : Recherche du virus BHV1 dans les ganglions trijumeaux des bovins dans le cadre de la gestion nationale de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR).

RESUME : La Rhinotrachéite Infectieuse Bovine, bien qu'ayant peu d'impact clinique actuellement, a une importance économique majeure. La volonté des états européens d'éradiquer cette maladie se traduit par la mise en place de plans de lutte spécifiques dans chaque pays. En France, l'ACERSA est chargée du contrôle de l'IBR dans les cheptels. Les techniques de diagnostic sérologique présentent un certain nombre de limites. Il est parfois nécessaire de rechercher directement la présence de l'agent viral chez l'animal. BHV1 établit sa latence dans les ganglions trijumeaux des bovins. Il est possible de prélever ces ganglions d'après une méthode que nous avons mise au point et que nous décrivons ici. Plusieurs analyses virologiques de ces ganglions ont été réalisées en France et l'étude de leurs résultats permet de souligner l'intérêt de cette technique dans le plan de lutte visant à éradiquer l'IBR.

MOTS-CLES : BHV-1 – IBR - Ganglions trijumeaux - Bovins – Plan de lutte

ENGLISH TITLE : Research of BHV1 virus in trigeminal ganglia of cattle for the national plan of Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) eradication.

ABSTRACT : The Infectious Bovine Rhinotracheitis, even if it doesn't have an important clinical impact now, has a major economical importance. European states want to eradicate this pathology, which is traduced by a specific plan of action in each country. In France, ACERSA is responsible of the IBR control in the herds. Serological diagnostic techniques are limited. It's sometimes necessary to look directly for the virus in the animal. BHV1 virus installs is latency in the trigeminal ganglia of cattle. We can take these ganglia, following a method that we have developed and described here. Some virological analysis of these ganglia have been realized in France and study of their results shows this technique's interest in the national plan to eradicate IBR.

KEYWORDS : BHV-1 – IBR – Trigeminal ganglia – Cattle – Plan of action