



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

ETUDE DE LA SEROPREVALANCE ET DES
REACTIONS IMMUNITAIRES DE LA
RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE

Présenté par :

GUELLAB Imene

AMMAM Ahlam

Devant le jury :

Président(e) : KALAM A.

Grade : Maitre-assistant A

Examineur : SAIDANI KH.

Grade : Maitre de conférences B

Promoteur : KADDOUR A.

Grade : Maitre-assistant A

Année scolaire : 2016/2017

Remerciement

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant **ALLAH** qui nous aide et nous donne la santé, la patience et le courage durant ces longues années d'études.

Nos sincères gratitudees à notre encadrant monsieur *Kaddour Youcef* qui nous a permis de bénéficier de son encadrement.

Les conseils qu'il nous a prodigué, sa clairvoyance, la confiance qu'il nous a témoigné ont été déterminant dans la réalisation de notre travail de recherche.

Nous tenons à remercier sincèrement les membres de jury qui nous font le grand honneur d'évaluer ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'administration et les professeurs de l'Institut de Science Vétérinaire de Blida qui nous ont enseigné et qui par leur compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos profondes reconnaissances vont à tous ceux et celles, qui d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite et à l'exécution de ce modeste travail.

Nous n'oserons oublier de remercier tout le corps professoral de l'Institut de Science Vétérinaire de Blida, pour les efforts énormes qu'il effectue pour nous crée les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

Enfin, nos remerciements à tous les étudiants de la promotion 2016-2017.

Dédicace

DEDICACE

Le jour dont vous et moi rêvions est enfin arrivé

✿ Je dédie cette thèse à ... ✍

A MON TRÈS CHER PÈRE

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Je te dédie ce modeste travail pour tes encouragements, ta présence, tu étais ma motivation et mon idole. Merci d'être papa.

Qu'ALLAH le plus puissant te préserve, t'accorde la santé, et te protège de tout mal.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour vous, recevez ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime et je te dis que tu es la lueur d'espoir qui éclaire mon chemin, sans toi je ne serais jamais DR. GUELLEAB Imene. Merci d'être maman

Puisse le tout puissant, vous donner la santé, longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A MON TRÈS CHER ET UNIQUE FRÈRE AYMEN

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'amour et l'affection que je porte pour toi... Mon fidèle accompagnant dans tous les moments.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A MES TRÈS CHÈRES SŒURS JUMELLES NESRINE ET SIRINE

Présentaient dans tous mes moments d'examens par leur soutien moral et ses belles surprises sucrées.

A TOUS LES MEMBRES DE LA FAMILLES GUELLEAB PETITS ET GRANDS

Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

A LA MÉMOIRE DE MA GRAND-MÈRE PATERNEL

Qui a été toujours dans mon esprit et mon cœur, je te dédie aujourd'hui ma réussite. Qu'ALLAH, t'accueille dans son vaste paradis.

A MON CHER AMI MOHAMED

Merci pour ton soutien

A MES TRÈS CHÈRE AMIE ET SŒURS

Ahlem, Nabila, Zahra, Nassima, Soumia, Wafa, Hayat, Hala, Rima, Sara, Fethia, Safia, Houda, Hafsa, Randa, Asma, Hadjer, Hala, Sabrine, Ilhem, Kheira, Sihem, Assia, Yasmine, Zola.

IMÈNE

DEDICACE

✿ *Je dédie cette thèse à ...* ✍

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable, Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A mon très cher père

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes chères sœurs Amina, Achwak, Ibtihel

Je vous aime si fort

A ma très chère sœur Fatma et Son époux Abd el Kader

A mes chers frères

Houssem, Nor el dine

Que Dieu vous gardez pour nous

A mon très cher frère

Yucef et son épouse Khadidja

A mon très cher oncle

Abd el Kader et son épouse Tata zahra

A toute la famille AMMAM

A ma très chère binome et sœur Imene

A mes très chère amies et sœurs

Nabila, Zahra, Soumia, Nassima, Hayat, Sarah, Safia, hafssa, fethia, Ahlem, Souad

A mon très cher ami Kamel

AHLAM

Résumé

Résumé :

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est une maladie infectieuse extrêmement contagieuse causée par l'herpesvirus de type 1, ce virus provoque des effets néfastes chez les troupeaux de bovins à travers le monde, et donc des pertes économiques

Notre étude réside dans le but de la recherche de BHV-1 dans les cheptels bovins Algérien, pour cela, une enquête dans les wilayas de Tizi ouzou, Bouira, Boumerdes, Bordj bouarreridj tout on étudiant plusieurs facteurs de risque (Type de production et d'élevage, l'âge et le sexe des animaux)

1067 prélèvements étaient réalisés parmi lesquelles 251 étaient positifs par l'utilisation de la technique d'ELISA, ainsi que la technique de la culture cellulaire a démontré que le virus qui déroule au sein des troupeaux est très actif et virulent.

Mots clés : La rhinotrachéite infectieuse bovine – Herpesvirus – Pertes économiques – ELISA – Culture cellulaire.

Abstract :

Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) is a highly contagious infectious disease caused by type 1 herpesvirus, causing harmful effects in cattle herds around the world, leading to economic losses.

Our study resulted in the research of BHV-1 in Algerian cattle herds, a survey in the wilayas of Tizi ousou, Bouira, Boumerdes, Bordj bouarreridj while studying several risk factors (Type of production and Breeding, age and sex of the animals).

1067 examples were taken, of which 251 were positive using the ELISA technique, and the cell culture technique demonstrated that the virus which unfolds within the herds is very active and virulent.

:

التهاب الأنف الرغامي - هو - شديد العدوى - فيروس الهربس نوع 1 هذا الفيروس يسبب آثار معاكسة في قطعان الأبقار في جميع أنحاء العالم، بالتالي خسائر اقتصادية. - - - هو البحث - الفيروس - الجزائرية، لهذا قمنا ببحوث على - لاية تيزي البويرة، بومرداس، برج بوعريريج حيث تمت دراسة - - (نوع - والتربية، - الحيوانات). - - 1067 عينة من بينهم 251 عينة - ايجابية - تقنية اليزا، كما تقنية الخلايا - الفيروس - يوجد على مستوى قطيع الأبقار نشيط جدا خطير.

Les tableaux

Liste des tableaux

| | Titre des tableaux | Page |
|---------------------|---|-------------|
| Tableau 01 : | Sous-famille des <i>betaherpesvirinae</i> | 2 |
| Tableau 02 : | Sous-famille des <i>gammaherpesvirine</i> | 3 |
| Tableau 03 : | Sous-famille des <i>alphaherpesvirinae</i> | 4 |
| Tableau 04 : | Capacité d'infection des bovins par des alphaherpesvirus autre que BHV-1 | 4 |
| Tableau 05 : | Les sous-types du BHV-1 | 5 |
| Tableau 06 : | classification et fonction des glycoprotéines BHV-1 | 12 |
| Tableau 07 : | Avantages et inconvénients des vaccins inactivés et atténués utilisés contre l'IBR | 26 |
| Tableau 08 : | Objectifs de la vaccination selon le statut sérologique de l'animal | 28 |
| Tableau 09 : | Protocole de vaccinations répétées appliqué dans le cadre d'un plan de lutte contre l'IBR | 29 |
| Tableau 10 : | Nombre des animaux et d'élevages atteints par wilaya | 32 |
| Tableau 11 : | La fréquence des élevages atteints selon le type de production | 32 |
| Tableau 12 : | La fréquence des élevages atteints selon le type d'élevage..... | 32 |
| Tableau 13 : | La fréquence des élevages atteints selon l'état d'hygiène | 33 |
| Tableau 14 : | La fréquence des élevages atteints selon les animaux introduits et non introduits | 33 |
| Tableau 15 : | La fréquence des animax atteints selon l'âge des animaux..... | 33 |
| Tableau 16 : | La fréquence des animaux atteints selon le sexe | 33 |

Les figures

Liste des figures

| | Titre des figures | Pages |
|--------------------|---|-------|
| Figure 01 : | Structure de virus BHV1 | 7 |
| Figure 02 : | Représentation schématique du génome du BHV-1 | 8 |
| Figure 03 : | Cycle de réplication des alphaherpesvirus | 10 |
| Figure 04 : | Les étapes de l'infection par l'IBR sur un bovin..... | 15 |
| Figure 05 : | Réponse immunitaire à l'infection par le BHV-1..... | 18 |
| Figure 06 : | Nombre des animaux et d'élevages atteints par wilaya | 34 |
| Figure 07 : | La fréquence des élevages atteints selon le type de production..... | 34 |
| Figure 08 : | La fréquence des élevages atteints selon le type d'élevage..... | 35 |
| Figure 09 : | La fréquence des élevages atteints selon l'état d'hygiène | 35 |
| Figure 10 : | La fréquence des élevages atteints selon les animaux introduit et non introduit | 36 |
| Figure 11 : | La fréquence des animaux atteints selon l'âge des animaux..... | 36 |
| Figure 12 : | La fréquence des animaux atteints selon le sexe | 37 |

Les abréviations

La liste des abréviations

IBR : Rhinotrachéite infectieuse bovine

IPV : Vulvo vaginite pustuleuse infectieuse

BHV-4 : Herpes virus de type 4

BLHV : Herpes virus lymphotrope bovine

CapHV-2 : Herpes virus caprin 2

OVHV-2 : Herpes virus ovin 2

ALCHV-3 : Herpes virus des alcéphalines

BHV-1 : Herpes virus bovine de type 1

BHV-2 : Herpes virus bovine de type 2

BHV-5 : Herpes virus bovine de type 5

SHV-1 : Virus de la maladie d'aujesky

CerHV-1 : Herpes virus du cerf

RanHV-1 : Herpes virus de renne

BPI : Balanopostite pustuleuse infectieuse

PNN: Poly nucléaire Neutrophiles

NK: Natural killers

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

PCR: Polymerase Chain Reaction

Sommaire

Sommaire

Page

❖ Partie bibliographique

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION | 1 |
| ➤ CHAPITRE 1 : HERPESVIRUS ET ALPHAHERPESVIRUS APPARENTES | |
| I. Classification | 2 |
| I.1. Famille des herpesviridae | 2 |
| II. Historique | 5 |
| II.1. HERPESVIRUS BOVIN TYPE 1 (BHV-1) | 5 |
| II.2. HERPESVIRUS BOVIN TYPE 5 (BHV-5) | 6 |
| III. Structure de virion | 6 |
| IV. Génome | 7 |
| IV.1. Organisation génomique | 7 |
| IV.2 Séquençage | 8 |
| V. Cycle de multiplication virale | 8 |
| V.1. Adsorption | 8 |
| V.2. Pénétration dans la cellule hôte | 9 |
| V.3. Transcription et réplication de l'ADN | 9 |
| V.3.1. La décapsidation | 9 |
| V.3.2. La synthèse des protéines | 9 |
| V.3.3. Réplication de l'ADN et encapsidation | 9 |
| V.3.4. Maturation | 10 |
| V.3.5. Libération du virus | 10 |
| VI. Glycoprotéines virale | 13 |
| VII. Pathogénie | 13 |
| VII.1. Primo-infection | 13 |
| VII.1.1 Pénétration dans l'organisme | 13 |
| VII.1.2. Dissémination dans l'organisme | 13 |
| VII.1.2.1. Virémie | 13 |
| VII.1.2.2. Voie neuronale | 14 |
| VII.1.2.3. Transmission de cellule à cellule | 14 |
| VII.1.3. Manifestation clinique | 14 |
| VII.1.3.1. L'infection par le BHV-1 | 14 |
| A. La forme IBR : Rhino trachéite infectieuse bovin | 14 |
| B. La forme IPV : vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse, balanoposthite | 15 |
| VII.1.3.2. La méningo-encéphalite à BHV-5 | 16 |
| VII.2. Latence | 17 |
| VII.3. Réactivation et ré-excrétion virale | 17 |
| VIII. Réponse immunitaire de l'hôte | 17 |
| VIII.1. Réponse immunitaire non-spécifique | 18 |
| VIII.1.1. Interféron et cytokines | 18 |
| VIII.1.2. Polynucléaires neutrophiles | 19 |
| VIII.1.3. Macrophages | 19 |

| | |
|---|----|
| VIII.1.4. Cellules Natural Killer (NK) | 19 |
| VIII.2. Réponse immunitaire spécifique | 20 |
| VIII.2.1. Réponse immunitaire spécifique de type cellulaire | 20 |
| VIII.2.2. Réponse immunitaire spécifique de type humorale | 20 |

➤ **CHAPITRE 2 : LE CONTROLE DE L'IBR**

| | |
|--|----|
| I. Diagnostic de l'IBR | 22 |
| I.1. Diagnostic clinique et différentiel | 22 |
| I.2. Diagnostic direct | 22 |
| I.2.1. Réalisation des prélèvements | 22 |
| I.2.1.1. Sur un animal vivant | 22 |
| I.2.1.2. Sur un animal mort | 23 |
| I.2.2. Technique | 23 |
| I.2.2.1. Recherche des antigènes viraux | 23 |
| I.2.2.2. Isolement viral sur cultures cellulaires | 23 |
| I.2.2.3. PCR | 24 |
| I.3. Diagnostic indirect | 24 |
| I.3.1. Réalisation des prélèvements | 24 |
| I.3.2. Techniques | 24 |
| I.3.2.1. Le test de séroneutralisation | 24 |
| I.3.2.2. Les tests ELISA | 25 |
| I.3.2.3. Les autres tests | 25 |
| I.4. Comparaison des performances des tests sérologiques | 26 |
| I.4.1. Sensibilité | 26 |
| I.4.2. Spécificité | 26 |
| II. Vaccination | 26 |
| II.1. Les différents types de vaccins disponibles | 26 |
| II.1.1. Les vaccins conventionnels | 26 |
| II.1.2. Les vaccins marqués | 27 |
| II.1.3. Les vaccins de troisième génération | 28 |
| II.1.3.1. Les vaccins sous unitaires | 28 |
| II.1.3.2. Les vaccins recombinants | 28 |
| II.1.3.3. Le transfert de gène in vivo | 29 |
| II.2. Le protocole de vaccination | 29 |
| II.2.1. Protocole classique | 29 |
| II.2.2. Protocole de vaccination répété | 30 |

❖ **LA PARTIE EXPERIMENTALE**

| | |
|---|----|
| 1) Introduction | 32 |
| I. OBJECTIF | 32 |
| II. Matériels et méthodes | 32 |
| 2-1) Matériels | 32 |
| 2-2) Méthodes | 32 |
| A. Recensement de cheptels rencontrant des problèmes d'avortement | 32 |

| | |
|--|----|
| B. Réalisation des prélèvements sanguins | 32 |
| C. Analyse des prélèvements (LRV DBK et Anses Sophia-A) de 02 avril à ce jour | 33 |
| 2) Analyse des résultats | 34 |
| 3) Présentation des résultats | 36 |
| 4) Discussion | 40 |
| 5) Conclusion | 43 |

Etude bibliographique

Introduction

**CHAPITRE 1 : HERPESVIRUS
TYPE 1 ET ALPHAVIRUS
APPRENTES**

CHAPITRE2 : LE CONTROLE DE L'IBR

Introduction :

Le monde de l'élevage est compliqué et plusieurs critères doivent être pris en considération pour bien réussir. Tous les éleveurs désirent avoir un bon élevage, rentable et exempt de maladies. Mais malheureusement de nombreux virus peuvent provoquer des préjudices au sein d'un élevage qu'il ne faut jamais les prendre à la légère. En effet la Rhino trachéite Infectieuse Bovine (IBR) dont l'étiologie est le virus BHV-1 est la plus commune cause virale d'avortement chez les bovins. Outre le tropisme de la BHV-1 pour l'appareil génital responsable de la vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse, balanoposthite (IPV) il a un tropisme pour l'appareil respiratoire et cause la rhino trachéite infectieuse bovine (IBR).

Cette maladie n'est donc pas sans importance dans les élevages et doit être considérée. Il est de ce fait important de connaître davantage ce virus, ce qu'il cause et comment il est possible d'avoir le contrôle face à cet intrus qui peut causer plusieurs maux.

L'objectif de notre travail est la recherche de la séroprévalence de la vulvo-vaginite infectieuse (IPV) ou la rhino trachéite infectieuse bovine (IBR) responsable d'avortement chez des bovins dans les wilayas de Tizi ousou, Bouira, Boumerdes, Bordj Bou est de les comparer avec celles isolées jusqu'à présent sur les différents continents. Ces données permettront d'apprécier plus finement la situation épidémiologique de l'IBR dans les cheptels ciblés

Dans les pages suivantes, il sera question premièrement de la description de cette maladie, soit les caractéristiques du virus, les symptômes, les modes de transmission et le système de défense établie par les animaux face à cette infection. Ensuite, les conséquences qu'elle occasionne et principalement les outils diagnostiques et la prévention par la vaccination.

I. Classification :

I.1. Famille des herpesviridae :

Les herpes virus constituent une famille extrêmement riche de virus à ADN de grande taille. Leurs hôtes sont les hommes, d'autres mammifères et vertébrés et, dans un cas décrit, un invertébré). La famille *Herpesviridae* été divisée en trois sous familles, les *Alpha-*, *Beta-* et *Gammaherpesvirinaes*. Cette division reposait initialement sur les seules propriétés biologiques des espèces. Elle est maintenant confirmée par des analyses phylogéniques (1).

La sous famille des *betaherpesvirinae* est constitué des genres *Cytomégalo**virus*, *Muromegalovirus*, *Roseolovirus*. Elle a très peu d'importance en médecine vétérinaire, ils ont une étroite spécificité d'hôte (2). Aucune espèce de ruminants n'est affectée par les représentants de cette sous-famille (3).

Tableau 1 : Sous-famille des *betaherpesvirinae* (4).

| Genre | Virus de l'homme | Virus des animaux |
|--------------------------------|--|--|
| <i>Cytomégalo</i> <i>virus</i> | Human cytomegalovirus | Porcine cytomegalovirus Cercopithecine herpesvirus 5 et 8 |
| <i>Muromegalovirus</i> | | Murid herpesvirus 1 Guinea pig cytomegalovirus |
| <i>Roseolovirus</i> | Human herpesvirus 6 Human herpesvirus 7 | |

La sous famille des *gammaherpesvirinaes* contient le genre *lymphocryptovirus* dont les cibles sont des poissons d'eau douce et d'eau salé et le genre *Rhadinovirus* ayant pour cibles des signes dont les ouistitis (5). Et chez les ruminants est représenté par l'herpesvirus bovin type 4 (BHV-4) et les virus impliqués dans les différentes formes de coryza gangréneux (6).

Tableau 2 : Sous-famille des *gammaherpesvirinaes* (7).

| Nom de virus | Espèce sensibles | Maladie |
|---|--|--|
| Herpes virus de type 4 (BHV-4) : le virus de type Movar | Bovins, accessoirement d'autres ruminants | Vulvo-vaginite, métrite post partum, avortement, infections subclinique |
| Herpes virus lymphotrope bovin (BLHV) | Bovins | Isolé de cellules lymphomes |
| Herpes virus caprin 2 (CapHV-2) | Chèvre | Infection subclinique |
| Herpes virus ovin de type 2 (OvHV-2) | Ovins, bovins, cervidés | Coryza gangreneux, forme européenne |
| Herpes virus des alcéphalines (AlcHV-1) | Gnou bleu (<i>Connochaetes taurinus</i>), bovins | Coryza gangreneux, forme africaines |
| Herpes virus des alcéphalines (AlcHV-2) herpesvirus bovin de type 1 | Bubale (<i>Alcephalus buselaphus</i>), bovins | Infection subclinique chez le bubale, coryza gangreneux atypique, infection non natale chez bovins |
| Herpes virus des alcéphalines (AlcHV-3) | Antilope topi | Infection subclinique chez l'antilope lopi, coryza gangreneux atypique, infection non natale chez bovins |
| Herpes virus des hippotraginés | Antilope chevaline (<i>Hippotragus equinus</i>) | Infection subclinique |
| Herpes virus de cerf de virginie | Cerf de virginie (<i>Odocoileus virginianus</i>) | |

Dans la sous-famille des *alphaherpesvirinae* 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 (2).

Tableau 3 : Sous-famille des *alphaherpesvirinae* (6).

| Nom de virus | Espèces sensibles | Maladie |
|---------------------------------------|---|--|
| Herpesvirus bovin type 1 (BHV-1) | Bovin, ovin, (caprin) | Rhino trachéite infectieuse bovine |
| Herpesvirus bovin type 2 (BHV-2) | Bovin, autre ruminant africain | Maladie d'Alertons, chéilite infectieuse bovine |
| Herpesvirus bovin type 5 (BHV-5) | Bovins | Encéphalite bovine |
| Virus de la maladie d'Aujesky (SHV-1) | Porc, accessoirement ruminants, carnivores | Encéphalite mortelle |
| Herpesvirus de cerf (CerHV-1) | Cerf élaphe (<i>cervus elaphus</i>) | Maladie oculaire |
| Herpesvirus de renne (RanHV-1) | Renne (<i>Rangifer tarandus</i>), (bovin) | Infection génital subclinique |
| Herpesvirus caprin (CapHV-1) | Caprins (Ovin, bovins) | Vulvo-vaginite néonatale mortelle |
| Herpesvirus de buffle | Buffle d'Asie (<i>Bubalus bubalis</i>) | Infection subclinique |
| Herpesvirus ovin type 1 (OvHV-1) | Ovin | Adénomatose pulmonaire ovine (agent causal primitif est un rétrovirus) |

Tous les alphaherpesvirus touchant les ruminants sont capable d'infection, d'excrétion, d'incubation, d'une réponse sérologique, de latence et de réactivation avec un ré excrétion dans leur espèce cible. Mais quand ces virus infectent une autre espèce des ruminants, tout est possible. Tout dépend du virus et de l'espèce touchée (7).

Le tableau 4 récapitule les capacités d'infection des différents virus en fonction de l'espèce touchée (7).

Tableau 4 : capacité d'infection des bovins par des alphaherpesvirus autre que BHV-1 (7).

| Virus | Infection primaire | Excrétion virale | Réponse sérologique | Latence | Réactivation Ré excrétion |
|---------|--------------------|------------------|---------------------|---------|---------------------------|
| BHV-5 | + | + | + | + | + |
| CapHV-1 | + | + | + | + | - |
| CvHV-1 | - | - | - | - | - |

II. Historique :

II.1. HERPESVIRUS BOVIN TYPE 1 (BHV-1):

C'est en 1889 que Lucet, en France, décrivait pour la première fois la forme génital ou vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse (IPV).

- En 1928, Kendrick <redécouvrit> l'IPV aux États-Unis
- La forme respiratoire fut mise en évidence aux États-Unis dès 1954 par Schroder et Coll., au sein d'élevages intensifs du Colorado.
- En 1955, Miller définit l'IBR. En 1956, Nadin isole le virus qui en est l'agent et met en évidence son unicité avec celui de l'IPV.
- En 1961, Amstrong classe ce virus responsable de l'IBR-IPV comme appartenant à la famille des Herpesviridae (8).

L'herpesvirus Bovin de type 1 (BHV-1) est à l'origine de 3 maladies : La Rhino trachéite Infectieuse Bovine (RIB), la Vulvo-vaginite Pustulaire Infectieuse (VPI) chez la femelle et la Balanopostite Pustulaire Infectieuse (BPI) chez le male (9).

Il existe deux sous-types de BHV-1. Théoriquement les deux types ont un tropisme génital et respiratoire mais, in vivo, le BHV1-1 est principalement impliqué dans la forme respiratoire (8), Le BHV1-2 est responsable de la forme clinique génitale (vulvo-vaginite infectieuse pustuleuse (IPV), balanopostite infectieuse pustuleuse (IPB), et est lui-même divisé en sous type BHV1-2a et BHV1-2b, ce dernier ne présente pas la capacité de provoquer des avortements (2).

Dans un sous-type ils existent plusieurs souches. Elle varie par leur tropisme, leur virulence ou leurs répartitions géographiques, elles sont utilisées soit pour faire des sérums de références pour les tests diagnostiques ou pour faire des vaccins. Certaines parentés de souche ont démontré dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Les sous-types du BHV-1 (8).

| BHV-1 | Tropisme dominant | Parenté de souche | Prédominance |
|------------|-------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Sous-type1 | Respiratoire | Souche de référence de COOPER | Présent depuis 1972 |
| Sous-type2 | Génital | Souche de référence de K22 | Rencontré depuis les années 60 |

Les hôtes naturels sont les bovins. BHV-1 a une spécificité étroite. Les espèces susceptibles, chez lesquelles le BHV-1 (qui est soit isolé, soit des anticorps spécifique) est capable d'établir une infection latente, sont les bovins, les chèvres, les moutons, la sous-espèce bovidae (renne, cerf) (9).

Les épidémies se présentent souvent chez les animaux entre 6 et 18 mois d'âge, mais les bovins de tout âge sont susceptibles. Les veaux sont souvent protégés par les anticorps maternels jusqu'à l'âge de 3-4 mois et donc il est rare d'observer une infection avant ce moment (9)

II.2. L'HERPESVIRUS BOVIN DE TYPE 5 (BHV-5) :

Lors de plusieurs épisode d'encéphalite qui en lieu en Australie en décembre 1960. Lors de la recherche de l'agent causal par séroneutralisation et par immunofluorescence, le virus était BHV-1.

Il est donc dénommé BHV-1,3 pour le distinguer des souches respiratoires et génitales, classé respectivement BHV-1,1 et BHV-1,2.

Avec le développement des techniques de biologie moléculaires dans les années 1980 et 1990, il est apparu que ses souches encéphalitogènes étaient distinctement différentes des souches respiratoires et génitales du BHV-1.

En 1992, une nouvelle classification proposée et ses souches encéphalitogènes ont constitué une nouvelle espèce virale, le BHV-5 (7).

L'herpès virus bovin de type 5 (BHV-5) est un autre pathogène de la famille des herpesviridae qui entraîne une maladie respiratoire et neurologique chez les bovins et les ovins. Le virus est très similaire à BHV-1, peut également être à l'origine de signes neurologiques, mais BHV-5 à un neurotropisme plus élevé. Les veaux jusqu'à l'âge de 10 mois sont le plus souvent affectés. La maladie nerveuse est souvent aigue (10).

III. Structure du virion :

Il s'agit d'un virus à ADN bicentenaire enveloppé, de 150 à 200 nm de diamètre, dont l'enveloppe porte des spicules de 100 nm.

Sa nucléocapside (capside) icosaédrique est de symétrie cubique, composé de 162 capsomères répartie comme de suit : 12 capsomères pentavalent aux sommets, et 150 capsomères hexavalent. Cette dernière est entourée d'un tégument, composé de protéine.

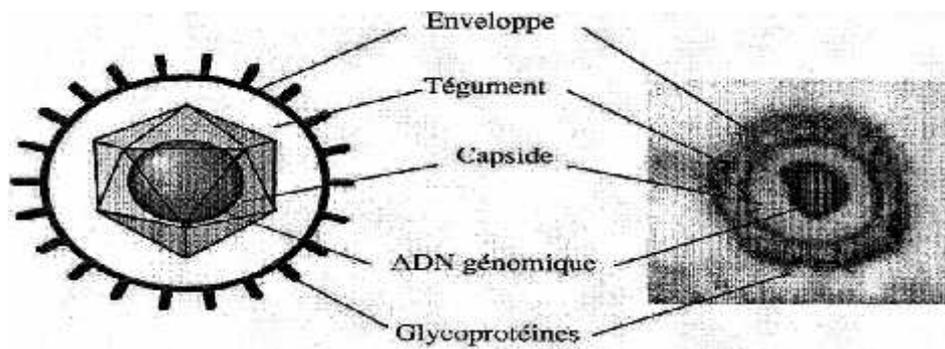


Figure 1 : Structure de virus BHV1 (30).

Le tégument est entouré par une double membrane phospholipidique porteuse de glycoprotéines dont les plus connues sont : gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL et gM intervenant dans les interactions virus-virus et virus-cellule hôte (8).

IV. Génome :

IV.1. Organisation génomique:

Le matériel génomique des herpes virus est constitué d'un double brin d'ADN linéaire qui se circularise immédiatement après sa séparation de la capside et la pénétration dans le noyau de la cellule infectée. Sa taille peut varier d'environ 120 à 230 kpb, selon l'espèce virale (11-12)...

La composition en base (G+C) varie de 31 à 75 %, cette proportion étant particulièrement élevée chez les alphaherpesvirus, le poids moléculaire de cet ADN varie entre 120 et 230 kpb (11-12).

Les génomes du BHV-1 et de tous les alphaherpesvirus qui lui sont apparentés appartiennent au groupe D. Ils sont composés d'une unité longue (UL) et d'une unité courte (Us) flanquée de deux séquences répétées inverses IR (séquences répétée interne) et TR (séquence répétée terminale) (11).



Figure 2 : Représentation schématique du génome du BHV-1 5 (30).

(U1 : unité longue ; U_s : unité courte ; IR et TR : séquences répétées terminales et internes)

IV.2. Séquençage :

Un projet de collaboration internationale a permis le séquençage complet du génome du Bhv-1, principalement à partir de la souche Cooper. Celui-ci est composé de 67 gènes uniques répartis entre l'unité courte, et 2 gènes dupliqués dans les régions IR et TR (13). Le génome BHV-1 code un grand nombre de protéines impliquées dans la synthèse de l'ADN, le métabolisme des acides nucléiques... Les gènes codant ces protéines peuvent être classés en quatre catégories (14) :

- Les gènes codants des protéines responsables de la multiplication du virus
- Les gènes codant des protéines permettant la diffusion du virus dans l'organismes hôte à partir de son lieu d'inoculations.
- Les gènes codant des protéines altérant les défenses immunitaires de l'hôte.
- Les gènes codant des protéines responsables de la pathogénicité du virus sur les cellules hôtes.
-

V. Cycle de multiplication virale :

Les herpesvirus sont capables de suivre un cycle de multiplication en fonction des conditions de l'infection : appelé le cycle lytique qui correspond à l'expression, séquentielle et ordonnée de l'ensemble des gènes viraux. Le cycle de multiplication aboutit à la formation d'une nouvelle génération de particules infectieuses et à la lyse cellulaire (15). Le cycle de réplication du BHV-1 et des virus qui lui sont apparentés est donc calqué sur ce modèle qui comprend 5 étapes (16) :

V.1. Adsorption :

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

V.2. Pénétration dans la cellule hôte :

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

V.3. Transcription et réplication de l'ADN :

V.3.1. La décapsidation :

S'effectue au niveau d'un pore nucléaire (il s'agit de l'éclipse), elle libère l'ADN viral dans le noyau, où débute la transcription des gènes viraux qui requiert la participation de l'ARN polymérase II cellulaire, sous le contrôle de facteurs viraux.

V.3.2. La synthèse des protéines :

La synthèse des protéines virales s'effectue en cascade. On distingue trois types de protéines en fonction de leur ordre d'apparition dans la cellule infectée :

- ✓ **Les protéines précoces immédiates («immediate-early», IE)** : protéines de régulation, non structurales, qui vont induire la synthèse des protéines E et L tout en exerçant un rétrocontrôle négatif sur leur propre synthèse.
- ✓ **Les protéines précoces («Early», E)** : Elles sont impliquées dans la réplication du génome viral (thymidine kinase, ADN polymérase) et dans la transactivation des gènes tardifs.
- ✓ **les protéines tardives («Late»,L)** : ce sont des protéines structurales douées d'activité biologiques (glycoprotéines) ou régulatrices.

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

V.3.3. Réplication de l'ADN et encapsidation :

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

V.3.4. Maturation :

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

V.3.5. Libération du virus :

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

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

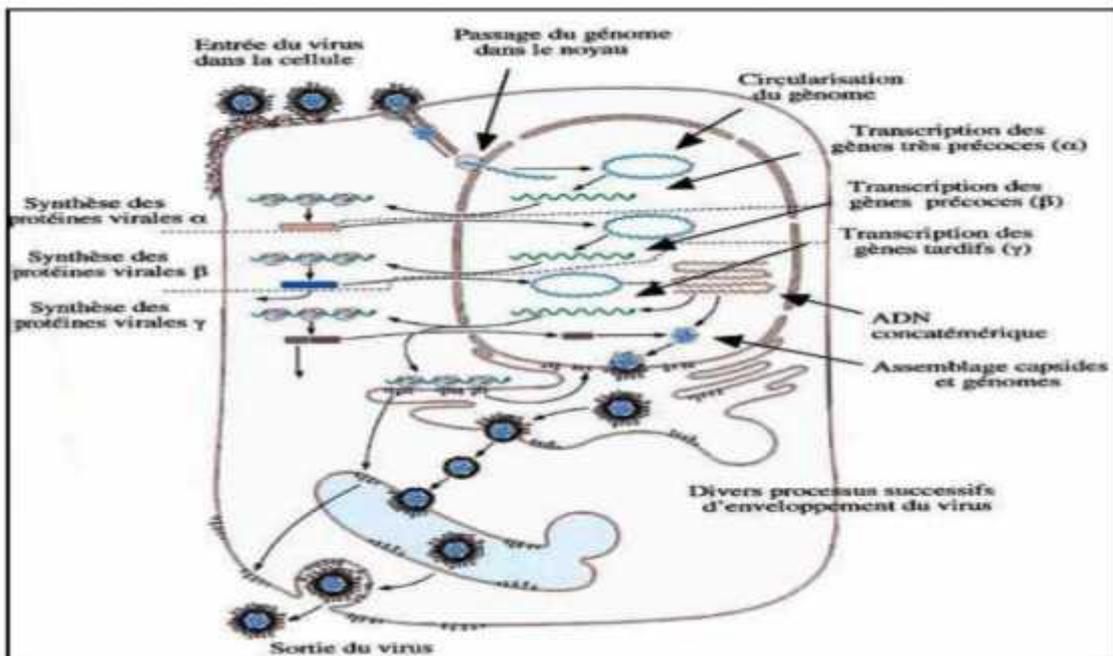


Figure 3 : Cycle de réplication des alphaherpesvirus (7).

VI. Glycoprotéines virale :

Les glycoprotéines sont responsables de différentes actions. Tout d'abord, elles ont un rôle important dans le cycle de multiplication virale :

- Initiation de l'attachement sur le récepteur cellulaire et pénétration du virus dans la cellule cible,
- Fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cytoplasmique,
- Enveloppement de la capsid virale
- Sortie du virus de la cellule,
- Passage de cellule a cellule, sans passage par le milieu extracellulaire.

Les glycoprotéines jouent également un rôle important dans la pouvoir pathogène du virus.

On dénombre 10 glycoprotéines d'enveloppe, les glycoprotéines gK, gC, gB, gH, gM, gL sont codées par des gènes localisées sur le segment UL, alors que les quatre autres, gG, gD, gI, gE, sont codées par des gènes localises sur le segment US. Certains d'entre eux semblent être indispensable à la réalisation du cycle de multiplication virales ce sont la glycoprotéine essentielle qui sont : gB gD gH gK et gL et les autres sont non essentielles.

Il y apparait que les trois glycoprotéines d'enveloppes majeures de BHV-1 sont gB, gC et gD. C'est donc sur elles que repose la majorité du pouvoir antigénique de BHV-1, les autres gE gH gI gK gG sont qualifié de mineur (7).

Tableau 6 : Classification et fonction des glycoprotéines BHV-1 (7).

| Nom | Gène | Essentielle /Non Essentielle | Majeure / Mineure | Rôles/Interactions |
|------------|-------------------|-------------------------------------|--------------------------|---|
| Gb | U _L 27 | Essentielle | Majeure | Entrée dans la cellule hôte, dissémination des virions de cellule à cellule. Récepteurs héparine-like. |
| gC | U _L 44 | Non | Majeure | Attachement à la cellule hôte sans jouer sur la virulence, détermination cellules cibles et donc des espèces cibles. Récepteurs héparine-like, complément (C3b). |
| gD | U _S 6 | Essentielle | Majeure | Attachement et entrée dans la cellule. Passage de cellule à cellule. Associée à gH. |
| gE | U _S 8 | Non | Mineure | Propagation du virus de cellule à cellule. Forme un complexe avec gI. |
| gG | U _S 4 | Non | Mineure | Maintient la jonction intercellulaire, de façon indépendante de gE. |
| gH | U _L 22 | Essentielle | Mineure | Pénétration dans la cellule hôte et propagation de cellule en cellule. Forme un complexe avec gL permettant la fabrication de gH, son transport intracellulaire et l'ancrage de gL dans la membrane cellulaire. |
| gI | U _S 7 | Non | Mineure | Forme un complexe avec gE permettant la fusion cellulaire. |
| gK | U _L 53 | Essentielle | Mineure | Transport intracellulaire vers la surface de la cellule des composants viraux contrôlant le processus de fusion cellulaire. |
| gL | U _L 1 | Essentielle | Mineure | Forme un complexe avec gH. |
| gM | U _L 10 | Non | Mineure | Influence la fluidité membranaire et favorise donc l'entrée et la sortie du virus des cellules hôtes. |

VII. Pathogénie :

Les bovins se contaminent de proche en proche par voie respiratoire ou génitale. L'agent infectieux se développe alors dans l'organisme provoquant les signes cliniques. La réaction immunitaire, qui apparaît entre 10 et 35 jours après l'infection, fait cesser les symptômes et l'excrétion virale, mais conduit à une phase de latence du virus. Les animaux infectés deviennent alors porteurs asymptomatiques du virus. A l'occasion d'un stress ou d'un traitement médical, tout animal infecté est susceptible de réactiver et de réexcréter le virus et de contaminer ainsi les autres animaux du troupeau (15).

VII.1. Primo-infection :**VII.1.1 Pénétration dans l'organisme :**

Dans les conditions naturelles, les herpes virus des ruminants se transmettent principalement par contact direct entre individus ou par l'intermédiaire d'aérosols sur des courtes distance, Suite à une primo-infection, une étape de multiplication virale à lieu dans les cellules épithéliales de la muqueuse ayant servi de porte d'entrée, A ce stade, le virus est excrété à des titres élevés, ce qui permet la dissémination d'une grande quantité de particules virales dans l'environnement (17), par contre l'infection génital requiert un contact direct, soit de façon directe au cours de la saillie naturelle, soit par les paillette d'insémination artificielle. Il existe d'autres sources d'infection peu courante, comme l'alimentation, l'eau, ou du matériel contaminé comme les manchons trayeurs de la machine à traire (18).

VII.1.2. Dissémination dans l'organisme :

L'inoculation à lieu dans les voies respiratoires supérieure. Une première phase de multiplication virale se réalise sur les cellules épithéliales des muqueuses pituitaires puis la dissémination emprunte trois différentes voies (8).

VII.1.2.1. Virémie :

L'infection primaire est à l'origine d'une virémie transitoire pouvant être à l'origine d'essaimage secondaires au niveau d'organes cibles tels que l'intestin, le fœtus, les ovaires, l'encéphale. Ainsi, un veau nouveau-né contaminé par le BHV-1 et non couvert par l'immunité colostrale peut succomber d'une infection généralisée caractérisée par un état fébrile, des épisodes de diarrhée, et une prostration (8).

VII.1.2.2. Voie neuronale :

Après une phase de multiplication locale au niveau des cellules épithéliales de la muqueuse nasale, le BHV-1 progresse par neuroprovasie rétrograde et colonise le ganglion régional : on retrouve ainsi le BHV-1 à l'état latent dans les ganglions trijumeaux lors d'infection respiratoire et au niveau des ganglions sacraux lors d'atteinte génitales (19-20). Une dissémination vers le système nerveux central et la moelle épinière semble possible mais n'entraînerait pas de lésion tissulaire (19).

VII.1.2.3. Transmission de cellule à cellule :

Le BHV-1 et les autres herpes virus des ruminants sont capables de se propager d'une cellule à l'autre, sans passer par le milieu extracellulaire. Cela leur permettrait d'être à l'abri du système immunitaire de l'hôte, ce qui pourrait jouer un rôle primordial lors de la réactivation d'un virus à l'état latent chez un individu immunisé (17). La majorité des glycoprotéines jouent un rôle dans cette dissémination de cellule à cellule et en particulier gE et gG (21).

VII.1.3. Manifestation clinique :**VII.1.3.1. L'infection par le BHV-1 :****A. La forme IBR : Rhino trachéite infectieuse bovine : (7-22)**

L'IBR cause plusieurs symptômes et la gravité dépend de la présence ou non d'une infection secondaire. Néanmoins, la plupart des animaux infectés n'auront pas de signes visibles de la maladie après avoir été infectés. De plus, ils ne se débarrassent jamais complètement du virus et deviennent des "porteurs sains" (22).

Tableau clinique :

- Après une inoculation intra nasale, une forte fièvre est présentée pour 4 à 5 jours, avec des pics à 41°C. Cette fièvre peut être accompagnée d'apathie et d'anorexie.
- Chez les vaches laitières adultes, il y a une légère chute de production laitière (en moyenne 1 litre par jour pendant 9 semaines). Après 2 ou 3 jours d'incubation, des signes respiratoires et oculaires sont observés. Ils consistent en une inflammation de la muqueuse nasale ainsi que des ulcères, un écoulement nasal tout d'abord séreux puis mucopurulent et dans les cas sévères, une détresse respiratoire inspiratoire (due aux débris nécrotiques dans la lumière trachéale) accompagnée d'une toux.

- On retrouve également du pyalisme, une inflammation des muqueuses du pharynx et de la trachée. L'inflammation peut s'étendre à l'appareil respiratoire profond sous forme de bronchopneumonie, en particulier lors de surinfections par *Mannheimia Haemolytica*. En l'absence de surinfection bactérienne, l'animal peut guérir en 15 jours. Le taux de mortalité est variable selon la virulence de la souche (7).

B. La forme IPV : vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse, balanoposthite (7-23-24)

- L'incubation dure 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 male) 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) entre 3 et 7 jours après l'infection (23), un abattement et une baisse d'appétit. Les symptômes perdurent pendant une à deux semaines (24).
- Chez la vache, on parle d'exanthème coïtal. La vulve est tuméfiée et la queue bat de façon excessive. Chez le taureau, les lésions sur le pénis le rendent très douloureux, il refuse la saillie et présente une pollakiurie (7).



Figure 4 : Les étapes de l'infection par l'IBR sur un bovin (22)

VII.1.3.2. La méningo-encéphalite à BHV-5 :

L'encéphalite à BHV-5 touche préférentiellement les veaux âgés de 2 à 10 mois dépourvus d'anticorps dirigé contre le virus. Si les veaux sont infectés après avoir été vaccinés contre BHV-1 ils deviennent infectés de manière silencieuse et le virus devient latent. BHV-5 entraîne une tachycardie, une tachypnée, une fièvre, une dyspnée, un écoulement nasal mucoïde, un étouffement et des bruits pulmonaires anormaux. Il y a souvent une hypersalivation et des douleurs abdominales. Il y également une léthargie, une anorexie, une douleur, un gène, et les animaux gisent souvent au sol.

L'infection neurologique aigue se présente comme un opisthotonos, une hyperesthésie, un comportement anormal, une ataxie, une inclinaison de la tête, une conjonctivite, un aveuglement, un coma et des convulsions. Des problèmes de proprioception peuvent apparaître soudainement. La maladie chez les nouveau-nés entraîne une virémie et une mort rapide.

La maladie subclinique chez les veaux est à l'origine d'une dépression, d'une ataxie et d'une suppression de la motilité du rumen. La dyspnée est plus grave car la maladie est plus chronique, et il y a souvent une mortalité élevée. Les animaux rétablis deviennent des porteurs latents de la maladie (25).

VII.2. Latence :

D'un point de vue biologique, la latence est définie comme une infection virale persistante durant laquelle le génome viral est présent en l'absence de virus infectieux, à l'exception de certaines périodes de réactivation virale, au cours desquelles le virus infectieux est produit (26,27). Pendant la période de latence, le génome viral est présent sous la forme de molécules circulaires et seule une faible proportion des gènes est exprimée (28-29).

Dans les conditions naturelles, la latence virale fait systématiquement suite à une primo-infection. Les animaux porteurs latents ne montrent aucun signe clinique de maladie, seuls des tests sérologiques mettant en évidence des anticorps anti-BHV-1 (30).

VII.3. Réactivation et ré-excrétion virale :

Durant la vie de l'animal infecté, le virus latent peut être réactivé suite à divers stimuli (30). Après réactivation il y a synthèse de nouveaux virions dans le site de latence (7).

Il existe différents stimuli déclenchant la réactivation du virus, comme la mise bas, le transport ; la surinfection par le virus para influenza 3 (PI3) (31), la bronchite vermineuse (32). Expérimentalement, des injections de Dexaméthasone à raison de 0.1mg/kg de poids vif/jr par voie intraveineuse pendant 3 à 5 jours provoquant une réactivation mais l'immunodépression qui pourrait découler de l'injection répétée de glucocorticoïdes n'est pas en cause (33). La Dexaméthasone aurait une action directe sur le neurone hébergeant (34).

Après réactivation dans les neurones du ganglion trigéminal, BHV-1 débute un cycle de réplication lytique qui peut conduire à la mort du neurone. Les nouvelles particules virales migrent par voie axonale jusqu'à leur porte d'entrée initiale : la muqueuse respiratoire. Le virus est capable de passer des axones aux cellules gliales accolées au neurone mais ensuite, il ne peut pas passer de la cellule gliale à une cellule non nerveuse sans sortir des cellules nerveuses (35).

Deux facteurs influencent la ré-excrétion virale : l'état immunitaire avant la réactivation et le phénotype du virus.

La réponse immunitaire primaire à une primo-infection ou à une vaccination est capable de maîtriser la ré-excrétion virale dans les deux mois suivants. La réponse immunitaire secondaire peut également maîtriser la ré-excrétion en fonction du titre en anticorps neutralisants (36). Le phénotype du virus influence également la ré-excrétion.

Des expériences ont montré qu'un mutant double délitée gC/gE peut établir une latence mais aucune ré-excrétion n'a pu être démontrée malgré un traitement de réactivation ou que la proportion de ré-excrétion est plus forte chez des veaux infectés par la souche sauvage du BHV-1 que chez des veaux infectés par une souche délitée en gE (37). Donc la réactivation ne s'accompagne pas de la ré-excrétion.

VIII. Réponse immunitaire de l'hôte :

L'infection par le virus BHV-1 induit la mise en place de 3 sortes de réponses immunitaires, comme représentée sur la Figure 05 (38) :

- 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.

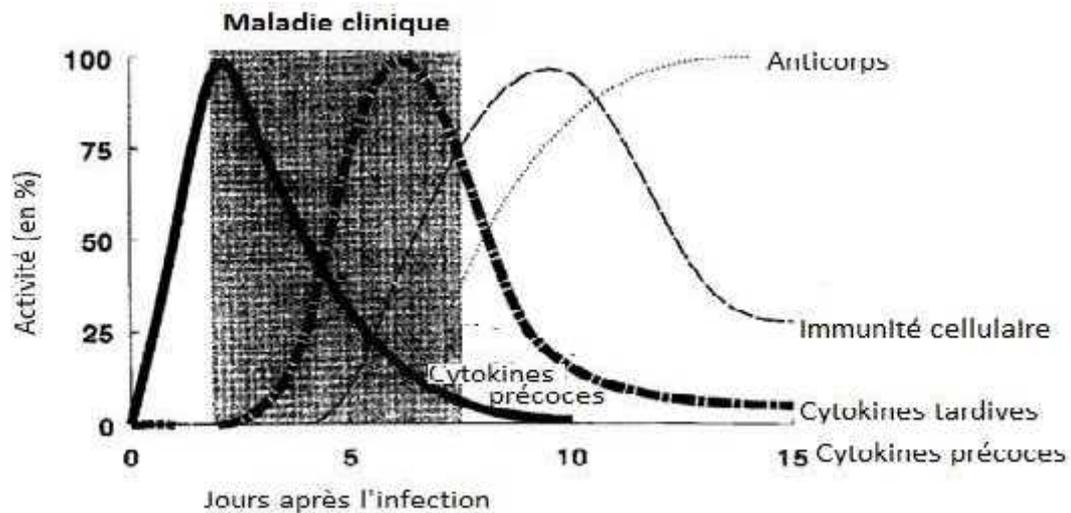


Figure 5 : Réponse immunitaire à l'infection par le BHV-1. (38)

VIII.1. Réponse immunitaire non-spécifique :

La réponse immunitaire non spécifique est réalisée par les Polynucléaires Neutrophiles (PNN), les macrophages, les cellules Natural Killers (NK), les fibroblastes, le complément, les interférons et d'autres facteurs qui limitent l'attachement du virus aux cellules de l'épithélium respiratoire (39). Certains éléments de cette réponse sont constitutifs, comme le complément et d'autres sont induits par l'infection virale, comme les interférons. Il s'agit de la première ligne de défense de l'organisme face à l'agression par un virus. Cette réponse inflammatoire peut parfois être excessive, et donc être délétère pour l'individu.

VIII.1.1. Interféron et cytokines :

Quand une infection virale est établie, la première réponse à l'infection est une réaction inflammatoire et cellulaire, avec l'apparition de cytokines précoces quelques heures après l'infection. La production d'interférons α et β est induite par la production d'antigènes viraux par les premières cellules infectées. Moins de 5 heures après l'infection, on retrouve les interférons α et β dans les sécrétions nasales et le sang. Leur niveau atteint un pic dans les 36 à 72 heures suivant l'infection et reste élevé jusqu'à l'arrêt de la

multiplication virale (40). La production de ces interférons est induite par la multiplication du virus mais aussi par les macrophages recrutés sur le site de l'infection.

Les interférons α et β sont indispensables à l'initiation de la réponse inflammatoire spécifique. La vitesse et l'amplitude de sécrétion de ces interférons jouent un rôle capital dans la capacité de l'hôte à se défendre contre l'infection virale (41).

VIII.1.2. Polynucléaires neutrophiles :

Les cytokines pro inflammatoires, interleukine 1 et 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-infections. Elles entraînent également l'expression de molécules d'adhésion intracellulaires par les cellules endothéliales, permettant l'adhésion des neutrophiles (42). Les PNN combattent l'infection par cytotoxicité dépendant des anticorps(ADCC)(43).

VIII.1.3. Macrophages :

Des cytokines précoces, Il-1 et Il-6, induisent la production d'un facteur, le GM-CSF, par les cellules du parenchyme pulmonaire et les lymphocytes. Ce facteur stimule les colonies de macrophages et de granulocytes, d'origine pulmonaire. Cela participe à la différenciation des macrophages dès 24 heures post-infection. Ils sont alors capables de lyser les cellules infectées par le BoHV-1 (43). De plus, les lymphocytes T produisent une semaine après l'infection, une cytokine tardive, l'interféron γ . Celui-ci provoque un recrutement important des macrophages, qui participent à limiter la réplication virale, avant l'apparition des anticorps.

VIII.1.4. Cellules Natural Killer (NK) :

Les cytokines tardives comme l'interleukine-2 et l'interféron- γ , activent les cellules Natural Killer. Elles tuent spécifiquement les cellules infectées en ciblant les glycoprotéines gB et gD (44)

VIII.2. Réponse immunitaire spécifique :

VIII.2.1. Réponse immunitaire spécifique de type cellulaire :

La mise en place de la réponse immunitaire à médiation cellulaire correspond à une prolifération lymphocytaire, une cytotoxicité directe et une production de cytokine. Elle atteint son pic d'activité entre 7 et 10 jours. Des études montrent que les glycoprotéines d'enveloppe majeures gB, gC et gD en sont à la fois, les stimulants et les cibles principales (45-46).

L'interféron α provoque un passage massif des lymphocytes TCD8+ du torrent circulatoire vers le poumon, où ils sécrètent des cytokines tardives. Celles-ci déclenchent la destruction des cellules infectées par BHV-1 par les macrophages et les lymphocytes TCD8+ eux-mêmes. Les lymphocytes TCD8+ ciblent gC et gD (38). gC est également le stimulant des lymphocytes TCD4+ (47).

Suite à la reconnaissance de l'antigène, les lymphocytes TCD4+ produisent des cytokines tardives, comme l'interleukine 2 (IL2) et l'interféron γ (INF- γ). Ces cytokines jouent un rôle capital dans la régulation de la réponse immunitaire. L'IL2 stimule la prolifération lymphocytaire et l'activation des cellules cytotoxiques. L'INF- γ active les polynucléaires neutrophiles et les cellules NK(7).

Lors de primo-infection, il apparaît que la réponse cellulaire, spécifique et non spécifique, joue un rôle plus important que les anticorps dans la lutte contre l'infection. 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 (7).

VIII.2.2. Réponse immunitaire spécifique de type humorale :

La réponse humorale intervient surtout pour prévenir une nouvelle infection par BHV-1, plus que pour la guérir. Lors d'une primo-infection les anticorps ont un rôle moins important que l'immunité à médiation cellulaire, même si l'ensemble des réponses immunitaires semble indispensable pour contenir l'infection du BoHV-1. Les anticorps participent à l'élimination des particules virales extracellulaires (7).

La réponse humorale fait intervenir les anticorps produits par les lymphocytes B. Cette synthèse ne commence qu'entre 7 et 12 jours après l'infection. Les anticorps n'empêchent pas le passage du virus de cellule à cellule (7).

I. Diagnostic de l'IBR :

I.1. Diagnostic clinique et différentiel :

Les principaux symptômes de l'infection par le BoHV-1 sont : forte hyperthermie (41°C), toux, jetage nasal séreux puis mucopurulent, congestion des muqueuses nasales et oculaires pour la forme respiratoire, inflammation vésiculeuse et pustuleuse des muqueuses génitales externes pour la forme génitale, associées à de l'anorexie et une baisse de la production de lait.

Ces symptômes ne sont pas très caractéristiques et sont généralement retrouvés dans les principales autres maladies respiratoires des bovins à l'engraissement et des bovins adultes.

Néanmoins, il semble que la température rectale moyenne chez les animaux atteints d'IBR soit supérieure à celle rencontrée lors d'autres maladies respiratoires. Malgré cela, les éléments cliniques ne suffisent pas à faire un diagnostic définitif mais plutôt un diagnostic de suspicion, qu'il convient d'étayer en utilisant des examens complémentaires.

Lors d'une suspicion clinique, c'est-à-dire en cas de primo-infection, il faut rechercher la présence du virus, de ses antigènes ou de son ADN. Dans le cadre du contrôle prophylactique du statut immunitaire des animaux, c'est-à-dire en général sur des animaux ne présentant aucun symptôme, mais qui peuvent être en phase de latence, il faut rechercher les anticorps spécifiques. (7)

I.2. Diagnostic direct :

I.2.1. Réalisation des prélèvements :

I.2.1.1. Sur un animal vivant :

Lors de suspicion clinique d'IBR, la réalisation de prélèvements doit se faire en priorité sur un animal vivant, au moment du pic d'excrétion du virus, donc lors de la phase d'hyperthermie. 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.

I.2.1.2. Sur un animal mort :

Il est possible de prélever des échantillons sur un animal mort depuis 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 amygdales ou de la 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.

I.2.2. Technique :

I.2.2.1. Recherche des antigènes viraux :

La technique utilisée pour la recherche des antigènes viraux est l'immunofluorescence. On utilise des anticorps marqués par un fluochrome, de l'isothiocyanate de fluorescéine généralement (48).

On la pratique 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, ce qui permet des règles d'acheminement moins strictes que pour la recherche des virions.

Dans la technique par immunofluorescence directe, on met en contact les préparations cellulaires avec des anticorps anti-BoHV-1 associés à un fluorochrome. On lave les préparations pour éliminer les anticorps non fixés, puis on examine le prélèvement au microscope.

Dans la technique par immunofluorescence indirecte, on utilise des anticorps anti-BoHV-1 non marqués. On effectue un lavage. Puis on ajoute des anticorps anti-immunoglobulines et on lave à nouveau. Ceci permet d'améliorer la sensibilité du test.

Malgré cela, sa sensibilité reste moyenne, le seuil de détection est supérieur à 10⁵ particules virales. Mais c'est une technique facile à réaliser, avec un résultat rapide (24h).

En cas de résultats négatifs, une recherche virale sur culture cellulaire est à effectuer (7).

I.2.2.2. Isolement viral sur cultures cellulaires :

C'est une technique courante car l'isolement du BHV-1 sur cultures cellulaires est facile. Pour le réaliser, il est cependant nécessaire que les particules virales aient conservé

leur pouvoir infectieux. Les prélèvements utilisés doivent donc être frais et avoir été conservés sous couvert de froid (+4°C) jusqu'au laboratoire.

La première étape consiste à mettre en évidence la présence du virus grâce aux effets cytopathogène caractéristiques qu'il produit sur cultures de cellules au bout de quelques jours. Les particules de BHV-1 ainsi isolées sont ensuite identifiées par séroneutralisation, immunofluorescence ou immunoistochimie (30).

I.2.2.3. PCR :

Elle permet la mise en évidence de séquences d'ADN de BHV-1 dans les prélèvements par amplification génique. Les résultats sont obtenus plus rapidement qu'avec l'isolement viral (24h) (30).

I.3. Diagnostic indirect :

I.3.1. Réalisation des prélèvements :

Le diagnostic indirect s'attache à la mise en évidence des anticorps anti-BHV-1 présent dans le lait ou dans le sang des bovins.

Le prélèvement de choix correspond à 5ml de sang sur tube sec stérile, à du lait de mélange (lait de tank) ou du lait individuel.

Dans le cas de suspicion d'IBR clinique, on réalisera deux prélèvements à 15 jours -3 semaine d'intervalle, le premier ayant lieu dès l'apparition des symptômes. On cherche alors de mettre en évidence une cinétique ascendante du taux sérique d'anticorps (8).

I.3.2. Techniques :

I.3.2.1 Le test de séroneutralisation :

La séroneutralisation a été présentée dans l'isolement viral après culture cellulaire. Cette fois-ci, on met en contact le sérum à tester avec une quantité connue de virus pendant 1 à 24h. Si le sérum contient des anticorps neutralisants anti-BoHV-1, ceux-ci vont lui faire perdre son pouvoir infectieux. Puis le mélange est inoculé sur une culture cellulaire sensible au BoHV-1. Après 2 à 5 jours, on recherche des effets cytopathogène. S'ils sont présents, le sérum ne contenait pas d'anticorps neutralisants anti-BoHV-1. Sinon, le sérum en contenait.

Cette technique est encore la technique de référence malgré son cout et sa lourdeur des manipulations à effectuer (7).

I.3.2.2. Les tests ELISA :

La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) est la seule technique diagnostique indirecte quantitative. La séroneutralisation permet en effet d'évaluer mais pas de quantifier l'intensité de la réponse anticorps.

▪ ELISA Indirecte :

Le sérum à tester est mis en contact d'antigènes spécifiques de BoHV-1 fixés sur un support (Figure 6). On effectue un premier rinçage, puis on révèle la présence d'anticorps anti-BoHV-1 dans le sérum par l'ajout d'anticorps anti-immunoglobulines bovines conjuguées à une enzyme. On effectue un second rinçage. Puis on ajoute le substrat chromogène correspondant à cette enzyme et la lecture se fait au spectrophotomètre. La densité optique est proportionnelle à la quantité en anticorps dans le sérum.

▪ ELISA Compétition :

De la même façon, on met en contact des antigènes spécifiques de BoHV-1 fixés sur un support et le sérum à tester (Figure 6). Mais on ajoute en même temps une quantité connue d'anticorps anti-BoHV-1 conjuguées à une enzyme. On effectue un rinçage. Puis on ajoute l'enzyme chromogène correspondant à cette enzyme.

On effectue la lecture au spectrophotomètre et la densité optique est inversement proportionnelle à la quantité d'anticorps dans le sérum.

L'ELISA de compétition utilisant la glycoprotéine gE à été développé parallèlement à l'élaboration de vaccins marqués gE. En effet, associés dans un programme d'éradication de l'IBR, ils permettent la distinction animaux vaccinés (séronégatifs envers gE)/animaux infectés (séropositifs envers gE) (8).

I.3.2.3. Les autres tests :

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

I.4. Comparaison des performances des tests sérologiques :

I.4.1. Sensibilité :

La sensibilité d'un test traduit sa faculté à détecter de faibles quantités d'antigènes ou d'anticorps au sein d'un échantillon, c'est-à-dire à minimiser les faux négatifs.

La séroneutralisation avec une pré-incubation de 24 heures est la plus sensible que celle réalisée avec une pré-incubation de 1 heure (49).

La sensibilité relative de la séroneutralisation par rapport aux méthodes ELISA est discutée et variable selon les tests distribués. D'aucun considèrent la séroneutralisation comme plus sensible (49). D'autres, inversement, attribuent plus de sensibilité aux techniques ELISA.

Enfin la technique ELISA compétition semble être la méthode la plus sensible dans la détection de faible taux d'IgG (7).

I.4.2. Spécificité :

La spécificité correspond à la faculté d'un test à ne mettre en évidence spécifiquement que les anticorps ou les motifs antigéniques recherchés, c'est-à-dire à minimiser les faux positifs.

Les techniques usuelles sont relativement spécifiques même si l'on peut obtenir des faux positifs par séroneutralisation ou par technique ELISA (7).

II. Vaccination :

La vaccination contre l'IBR devrait avoir 3 objectifs. Tout d'abord, elle doit prévenir l'animal porteur du BHV-1 de l'expression clinique de la maladie. Ensuite, elle doit maîtriser la phase de ré excrétion virale chez les animaux porteurs latents. Enfin, la vaccination des animaux indemnes doit empêcher leur contamination (50).

II.1. Les différents types de vaccins disponibles :

II.1.1. Les vaccins conventionnels :

Les vaccins contre le BHV-1 peuvent être divisé en deux catégories : les vaccins atténués (vivants ou modifiés) et les vaccins inactivé (tableau 7).

- Les vaccins atténués, ou vaccins vivants, sont constitués de souches de BHV-1 qui, par passage successifs sur des cultures cellulaire ou par traitement à l’oxyde nitreux, sont rendues non virulentes et thermosensible. Elles n’induisent pas d’expression clinique de l’IBR. Ils déclenchent une réponse immune cellulaire et humorale précoce et persistante.
- Les vaccins IBR inactivés, ou tués sont constitués de BHV-1 à une concentration de 10^{exp7} à 10^{exp8} DICT50 (dose induisant des effets cytopathogènes sur 50% des cultures cellulaires inoculées).

Les souches de BHV-1 utilisées pour l’élaboration des vaccins sont cultivées sur système cellulaire homologues, inactivées par l’éthylamine et adjuvés par l’hydroxyde d’aluminium et la saponine (8).

Tableau 7 : Avantages et inconvénients des vaccins inactivés et atténués utilisés contre l'IBR (8).

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

II.1.2. Les vaccins marqués :

Les vaccins marqués sont constitués de souches virales mutantes dont le génome porte une délétion dans un gène codant pour une glycoprotéine d'enveloppe. Les animaux vaccinés ne développent pas d'anticorps contre cette glycoprotéine, ce qui permet de les distinguer des animaux infectés par une souche sauvage (30).

La glycoprotéine dont il faut déléter le gène doit posséder plusieurs propriétés (51) :

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

Actuellement, seul un mutant n'exprimant pas la glycoprotéine gE est utilisé pour la fabrication de vaccins inactivés et Cette glycoprotéine remplit en effet les deux premières conditions et les anticorps anti-gE persistent au moins deux ou trois ans après une primo-infection (30).

D'autres souches mutantes sont à l'étude pour l'élaboration de vaccins vivants marqués, la délétion devant, dans ce cas, servir à la fois à atténuer la virulence et à permettre un marquage efficace. Ainsi, le mutant délité gC conserve une virulence encore trop importante alors que les mutants délités gI ou gI/gE sont trop peu immunogènes (51).

II.1.3. Les vaccins de troisième génération

II.1.3.1. Les vaccins sous unitaires

Les vaccins sous unitaires sont composés de glycoprotéine majeures, donc à fort pouvoir immunogène (gB, gC, gD) associées à un adjuvant.

Ces vaccins assurent la même protection qu'un vaccin inactivé mais permettent aussi de distinguer les animaux dont la séroposivité est issue de la vaccination et non de l'infection.

L'utilisation de tels vaccins sur des bovins indemnes d'IBR n'empêche pas l'infection ultérieure et le portage latent mais prévient l'apparition de symptômes (7).

En revanche, le vaccin sous unitaire n'inhibe pas totalement la réexcrétion lors des phases de réactivation (52).

II.1.3.2. Les vaccins recombinants :

L'adénovirus bovin de type 3 et l'adénovirus humain de type 5 non répliquatifs pourraient servir de vecteurs de gène codant pour les glycoprotéines d'enveloppe du BHV-1. Administré par voie intranasale, ces vaccins induiraient en effet une bonne immunité locale (30).

II.1.3.3. Le transfert de gène in vivo :

Le principe des vaccins génétiques est le même que celui des vaccins sous-unitaires. Mais au lieu d'apporter directement les glycoprotéines, on apporte l'ADN codant ses glycoprotéines.

Ainsi ce sont les cellules de bovin vacciné qui vont, par l'intermédiaire du CMH, présenter ces glycoprotéines sur une durée beaucoup plus importante. On utilise toujours des glycoprotéines d'enveloppe majeure, telles que gD ou gC (2).

La réponse immune à ces vaccins est similaire à celle des vaccins inactivés mais grâce aux vaccins génétiques, on peut différencier les animaux vaccinés des animaux infectés et aucune recombinaison avec une souche sauvage n'est possible.

II.2. Le protocole de vaccination :

II.2.1. Objectifs :

La vaccination contre l'IBR doit être envisagée en fonction de la cible, animal séropositif ou séronégatif, et selon le degré de protection désiré, clinique ou virologique (53) (tableau 9).

Tableau 8 : Objectifs de la vaccination selon le statut sérologique de l'animal (53).

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

II.2.1. Protocole classique :

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

La primo- vaccination peut être pratiquée à l'âge de 3-4 mois, lorsque l'immunité colostrale est réduite. Elle consiste en deux injections à 2 à 4 semaines d'intervalle. Le premier rappel est effectué 4 à 6 mois plus tard puis les rappels ultérieure sont annuels (30).

II.2.2. Protocole de vaccination répété :

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

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

La primo-vaccination s'effectue comme dans le protocole classique. Par contre, les rappels sont strictement réaliser tous les 6 mois afin (hyper immuniser) les animaux vaccinés (53) (Tableau 10).

Tableau 9 : Protocole de vaccinations répétées appliqué dans le cadre d'un plan de lutte contre l'IBR (53).

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

Avec un tel protocole, l'utilisation systématique de vaccins marqués apporte une aide considérable dans le programme de lutte contre l'IBR. En effet, au bout de quelques années de vaccination, l'ensemble des animaux devient séropositifs envers le BHV-1 et le séronégatif envers la glycoprotéine gE. Ce qui signifie que l'exploitation est indemne d'IBR et que tous les animaux sont protégés par le vaccin. L'étape finale consiste à arrêter la vaccination afin d'obtenir de nouvelles générations de veaux entièrement séronégatifs envers le BHV-1 (Tableau 11) (53).

Etude expérimentale

1) INTRODUCTION :

I. Objectifs :

Le principal objectif de ce travail est de donner une idée sur la présence ou l'absence dans les cheptels bovins algériens le virus de l'IBR, le BHV-1. Donc une enquête a été effectuée dans les régions de Tizi Ouzou, Bouira, Boumerdes, Bordj bouarreridj, du Septembre 2014 jusqu' à Novembre 2015.

La méthode de diagnostic consiste à prélever du sang sur des bovins, les prélèvements seront envoyés au laboratoire, pour faire séroprévalence ou une mise en évidence et le taux d'anticorps anti BHV-1 et une culture cellulaire.

Ces échantillons prélevés à partir des quatre wilayas, sont conservés au frais et acheminés vers le laboratoire vétérinaire de DBK sous chaîne de froid.

II. Matériels et méthode :

1. Matériels :

- ✓ Pour le prélèvement sanguin : aiguille, porte aiguille, gants, tube. Glacière.
- ✓ Sur des bovins de race locale ou bovins née en Algérie.
- ✓ Sérum sanguin.
- ✓ Kit Elisa.
- ✓ Culture cellulaire séroneutralisation virale gB, gE, gD

2. Méthode :

A. Recensement de cheptels rencontrant des problèmes d'avortement :

- Espèces cibles : bovine et caprine.
- Elevages :
 - différentes exploitations agricoles privées ;
 - centres d'élevages étatiques ;
- Régions : Mitidja et Kabylie
- Nombre d'élevages à inclure dans l'étude : n= 100 à 200.

B. Réalisation des prélèvements sanguins :

Réaliser des prélèvements sanguins (en tube sec) sur des animaux âgés plus de 2 ans et de race locale ou nés en Algérie, pour le moment on est à 1067 exploitations.

C. Analyse des prélèvements (LRV DBK et Anses Sophia-A) de 02 avril à ce jour :

- **TECHNIQUE D'ELISA : ELISA INDIRECT** : Voir annexe
- **ELISA COMPETITION gE et gB** : Voir annexe
- **Neutralisation virale de l'IBR** : Voir annexe

2) ANNALYSE DES RESULTATS :

Tableau 10 : Nombre des animaux et d'élevages atteints par wilaya :

| Région | Nombre BV | Fréquence BV(+) | Nombre d'élev | Fréquence élev(+) |
|------------|-----------|-----------------|---------------|-------------------|
| Tizi ousou | 250 | 14% | 29 | 55% |
| Boumerdes | 278 | 19% | 27 | 74% |
| Bouira | 255 | 13% | 31 | 61% |
| Bordj b | 283 | 9.9% | 30 | 46% |

D'après notre étude, le nombre des élevages et animaux atteints est important dans la wilaya de Boumerdes (**74%,19%**) par rapport aux autres wilayas.

Tableau 11 : La fréquence des élevages atteints selon le type de production

| Région | Nombre des élevages atteints | Elev Lait | Elev viande | Elev mixte |
|------------|------------------------------|-----------|-------------|------------|
| Tizi ousou | 16 | 50% | 6,25% | 43,75% |
| Boumerdes | 20 | 37% | 20% | 45% |
| Bouira | 19 | 31,58% | 31,58% | 36,84% |
| Bordj b | 14 | 64,69% | 14,29% | 21,43% |

On remarque que le nombre des animaux atteints est majoritaire à Boumerdes représenté essentiellement par l'élevage mixte (**45%**). La région de Bordj a déclaré un nombre d'atteinte le plus important représenté par une majorité d'élevage de lait (**64,69%**). On note aussi que le nombre d'élevage de viande est minime dans les quatre régions par rapport aux autres types production.

Tableau 12 : La fréquence des élevages atteints selon le type d'élevage

| Région | Nombre des élevages atteint | Intensif | Semi intensif |
|------------|-----------------------------|----------|---------------|
| Tizi ousou | 16 | 50% | 50% |
| Boumerdes | 20 | 35% | 65% |
| Bouira | 19 | 47,37% | 52,63% |
| Bordj b | 14 | 35,71% | 64,29% |

Notre étude sur le type d'élevage indique que le semi intensif est l'élevage le plus atteint, sauf pour la wilaya de Tizi ousou.

Tableau 13 : La fréquence des élevages atteints selon l'état d'hygiène

| Région | Nombre des élevages atteints | Mauvais Hygiène | Hygiène bon |
|------------|------------------------------|-----------------|-------------|
| Tizi ousou | 16 | 87,5% | 12,5% |
| Boumerdes | 20 | 65% | 35% |
| Bouira | 19 | 57,89% | 42,11% |
| Bordj b | 14 | 78,57% | 21,43% |

On note que la fréquence des animaux atteints est plus importante dans les élevages où l'hygiène est mauvaise pour les quatre wilayas.

Tableau 14 : La fréquence des élevages atteints selon les animaux introduits et non introduits

| Région | Nombre des élevages atteints | Intro | Non intro |
|------------|------------------------------|--------|-----------|
| Tizi ousou | 16 | 75% | 25% |
| Boumerdes | 20 | 75% | 25% |
| Bouira | 19 | 78,95% | 21,05% |
| Bordj b | 14 | 85,71% | 14,29% |

On remarque que l'introduction des animaux augmente le nombre des animaux atteints.

Tableau 15 : La fréquence des animaux atteints selon l'âge des animaux :

| Région | Age (1-3) | Age (4-6) | Age (7-14) |
|------------|-----------|-----------|------------|
| Tizi ousou | 25% | 38,89% | 36,11% |
| Boumerdes | 22,22% | 46,30% | 31,48% |
| Bouira | 18,19% | 48,48% | 33,33% |
| Bordj b | 21,43% | 35,71% | 42,86% |

On note que la tranche âge la plus touchée par l'IBR est comprise entre (4-6).

Tableau 16 : La fréquence des animaux atteints selon le sexe

| Région | Nombre des vaches | Nombre des male |
|------------|-------------------|-----------------|
| Tizi ousou | 83,33% | 16,67% |
| Boumerdes | 85,19% | 14,81% |
| Bouira | 93,94% | 6,06% |
| Bordj b | 92,86% | 7,14 % |

On conclut que le sexe féminin est plus touché par l'IBR.

3) PRESENTATION DES RESULTATS :

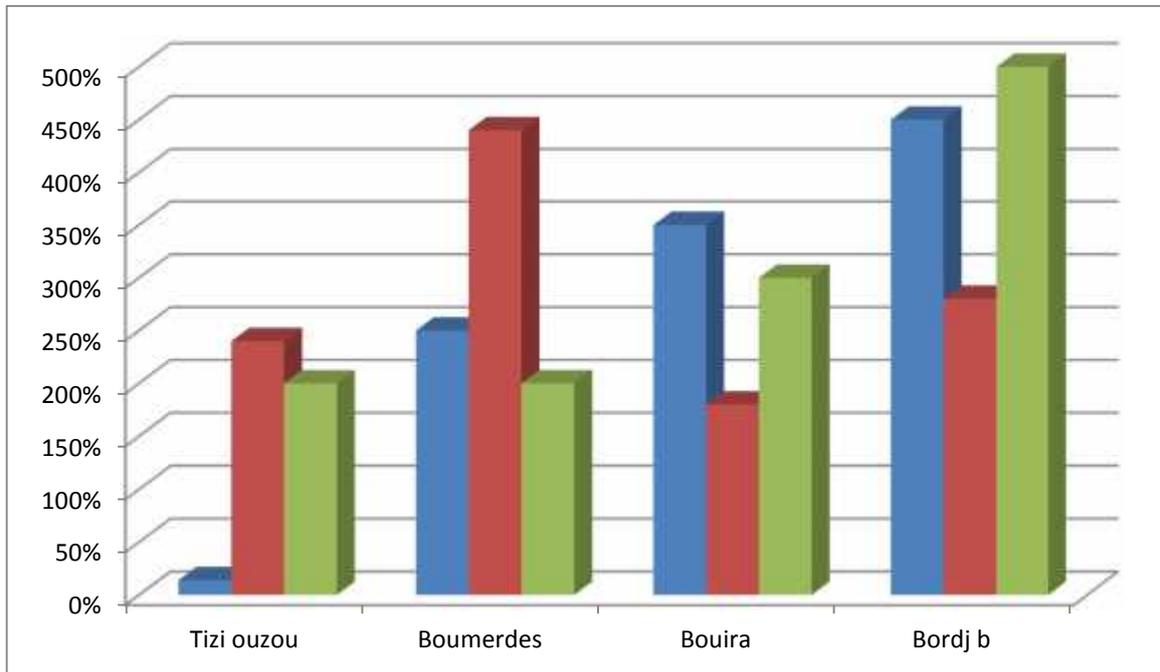


Figure 06 : Nombre des animaux et d'élevages atteints par wilaya

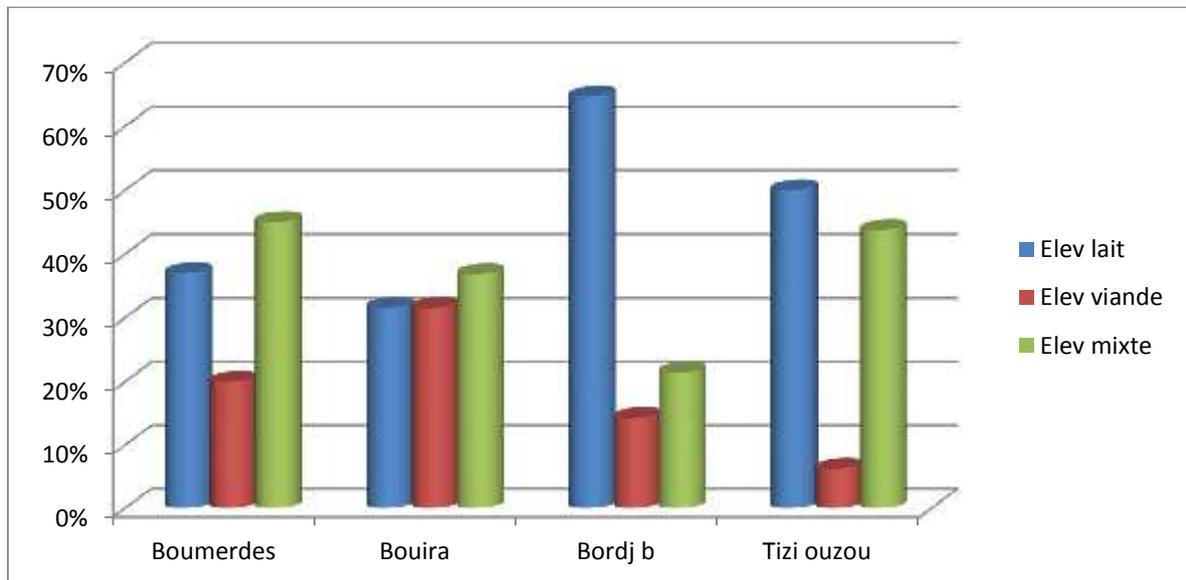


Figure 07: la fréquence des élevages atteints selon le type de production

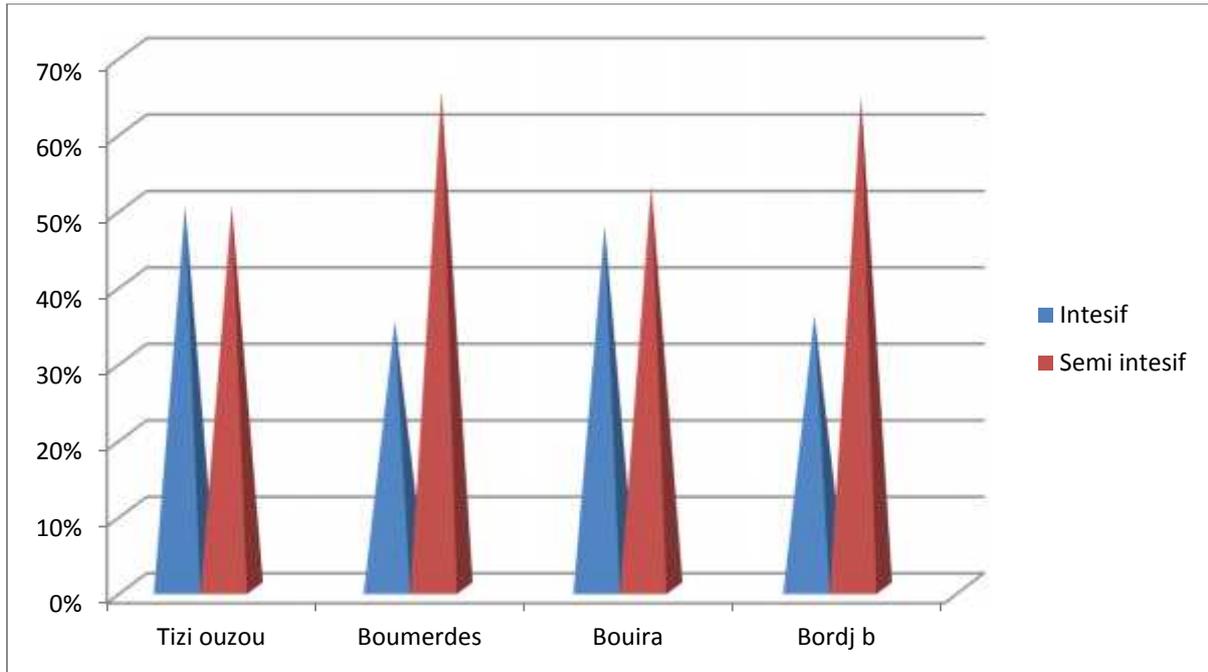


Figure 08 : la fréquence des élevages atteints selon le type d'élevage

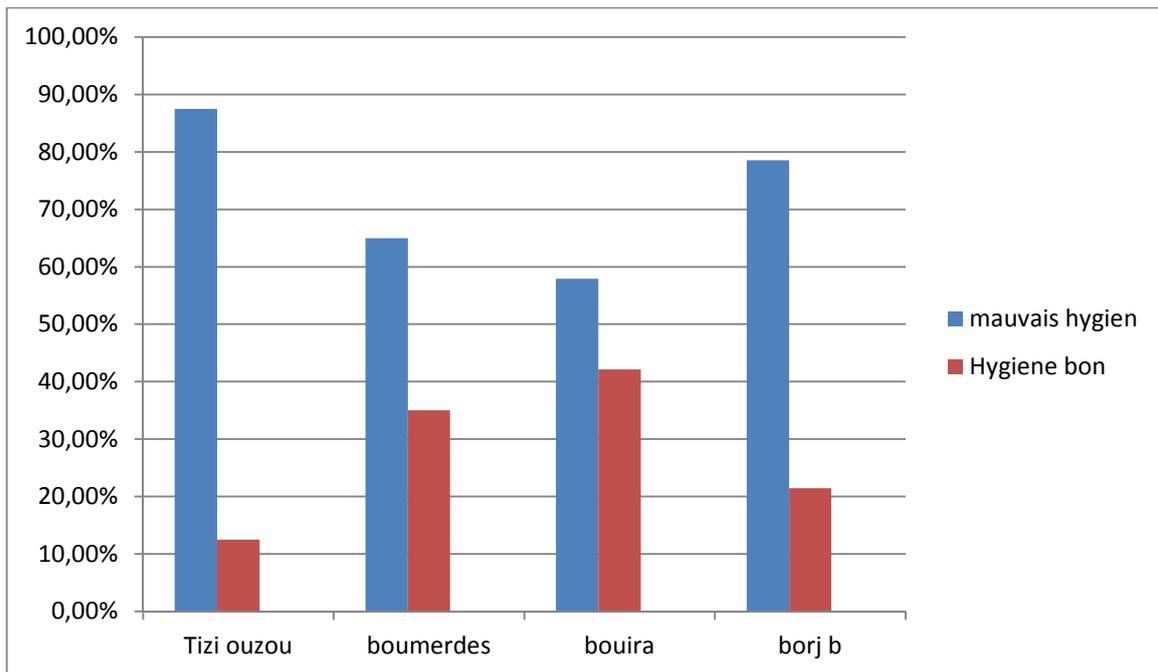


Figure 09 : la fréquence des élevages atteints selon l'état d'hygiène

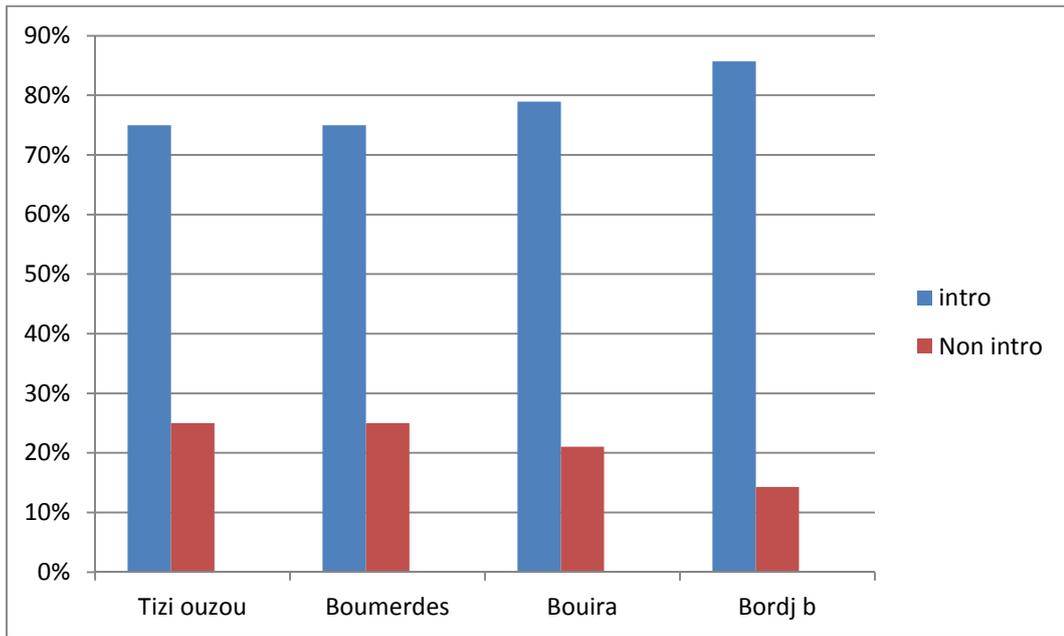


Figure10 : La fréquence des élevages atteints selon les animaux introduits et non introduits

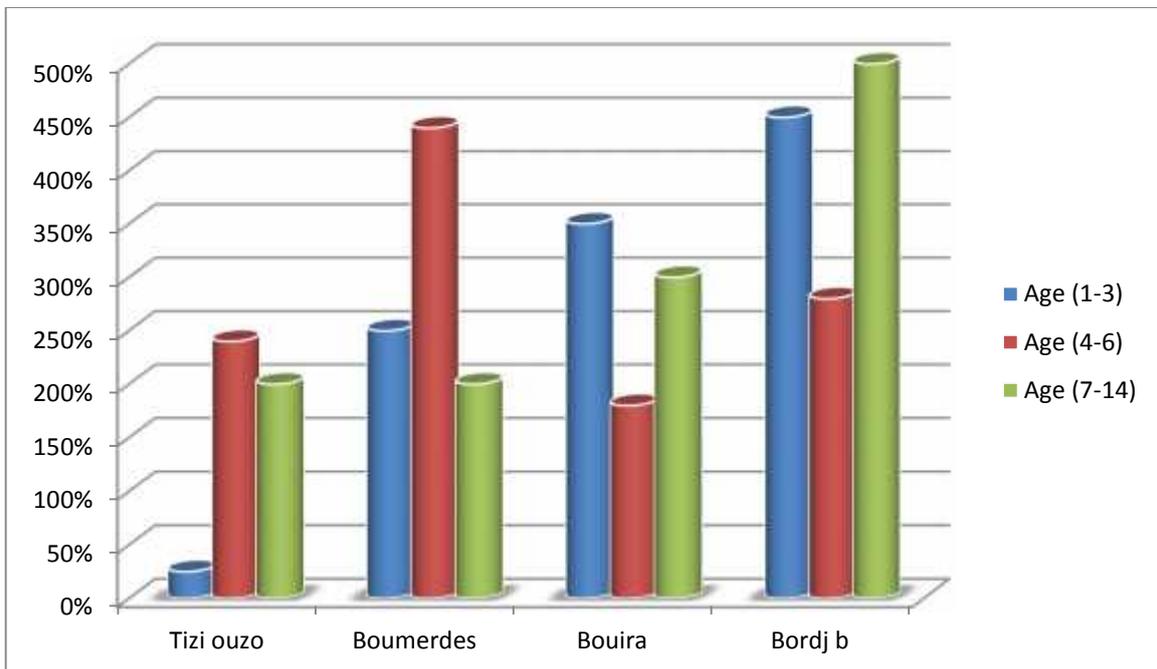


Figure11 : La fréquence des animaux atteints selon l'âge des animaux

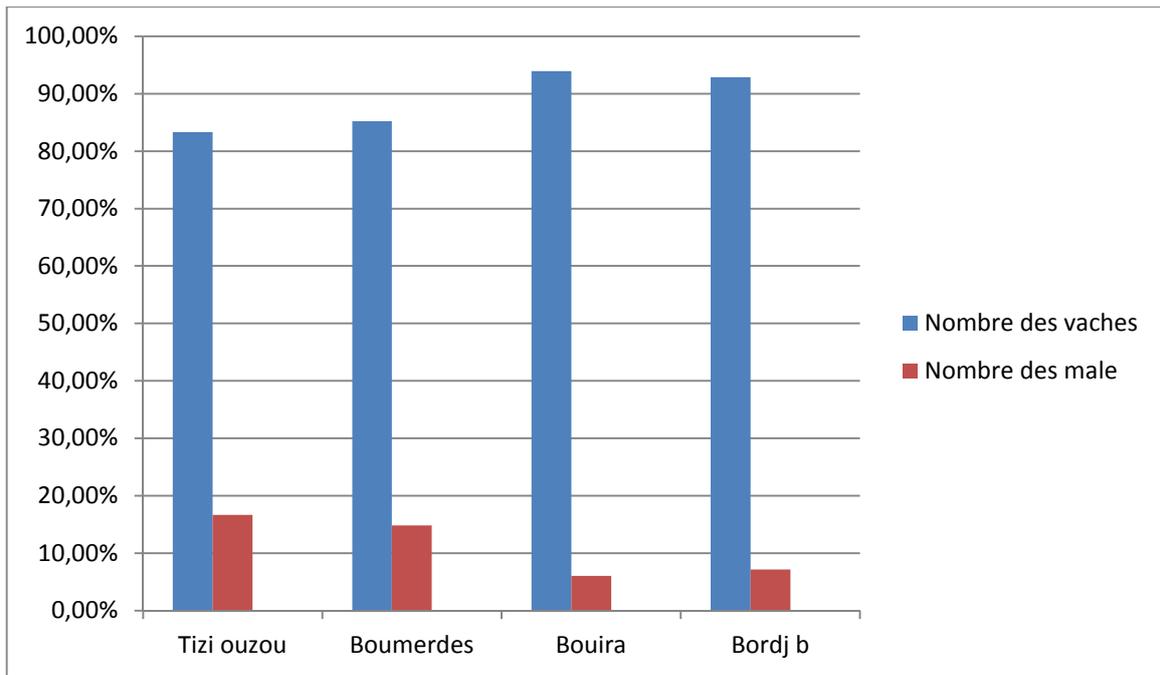


Figure12 : La fréquence des animaux atteints selon le sexe

4) DISCUSSION :

Les avortements sont les principales causes des pertes économiques dans les élevages des bovins laitiers. A la perte sèche des foetus s'ajoutent une de production laitière et les couts d'entretien des femelles non productives. Parmi les causes d'avortement, la part d'intervention des causes infectieuse est une donnée très importante a connaitre dans chaque région pour le choix judicieux des mesures de luttes.

- **Les régions :** toute les régions dont lesquelles on a effectué notre travail sont touchées par l'IBR surtout les villes côtières. En France (1997) ils ont démontré que 10 à 30% des cheptels étaient infectés par le virus BHV-1 (53). En Europe, la situation des différents pays vis-à-vis de l'IBR est très variable.

Au premier septembre 2007 en recensait 07 états indemne de l'IBR : **Autriche, Danemark, la Suède, la Finlande, la Norvège**, la région de **Bonlzano en Italie** et hors Union Européen la **Suisse** et d'autre pays présentent une prévalence faible en moyenne de l'IBR ; Allemagne, la France, le reste de l'Italie et en fin certains états ont une prévalence élevée de l'IBR ; la Belgique et les Pays-Bas (54). En Algérie aucune enquête à l'échelle nationale n'a été menée avec une méthodologie suffisamment rigoureuse pour pouvoir correctement estimer le taux de l'infection de l'IBR.

Hormis les génisses importées qui sont contrôlées pour l'IBR au niveau des lazarets aucun système de contrôle n'a été adopté contre l'IBR en Algérie.

- **Type de production :** d'après notre étude, la majorité des élevages atteints étaient de production laitière. La rhino trachéite infectieuse bovine (IBR) est présente dans tous les élevages bien que la prévalence et l'incidence soit variable (55).
- **Type d'élevage :** après notre travail on a constaté que tous les types d'élevages sont touchés par l'IBR mais le semi intensif représente la proportion la plus atteinte. Cependant l'exposition des bovins en élevage intensif à l'IBR menant à des troubles respiratoire (56).
- **Hygiène :** en général elle était mauvaise dans les quatre wilayas malgré un suivi sanitaire correcte ; vaccination et dépistage assuré par nos vétérinaires privés et étatiques. Ainsi que, des problèmes de la reproduction sont signalés dans tous les élevages. Le virus peut causer, entre autre, des pertes économiques importantes

souvent sous-estimées (57). De plus, il est responsable de divers problèmes au niveau de la production et de la reproduction ce qui est un point important pour la vie d'une entreprise.

- **Les animaux introduits et non introduits :** par suite de l'accomplissement de notre recherche nos cheptels ont été atteints par l'IBR avec ou sans introduction des animaux. Toutefois, contrôler les déplacements des animaux, est une bonne méthode de prévention pour permettre d'éliminer la possibilité d'introduction de BHV-1 à l'intérieur d'un troupeau susceptible (58).

D'après (59) un facteur de risque important pour l'état de santé d'un troupeau est l'achat d'animaux, parce que ceux-ci peuvent excréter le pathogène ou être des porteurs latents et infecter les autres bêtes.

- **L'âge des animaux prélevés était entre 1 an et 14 ans :** selon notre travail on trouve les séropositifs pratiquement chez toutes les tranches d'âges des animaux.

D'après (60) tous les groupes d'âge d'un troupeau peuvent être atteints. Cependant, les cas de morbidité et les cas fatals sont plus importants en période néonatales et pour les nourrissons que chez les adultes (61). L'IBR a une distribution mondiale est près de 50% des cheptels de bovins adultes ont déjà été en contact avec cette maladie (62).

- **Sexe des animaux :** Les vaches sont plus atteintes que les mâles parce que leur durée de production peut s'étaler jusqu'à 10 ans alors que les mâles sont abattus à 2 ans. Une étude effectuée en Belgique a montré que les taureaux de troupeaux laitiers et de boucherie étaient plus à risque d'être séropositifs à BHV-1 que les vaches (63). Une explication à cette observation est que, les bovins qui s'échappent de leur troupeau et se mélangent avec les bovins d'un autre troupeau sont un risque d'introduire le BHV-1 au sein d'un troupeau (Boelaert, Speybroeck et al. 2005). (63)

- **Test de l'ELISA :** selon notre travail, la réaction positive est observée à partir **251** de sérums sur **1067** prélèvements pour toutes les analyses ELISA indirecte, compétition gB et gE ce qui permet de les distinguer des vaccinés. Ainsi plusieurs méthodes peuvent être mises en place pour prévenir les infections des animaux par la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR).

Différentes techniques sont utilisées pour mettre en évidence une infection au BHV-1. La confirmation du virus et/ou de l'antigène est possible par des méthodes conventionnelles telles que la culture de cellules, l'immunofluorescence, l'analyse d'immunoperoxydase et l'ELISA (64). Donc, une prise de sang peut être effectuée pour mettre en évidence les anticorps et une technique d'immunofluorescence sur des coupes d'organes peut aussi être effectuée sur un cadavre (57). La recherche d'anticorps se fait au niveau d'échantillon de sérum, mais peut aussi se faire à l'aide d'un échantillon de lait (65).

Les nouveaux vaccins sont marqués (vaccin contenant des virus n'exprimant pas la glycoprotéine gE) ce qui permet de les distinguer facilement (57). De plus, les animaux ayant été vaccinés démontrent un taux plus élevé des anticorps que ceux ayant reçu aucune immunité et ce pour un nombre similaire de jours suivant l'infection (66).

- **La séroneutralisation virale :** d'après notre étude la confirmation des réactions positives 13 séropositifs sur 14 de l'ELISA étaient très positifs avec des dilutions 1/8 à 1/48.

D'après (64), la confirmation du virus et/ou de l'antigène est possible par des méthodes conventionnelles telles que la culture de cellule (séroneutralisation virale).

5) CONCLUSION :

Notre étude a abouti à la confirmation de la présence de *l'herpesvirus bovin type 1* dans les wilayas de **Tizi Ouzou, Bouira, Boumerdes, Bordj bouarreridj**, ce qui prouve son existence dans les élevages bovin algérien, causant la rhino trachéite infectieuse bovine (IBR) ainsi que la vulvo- vaginite infectieuse (IPV). Les principales conséquences de ces maladies sont l'infécondité, les avortements, cela peut aussi induire une diminution des performances de la croissance, une baisse de production du lait chez les vaches laitières et, ce qui est responsable des pertes économiques considérables.

Présentement, il n y a pas de grands travaux de recherche mis en œuvre pour investiguer sur le virus de *l'herpesvirus bovin type 1* en Algérie, de contrôler les problèmes de reproduction chez les bovins, et de limiter les préjudices provoquent par ce dernier. Or le cheptels Algérien ne se trouve pas dans des bonnes conditions zootechniques et de propreté. La sensibilisation est un bon moyen pour commencer à faire prendre conscience aux éleveurs qu'ils sont en mesures de gérer leur entreprise de manière à ce que la vie de tous les jours soit plaisante et tout cela en gardant loin de leurs animaux les maladies qui affectent grandement la productivité. Néanmoins au cours de cette dernière année, nos éleveurs ont le désir de les améliorer et avoir les normes de rendement car un élevage qui ne produit pas n'est pas rentable.

L'objectif est à présent d'étendre les travaux sur l'IBR dans le but d'aboutir à la situation épidémiologique de cette maladie dans notre pays, introduire des techniques de recherche directe du virus BHV-1 au niveau de son site de latence, qui apportent des résultats corrects et des réponses précises sur le virus, et la mise en place des mesures préventives qui sont devenu les meilleures manières d'éviter ces problèmes et il est de ce fait important d'y porter une attention particulière pour être en mesure de mettre toutes les chances possibles du côté du producteur. Il est mieux de prévenir et ainsi éviter les problèmes futurs. Comme le proverbe le dit si bien, mieux vaut prévenir que guérir.

Références

Références

(1)= L'herpesvirus bovin 4 - Université de Liège

http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2003_147_4_01.pdf

de N MARKINE-GORIAYNOFF - 2003

(2)= F.M.H. GRADEUX

Recherche de virus de BHV-1 dans les ganglions trijumeaux des bovins dans le cadre de la gestion national de la rhinotrachéite infectieuse bovine

Thèse: Med. Vet. : Toulouse: 2007, p 13, 15, 19, 20, 18, 29, 30, 31, 37

(3)= Thomas DELOST

Evolution de la certification IBR en France

Thèse: Med. Vet. Alfort: 2011, p 11, 34, 35, 23, 39

(4)= C.PASQUIER, S.BERTAGNOLI, F.MESSUD, J.IZOPET /Virologie humain et animale

Edition DUNOD, 2005, p105, 106

(5)= 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 consulté le 31/01/07)

(6)= P.C.LEFEVRE, J.BLANCOU, R.CHERMETTE

Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail en Europe et régions chaudes chp
Herpesvirus des ruminants E.THIRY

Edition : TEC & DOC : 2003, p485, 486, 491, 490, 489

(7)= EVOLUTION DE LA CERTIFICATION EN France

Thèse : pour le doctorat vétérinaire, Présenté et soutenue publiquement devant LA FACULTE DE MEDECINE CRETEIL PAR : THOMAS DELOST

(8)= LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE : ORGANISATION DES MOYENS DE LUTTE DANS LE CADRE D'UNE CERTIFIATION NATIONALE

Thèse : PRESENTE A L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD DE LYON (Médecine-Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 18 avril 2007 par : RABEYRIN MATHIAS SIMON JAQUE

(9)= https://fr.wikivet.net/Herp%C3%A8svirus_Bovin_de_Type_1 Cet article est tiré du Manuel de la Santé et de la Production Animale (The Animal Health & Production Compendium), publié en ligne par CABI à l'occasion du Projet OVAL. Accédée le: 3/04/2011

(10)= https://fr.wikivet.net/Herp%C3%A8svirus_Bovin_de_Type_5

Cet article est tiré du Manuel de la Santé et de la Production Animale (The Animal Health & Production Compendium), publié en ligne par CABI à l'occasion du Projet OVAL.

Fiche technique utilisée: bovine herpesvirus 5 and bovine herpesvirus 5 infection accédée le: 1/08/2011

(11)= ROIZMANN, B., DESROSIERS, R. C., FLECKENSTEIN, B., LOPEZ, C., MINSON, A. C. and STUDDERT, M. J. /The family herpesviridae: an update. the herpesvirus Study Group of the International Committee on taxonomy of viruses /Arch. virol, 1992, 123, 3-4, 425-449.

(12)= Roizman B., Baines J. The diversity and unity of herpesviridae; /Comp. Immun. Microbiol. Inf. Dis. 1991, 14, 63-79.

(13)= SCHWYZER, M. and ACKERMANN, M. Molecular /Virology of ruminant herpesvirus. Vet. Microbiol, 1996, 53, 1-2, 17-29.

(14)= MUKYKENS B, THIRY J, KIRTEN P, SCHYNTS F, THIRY E. /Bovine herpesvirus infection and /infections bovine rhinotracheitis.

Veterinary Research, 2007, 38, 181-209.

(15)= Muylkens B, Meurens F., Schynts F., Thiry E. / Les facteurs de virulence des alphaherpesvirus ; *Virology*, 2003, 7, 401-415.

(16)= <http://agriculture.gouv.fr/la-rhinotracheite-infectieuse-bovine-ibr> 05/03/2010/ anonyme

(17)= ENGELS, M. And ACKERMANN, M. /Pathogénie des infections par l'herpesvirus des ruminants. *Vet. Microbiol.*, 1996, 53, 1-2, 3-15.

(18)= Hervé, Max, Louis CASSARD /Infections croisées à alphaherpesvirus chez les ruminants : Application au contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine /Ecole nationale vétérinaire de TOULOUSE ; Année 2006. 23-24-25-26-35-41p

(19) = ACKERMANN M., PETERHANS E., WYLER R., (1982) – DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. *Am. J. Vét. Res.*, 43, 36-41.

(20)= ACKERMANN M., WYLER R., (1984)–The DNA of an IPV strain of bovine herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection. *Vet. Microbiol*, 9, 53-63

(21)= TRAPP S, OSTERRIDER N, KEIL GM, BEER M. Mutagenesis of a bovine herpesvirus 1 genome cloned as an infections bacterial artificial chromosome: analysis of a glycoprotein E and G double deletion mutants. *J. Gen. Virol.*, 2003, 84, 301-306

(22)= Rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) /Séminaire en sciences animales SAN-12474, Travail présenté à Dany Cinq-Mars par Chantale Roy le 23 Mars 2007.

(23)= VAN OIRSCHOT JT, KAASHOEK MJ, RIJSEWIJK FAM, RUULS RC, QUAK J, DAVIDSE A *et al.* Virulence and genotype of a bovine herpesvirus 1 isolate from semen of a sub clinically Infected bull. *Vet. Rec.*, 1995, 137, 235-239.

(24)= THIRY E, LEMAIRE M, SCHYTS F, VANDERHEIJDEN N, MEYER G, DISPAS M, PASTORET PP. La rhinotrachéite Infectieuse Bovine : caractéristiques du virus, l'infection et ses manifestations cliniques. *Bulletin des GTV*, 1997, 4, 7-16

(25)= https://fr.wikivet.net/Herp%C3%A8svirus_Bovin_de_Type_5%20/anonyme

(26)= PASTORET, P. P., THIRY, E., BROCHIER, B. and DERBOVEN, G. Bovid Herpesvirus 1 infection of cattle: pathogenesis, latency, consequences of latency. *Ann. Rech. V*«, 1982, 13, 3, 221-235.

(27)= THIRY, E., DUBUISSON, J. and PASTORET, P. P. Pathogenesis, latency and reactivation of infections by herpesviruses. *Rev. sci. tech. Off int. Epiz*, 1986, 5, 4, 809-81

(28)= ROZIMAN, B and BAINES, J. La diversité et l'unité des herpesviridae. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1991, 14, 2, 63-79.

(29)= ROZIMANN, B., DESROSIERS, R. C., FLECKENSTEIN, B., LOPEZ, C., MINSON, A, C. and STUDDERT, M, J. /the family herpesviridae : an update. The herpesvirus Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses /*Arch, Virol.*, 1992, 123, 3-4, 425-449

(30)= INFECTION CROISE A ALPHAHERPESVIRUS CHEZ LES RUMINANTS : APPLICATION AU CONTROLE DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE /Thèse pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE, DIMPLOME D'ETAT présenté et soutenue publiquement en 2003 devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse par Hervé, Max, Louis CASSARD.

(31)= MENSİK, J., POSPISIL, Z., SUCHANKOVA, A., CEPICA, A., ROZOSNY, V. and MACHATKOVA, M. Activation of latent infectious bovine rhinotracheitis after experimental infection with parainfluenza 3 in young calves.

(32)= MSOLLA P.M., ALLAN E.M., SELMAN I.E., WISEMAN A. Reactivation and shedding of bovine herpesvirus 1 following *Dictocaulus viviparus* infection. *Journal of Comparative Pathology*, 1983, 93(2), 271-274.

(33)= PASTORET PP, AGUILAR-SETIEN A, BURTONBOY G, MAGER J, JETTEUR P, SCHONENAERS F. *Effet de la cyclophosphamide sur la latence du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovine Herpesvirus 1)*. *Ann. Med. Vet.*, 1980, 124, 55-67.

(34)= RABEYRIN Rhinotrachéite infectieuse bovine organisations des moyens de lutte dans le cadre d'une certification national/Thèse: Med. Vet: Lyon : 2007, 18p

(35)= TOMISHIMA MJ, ENQUIST LW. In vivo egress of an Alphaherpesvirus from axons / *J. Virol.* 2002, 76, 8310-8317

(36)= BOSCH JC, DE JONG MCM, FRANKEN P, FRANKENA K, HAGE JJ, KAASHOEK MJ *et al.*
An inactivated gE-negative marker vaccine and an experimental gD-subunit vaccine reduce the incidence of bovine herpesvirus 1 infections in the field. *Vaccine*, 1998, 16, 265-271.

(37)= MUYLKENS B, MEURENS F, SCHYNTS F, FARNIR F, POURCHET A, BARDIAU M *et al.*
Intraspecific bovine herpesvirus 1 recombinants carrying glycoprotein E deletion as a vaccine markers are virulent in cattle. *J. Gen. Virol.*, 2006, 87, 2149-2154.

(38)= BABIUK LA, VAN DRUNEN LITTLE-VAN DER HURK S, TIKOO SK. Immunologie de l'infection par l'herpesvirus bovin 1 *Vet. Microbiol.* 1996, 53, 31-42.

(39)= DENIS M, SPLITTER G, THIRY E, PASTORET PP, BABIUK LA. Infectious bovine rhinotracheitis (Bovine Herpesvirus 1): Helper T Cells, Cytotoxic T Cells and NK Cells. In: GODDEERIS BM, MORRISON WI. *Cell-mediated immunity in ruminants*. London, Tokyo, CRC Press, 1994, 157-172.

(40)= VAN DRUNEN LITTLE-VAN DER HURK S, VAN DONKERSGOED J, KOWALSKI J, DAN DEN HURK J, HARLAND R, BABIUK LA *et al.* A subunit gIV vaccine produced by transfect mammalian cells in culture, induces mucosal immunity against bovine herpesvirus 1 in cattle. *Vaccine*, 1994, 12, 1295-1302

(41) = CAMPOS M, GODSON DL, HUGHES HPA, BABIUK LA. *Cytokine applications in infectious diseases*. In: GODDEERIS B, MORRISONS O. *Cell-Mediated Immunity in Ruminants*. London, Tokyo, CRC Press, 1994, 229-240.

(42)= RIVERA-RIVAS JJ, KISIELA D, CZUPRYNSKI CJ. L'infection par l'Herpesvirus bovin de type 1 des cellules épithéliales bronchiques bovines a augmenté l'adhésion et l'activation des neutrophiles. *Immunologie vétérinaire et immunopathologie*, 2009, 131, 167-176.

(43)= DENIS M, THIRY E, PASTORER PP. La réponse immune des bovins envers le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. In : NAVETAT H, ESPINASSE J. Les infections à herpesvirus chez les bovins – Journée SFB et GRDEPV, Veyrier-du-Lac, 3 novembre 1994, Société Française de Buiatrie, Toulouse, 20-24.

(44)= DENIS M, HANON E, RIJSEWIJK FAM, KAASHOEK MJ, VAN OIRSCHOT JT, THIRY E *et al.* Le rôle des glycoprotéines gC, gE, gI et gG dans la réponse immunitaire induite par les cellules à l'herpesvirus bovin. *Vet. Microbiol.* 1996, 53, 121-132.

(45)= HUTCHINGS DL, VAN DRUNEN LITTLE-VAN DER HURK S, BABIUK LA. Réponses prolifératives de lymphocytes à des protéines distinctes de l'herpesvirus bovin 1 chez des bovins immunisés. *J. Virol.*, 1990, 64, 5114-5122.

(46)= LEARY TP, SPLITTER GA. Procédé d'identification rapide d'épitopes de lymphocytes Peptide Res., 1990, 3, 259-263

(47)= WELLENBERG GJ, VAN DER POEL WHM, VAN OIRSCHOT JT. Infections virales et mastite bovine: *a* review. *Vet. Microbiol.*, 2002, 88, 24-45.

(48)= GUERIN B. Le diagnostic de la rhinotrachéite infectieuse bovine et de la vulvo-vaginite Pustuleuse infectieuse. In : NAVETAT H, ESPINASSE J. Les infections à herpesvirus chez les Bovins – Journée SFB et GRDEPV, Veyrier-du-Lac, 3 novembre 1994, Société Française de Buiatrie, Toulouse, 25-38.

(49)= TRYBALA E., WISNIEWSKI J., KALICI M., (1993) - Evaluation of three serological tests and skin tests to diagnose IBR IPV virus infectious in cattle. *Bull. vét* 63, 30-31.

(50)= SAMAILLE, J-P ET THIBAUT J-C (27 novembre 1996) La vaccination contre l'IBR (1). *L'action Vétérinaire*, 1375, 52.

(51) = LE TALLEC, B. and GUERIN, B. Les vaccins contre la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Bulletin des GTV*, 2000, 6, 61-64.

(52)= PASTORET P.P VANNIER P., (1995)- La vaccination dans le contrôle des herpesviroses. Les entretiens de Bourgelat, Lyon, 1995, 13-23..

(53)= THIRY, E., LEMAIRE, M., SCHYNTS, F., V ANDERHEIJDEN, N., MEYER, G., DISPAS, M. And PASTORET, P. P. Les différents vaccins disponibles contre la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Bulletin des GTV*, 1997, 4, 69-75.

(54)= Bernard Geneviève, 2007.

(55)= Wentink et al. 1993; Van Scheik et al., 1998

(56)= EFSA-Q-2005-014 Institut de l'élevage bovin, été 08.

(57)= Association régionale de santé et d'identification animale (RSIA), 2004

(58)= Youngquist et Threlfall, 2007)

(59)= Noordegraaf, 1998

(60)= Castrucci et al., 2000

(61)= Patel, 2005

(62)= Seal, 2007

(63)= Boelaert, Speybroeck et al. 2005

(64)= Straub, 1991

(65)= Bulletin des GTV, 1997

(66)= Clavet, 2007

Annexes

Annexe 1 réactifs Elisa :

Il faut stocker tous les réactifs entre 2 et 8°C

| Numéro de produit | Le réactif | Quantité | Quantité |
|-------------------|---|----------|----------|
| 1 | Plaques sensibilisées avec des antigènes du BHV-1 | 5 | 10 |
| 2 | Contrôle positif | 2ml | 2ml |
| 3 | Contrôle négatif | 2ml | 2ml |
| 4a | Conjugué concentré | 1,5ml | 1,5ml |
| 4b | Tampon de dilution N°1 | 120ml | 120ml |
| 5 | Tampon de dilution N°2 | 120ml | 2x120ml |
| A | Substrat TMB N°9 | 60ml | 120ml |
| B | Solution d'arrêt N°3 | 60ml | 120ml |
| C | Solution de lavage concentrée (20x) | 100ml | 2x100ml |

Matériel nécessaire :

- Centrifugeuse à 2.000 x g
- Agitateur (Type Vortex)
- Micropipettes et pipette multicanaux (la précision requise pour la mesure des volumes indiqués au « mode opératoire » doit être de + ou – 5%.
- Embouts de pipettes à usage unique.
- Agitateur de microplaques.
- Eau distillée et déminéralisée.
- Système de lavage manuel, semi automatique ou automatique.
- Couvercles adhésifs pour les microplaques.
- Lecteur de microplaques équipé d'un filtre à 450nm.
- Incubateur de plaques à 37°C + ou – 3°C

Mise en garde des précaution d'emploi :

- Ne pas pipeter les réactifs à bouche.
- Porter des gants de protection.

- Les contrôles, le substrat TMB et la solution de lavage concentrée (20x) peuvent provoquer des irritations des yeux.
- La solution d'arrêt provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
- Décontaminer l'ensemble du matériel intervenant dans la manipulation avant élimination. Éliminer l'ensemble du matériel selon la réglementation en vigueur.

Préparation des réactifs :

Solution de lavage :

Diluer la solution de lavage concentré (20x) au 1/20 dans de l'eau distillée / déminéralisée avant utilisation.

NB : Remettre la solution de lavage concentré (20x) à 18-26°C et bien homogénéiser pour assurer la dissolution complète d'éventuels cristaux. La solution de lavage est stable pendant trois jours à 2-8°C.

Conjugué

Diluer le conjugué le concentré au 1/100 dans le tampon de dilution N°1.

Note : le conjugué dilué est stable pendant 8 heures à 18-26°C.

Annexe 2 séroneutralisation virale

Matériel utilisé :

- Bain- marie thermostaté à 56°C + ou – 1 (décomplimentation SVF).
- Bain-marie thermostaté à 59°C + ou – 1 (décomplimentation des sérums à étudier).
- Poste de sécurité microbiologique (PSM) de niveau II.
- Plaque de microfiltration à fond plat, stériles, avec couvercle et traitée pour la culture cellulaire.
- Gouttière stériles à réactif.
- Etuve à 37°C + ou – 2°C à 5% Co₂ + ou – 1%.
- Réfrigérateur (5 % + ou – 3°C).
- Microscope inversé.
- Pipettes et micropipettes.
- Centrifugeuse de microtubes.

Réactifs utilisés :

- Milieu de culture (MEM) supplémenté en sels e Earl, glutamine et acides aminés non essentiels.
- Trypsine-EDTA.
- Si nécessaire, une solution de pénicilline-streptomycine est utilisée à une concentration maximale de 1%. Elle est conservée à une température ≤ – 16 °C.
- Cellule Madin-Darby bovine kidney (MDBK) sensibles au BHV-1.
- Sérum de veau foetal, inactivé 30 min à 56°C + ou – 1°C, indemne de peste virus, de BHV-1, et indemne des anticorps dirigé contre ces virus.
- Sérum de contrôle positif : Ref 46 (sous étalon français des sérums OIE EU2).
- Sérum de contrôle négatif : 9355.
- Membrane de filtration type « Spin colonne ».