



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 sérologique de la Border Disease dans la région de Bou Saada
Wilaya de M'Sila**

Présenté par

TAHRI Mohamed

BEN SALEM Tahar Khalil

Devant le jury :

Président(e) : Mme EZZEROUG Rym MAB ISV.Blida

Examineur : Mr KHALED Hamza MCB ISV.Blida

Promotrice : Mme FEKNOUS Naouel MAA ISV.Blida

Année : 2016

Dédicace

*Avec un grand amour et beaucoup de respect, je dédie ce
travail à mes parents :*

Mon très cher père " Mokhtar",

*L'homme qui a tellement sacrifié pour moi et qui mérite toute
ma reconnaissance.*

Ma très chère mère " Fatima Zohra",

*Pour son grand cœur plein d'amour, qui n'a pas cessé de prier
pour moi,*

A mes frères et ma sœur.

A toute ma famille.

A mes amis et collègues et à tous ceux que j'aime.

TAHRI Mohamed.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents " Djamel & Nacira",, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement contenu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

Mes chers frères : Zahra, Asma, Brahim, Islam pour leur grand amour et leur soutien.

*Mes chers amis et collègues qui sans leur encouragement ce travail n'aura jamais vu le jour.
Et à toute ma famille et à tous ceux que j'aime.*

BEN SALEM Tahar Khalil.

Résumé :

La maladie des frontières est une maladie virale touchant les ovins, causée par un Pestivirus de la famille des Flaviviridae. Elle provoque des avortements, des stérilités chez les brebis et des mortalités et naissance des agneaux chétifs. Une enquête sur terrain auprès des éleveurs et des vétérinaires a été réalisée, ainsi que 100 prélèvements de sang et de sérum qui ont été prélevés au niveau de 6 cheptels ovins. Le traitement des prélèvements a été fait au niveau du laboratoire de virologie, CODA CERVA.

Les résultats ont révélés la non connaissance de la maladie par les vétérinaires et les éleveurs avec un taux d'avortements qui varie entre 1 et 16.67%.

La sérologie a révélé une séroprévalence de 45%.

Mots clés : maladie des frontières, ovins, pestivirus, avortement, agneaux chétifs, sérologie.

Abstract:

Border disease is a viral disease-affecting sheep, caused by a Pestivirus of the Flaviviridae family. It causes abortions, infertility in sheep, stillbirths, and birth of weak lambs. An investigation on land from farmers and veterinarians was made and 100 blood and serum samples that were taken at six sheep flocks. The processing of results was done in the laboratory of virology, CODA CERVA.

The results revealed the lack of knowledge of the disease by veterinarians and breeders, Abortions with a rate that varies between 1 and 16.67%.

Serology revealed a prevalence of 45%.

Keywords: border disease, sheep, pestivirus, abortion, weak lambs, serology.

ملخص

مرض الحدود هو مرض فيروسي يصيب الأغنام. يسببه فيروس Pestivirus من عائلة Flaviviridae. ويسبب حالات إجهاض والعمى لدى الأغنام وموت الجنين أثناء الولادة وكذلك ولادة الحملان الضعيفة. ولقد تم إجراء تحقيق ميداني مع المزارعين والأطباء البيطريين وتم كذلك نزع مئة عينة دم ومصل من ستة قطعان وتمت معالجة النتائج بمختبر علم الفيروسات CODA CERVA .

كما كشف التحقيق عدم معرفة الأطباء و الفلاحين لهذا المرض كما أن نسبة الإجهاض تتراوح بين 1 بالمئة و16.67 بالمئة.

وابانت نتائج التحاليل على المصل وجود انتشار بنسبة 45 بالمئة.

كلمات البحث: مرض الحدود. الأغنام. الإجهاض. الحملان الضعيفة. الأمصال .

Liste des abréviations :

ARN : Acide Désoxyribonucléique

BD : Border Disease

BDV : Virus de la Border Disease

BVD : Diarrhée Virale Bovine

BVDV : Virus de la Diarrhée Virale Bovine

EDTA : Ethylène – Diamine – Tétra – Acétique

ELISA : Enzym Linked Immuno-Sorbent Assay

IBR : Infectious Bovine Rhinotracheitis ou Rhinotrachéite Infectieuse Bovine

IPI : Infecté Permanent Immunotolérant

OIE : Office International des Epizooties

PCR : Polymerase Chain Reaction

RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

Liste des figures :

Figure 1 : Mode de transmission de la Border Disease au sein d'un effectif d'ovins.....	05
Figure2 : Pathogenèse de l'infection du fœtus ovin par le virus BD selon le moment de gestation.....	09
Figure 3 : L'état de connaissance des vétérinaires à la BD.....	24
Figure 4 : clinique de la BD.....	25
Figure 5 : l'existence de nombre élevé d'avortement.....	25
Figure 6 : l'avortement par rapport au stade de gestation.....	26
Figure 7 : l'opinion des vétérinaires à l'incidence des taux d'avortement.....	27
Figure8 : la présence de la mortalité brusque chez les adultes.....	27
Figure9 : l'appel des éleveurs aux vétérinaires en cas d'avortement.....	28
Figure10 : les ateliers de l'exploitation.....	30
Figure11 : la cohabitation et les mouvements des animaux.....	31
Figure12 : les types du renouvellement.....	31
Figure13 : l'engraissement des agneaux.....	32
Figure14 : le risque d'introduction de la BD.....	33
Figure15 : mode de reproduction et présence des avortements.....	33
Figure16 : origine et location des béliers.....	34
Figure 17 : la présence des épisodes clinique de la BD.....	35
Figure 18 : les résultats du test sérologique.....	41
Figure 19 : carte de la région d'étude.....	51

Liste des photos :

Photo n° 1 : centrifugeuse de marque nuve NF200	38
Photo n° 2 : micropipette et des plaques à étui destinés à test ELISA.....	38

Liste des tableaux :

Tableau1 : nombre d'ovin et éleveurs selon la campagne de vaccination anti-claveuse 2015.....	23
Tableau2 : les ateliers de l'exploitation.	30
Tableau3 : cohabitation et mouvement des animaux.....	31
Tableau 4 : le nombre de mise bas et le nombre d'avortement dans chaque élevage.....	33
Tableau 5 : les nombres d'animaux et des prélèvements dans chaque élevage.....	37
Tableau 6 : résultats de test ELISA selon l'organisation dans les plaques à étui.....	40
Tableau 7 : résultats de test ELISA selon l'organisation dans les plaques à étui.....	40
Tableau 8 : calcule des résultats.....	41

Sommaire

Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Partie Bibliographique	02
1 .Etiologie.....	02
1.1. Taxonomie	02
1.2. Caractères morphologiques et structuraux	02
1.3. Souches virales et pouvoir pathogène	02
1.4. Pouvoir antigène et cinétique de production des anticorps	03
1.5. Spectre d'hôtes et infections interspécifiques	03
2. Modes de transmission.....	05
2.1. Transmission entre animaux	05
2.2. Transmission entre élevages	06
3. Clinique	07
3.1. Pathogénèse	07
3.1.1. Infection durant la gestation	07
3.1.2 Infection postnatale	09
3.2. Symptômes	10
a. Chez les brebis	10
b. Chez les agneaux	10
3.3. Lésions.....	11
4. Diagnostic.....	12
4.1. Diagnostic différentiel	12
4.2. Diagnostic clinique et nécropsique	12
4.3. Diagnostic expérimental.....	13
4.3.1. Identification de l'agent pathogène	13
a. Détection de l'antigène par ELISA	13
b. Méthodes de reconnaissance de l'acide nucléique	13
4.3.2. Épreuves sérologiques	14
a. Test de séro-neutralisation virale	15
b. Méthode immuno-enzymatique	17

5. Prophylaxie	19
6. Méthodes de lutte	19
6.1. Mesures sanitaires.....	19
6.2. Mesures médicales	20
7. L'importance d'élevage ovin en Algérie	21
7.1. Importance de l'effectif	21
7.2. Distribution géographique	21
7.3. Principales races ovines algériennes	21
Partie expérimentale.....	22
Problématique.....	22
L'importance d'élevage ovin dans la région de Bou Saada	23
8.1. Effectif du cheptel ovin et distribution	23
8.2. Race exploitée	23
Partie 1 : le questionnaire	24
Méthodes	24
Résultats	24
Discussion	28
Etat de connaissance des vétérinaires à la BD.....	28
Présence de la maladie cliniquement	28
Conduite adoptée par l'éleveur lorsqu' il y a des avortements dans son cheptel	29
Partie 2 : Enquête des élevages	30
Méthodes	30
Résultats	30
Ateliers	30
Mouvements d'animaux	31
Engraissement	32
Risque d'introduction du BD dans l'exploitation	32
Gestion de la reproduction	33
Antécédents de l'élevage	34
Discussion	35
Partie 3 : population cible et échantillonnage	37
Objectifs	37
Animaux concernés	37
Nature et réalisation et acheminement des prélèvements	37

Recherche d'anticorps contre la border disease	38
Matériels	38
Mode opératoire	38
Kit de détection des anticorps anti-bvd/bd chez les ruminants.....	39
Interprétation	40
Résultats	40
Présentation des résultats.....	41
Discussion.....	41
Conclusion.....	43
Références.....	44
Annexes.....	51

INTRODUCTION

La Border Disease (ou maladie de la frontière) est la principale infection congénitale d'origine virale qui touche les ovins et les caprins. Elle a été décrite pour la première fois en 1959 dans la région frontalière séparant Le Pays de Galles de l'Angleterre d'où son nom [Hughes 1959]. Par la suite sa présence fut rapportée en Californie, en Grèce, en République Fédérale d'Allemagne, en Suisse, en Irlande, en Nouvelle Zélande [Manktelow 1969], au Canada [Darcel 1961]... En France, elle a été décrite pour la première fois en 1984 [Brugère-Picoux 1984], mais était en fait présente depuis longtemps et désignée sous de nombreux noms tels que : entérite-leucopénie ovine ou agneaux bourrus ou trembleurs. Deux formes cliniques distinctes ont pu être mises en évidence : une forme classique, la plus courante et une forme grave de cette affection, plus rare comme la « petega ovina » ou « Aveyronite » décrite dans les années 1980 dans le bassin de Roquefort. [Loubière, Angélique 2012].

Actuellement, le virus présente une répartition géographique large, affectant le monde entier, avec des taux de prévalence variant d'un pays à l'autre mais aussi d'une région à l'autre au sein d'un même pays [Krametter-Frotscher 2007]. Cette prévalence peut atteindre 80% dans certaines zones [Krametter-Frotscher 2007]. Mais, évoluant souvent à bas bruit dans les élevages contaminés, cette pathologie passe inaperçue dans de nombreux cas [Loubière, Angélique 2012].

La Border Disease présente de nombreuses appellations différentes faisant pour la plupart référence aux symptômes qu'elle provoque [Brugère-Picoux 1984] : « hairy shaker disease » ou maladie des trembleurs hirsutes, « fuzzy lamb » ou maladie des agneaux bourrus, « congenital trembling » (tremblement congénital), « hypomyelinogenesis congenita » (hypomyélinogénèse congénitale), « transmissible congenital demyelinating encephalopathy » (encéphalopathie démyélinisante congénitale transmissible), « ovine pestivirus disease » ou pestivirose ovine... [Loubière, Angélique 2012].

Les répercussions économiques qu'elle engendre sont non négligeables mais varient en fonction de la souche et des finalités économiques de l'élevage. Ainsi, les troubles de la reproduction (infertilité, avortements, ...), la mortalité, la naissance d'agneaux chétifs ou malades (tremblements, conformation anormale, toison hirsute) qui sont atteints lorsqu'ils survivent de retards de croissance, peuvent porter atteinte à la viabilité économique de l'élevage.

En Algérie notre étude est le 1^{er} travail sur cette maladie qui s'intéresse à l'agent de la Border Disease, Pestivirus, chez les ovins et pour déterminer la prévalence de ce virus dans la région de Bou Saada.

Partie bibliographique

Partie Bibliographique :

1 – Etiologie :

1.1 – Taxonomie :

Le virus de la BD (« BDV » en anglais) est un Pestivirus de la famille des Flaviviridae étroitement apparenté au virus de la peste porcine classique et au BVDV [Manuel terrestre de l'OIE 2005]. Le virus existe sous de nombreuses souches de biotype non cytopathogène. Exceptionnellement des biotypes cytopathogènes peuvent être isolés [nettelton 1998].

1.2 – Caractères morphologiques et structuraux :

C'est un petit virus sphérique de 40 à 50 nm de diamètre. Son matériel génétique est constitué d'un unique fragment d'ARN monocaténaire d'environ 12 à 13 kb, situé dans une capsidie icosaédrique entourée d'une enveloppe lipoprotéique. Communément aux virus à ARN, les Pestivirus se caractérisent par une variabilité génétique considérable. [Loubière, Angélique2012].

Ce virus enveloppé présente une faible résistance dans le milieu extérieur mais conserve tout de même sa virulence pendant 6 jours à +4°C. Il est sensible aux désinfectants usuels, aux solvants organiques (éther, chloroforme), à la chaleur (températures supérieures à 56°C), à la dessiccation, aux pH acides et aux ultra-violets. En revanche, il résiste à la congélation donc la semence destinée à l'insémination artificielle conserve sa virulence. Sa résistance dans le milieu extérieur est généralement de quelques semaines (10 jours dans le fumier) et n'excède pas un an. [Loubière, Angélique2012]

1.3– Souches virales et pouvoir pathogène :

Deux biotypes de BDV peuvent être distingués : le biotype cytopathogène (cp) et le biotype non cytopathogène (ncp). Le virus existe sous de nombreuses souches de biotype non cytopathogène et exceptionnellement, des biotypes cytopathogènes peuvent être isolés chez des ovins infectés de façon permanente par le BDV, dans un contexte de maladie ressemblant à la maladie des muqueuses des bovins [Loubière, Angélique2012].

Seule la forme non cytopathogène peut être responsable d'une infection permanente, possède la capacité de traverser la barrière placentaire et peut provoquer une virémie. Elle se localise préférentiellement au niveau de la peau, du tissu nerveux et des cellules du système immunitaire (entraînant une lymphopénie transitoire ainsi qu'une leucopénie) contrairement à

la forme cytopathogène qui présente une affinité pour les muqueuses [Loubière, Angélique2012].

A l'échelle moléculaire, la forme cytopathogène se caractérise par deux petites protéines: NS2 et NS3 résultant du clivage de la protéine non structurale NS2-3 présente dans la forme non cytopathogène [Loubière, Angélique2012].

Le pouvoir pathogène, quant à lui, varie en fonction de la souche et de sa virulence [Nettleton 1992, Houe 1999]. Par exemple, la souche Aveyronite avait une virulence bien supérieure à celle de la souche classique de Border Disease.

1.4 – Pouvoir antigène et cinétique de production des anticorps :

Dès la deuxième semaine suivant l'infection, les anticorps séroneutralisants apparaissent chez les ovins contaminés. Ils atteignent un plateau vers la 10ème semaine et persistent jusqu'à 3 ans. Les anticorps fixant le complément apparaissent entre le 11ème et le 35ème jour post inoculation [Garcia-Perez 2009], atteignent un plateau entre le 40ème et le 80ème jour et persistent au moins 3 mois. Quant aux anticorps précipitants, ils sont d'apparition plus tardive : vers le 30^{ème} au 40^{ème} jour après le contact contaminant.

Les anticorps maternels dirigés contre le BDV présents dans le colostrum peuvent persister 6 à 8 mois chez un agneau non infecté permanent immunotolérant (IPI), contre moins de 2 mois chez un agneau IPI. Chez ces derniers, les anticorps colostraux peuvent réduire la virémie et l'excrétion virale.

Il existe une protection croisée entre les différentes souches virales de Border Disease mais elle est dépendante de la parenté antigénique des souches en question. De même, il existe une protection croisée avec le BVDV pour certaines souches virales de Border Disease [Loubière, Angélique2012].

1.5 – Spectre d'hôtes et infections interspécifiques :

Les principales espèces touchées par les pestivirus sont les porcs, les bovins, les ovins et les caprins. Cependant, des pestivirus ont aussi été mis en évidence chez le cerf, le chameau [Passler 2009], le lama [Evermann 2006], le chamois [Olde Riekerink 2005], l'isard [Arnal 2004] ou le buffle.

La Border Disease, quant à elle, affecte plus particulièrement les ovins. Elle est plus rare chez les caprins, chez lesquels elle se traduit surtout par des avortements [Loken 1991]. Parmi les espèces sauvages, l'isard apparaît particulièrement sensible à la Border Disease [Arnal 2004].

Expérimentalement, des infections croisées ont pu être réalisées chez les bovins, les ovins, les caprins et les porcs [Vilcek 1993, Broaddus 2009]. Ainsi, des études ont montré que l'inoculation expérimentale de brebis gravides avec un virus BVD pouvait entraîner des avortements, et la naissance d'agneaux présentant tous les signes caractéristiques de la Border Disease [Barlow 1980, Loken 1991, Scherer 2001].

Mais des cas de transmission naturelle ont aussi été mis en évidence [Carlsson 1991].

Les pestivirus isolés chez les ovins ne sont donc pas tous des Border Disease Virus. Par exemple, une étude s'est intéressée à 53 pestivirus isolés chez des moutons : 31 se sont révélés être des BDV, 13 des BVDV1 et 9 des BVDV 2 [Giangaspero et al 1999]. Des résultats similaires ont été obtenus en Autriche [Paton 1995, Krametter-Frotscher 2007]. Cela a une importance toute particulière sur le plan épidémiologique car ces études montrent que les ovins peuvent se contaminer à partir d'un Pestivirus d'origine bovine. Ainsi, lorsque plusieurs de ces espèces sont élevées ensemble, certaines souches de Pestivirus peuvent générer des infections interspécifiques [Loubière, Angélique 2012].

Cependant, dans les conditions habituelles d'élevage, pour les ovins, le danger provient essentiellement des bovins IPI, surtout si une transhumance commune aux ovins et aux bovins est pratiquée [Krametter-Frotscher 2007].

Enfin, une contamination via des ruminants sauvages ne peut pas être exclue [Vilcek 2006] car des Pestivirus ont été isolés chez des chevreuils, des cerfs, des daims et des isards [Passler 2009, Krametter 2004, Arnal 2004].

2 – Modes de transmission :

2.1. Transmission entre animaux :

Le BDV se transmet essentiellement entre ovins par voie oro-nasale, mais la transmission verticale joue aussi un rôle très important dans l'épidémiologie de cette affection (figure1).

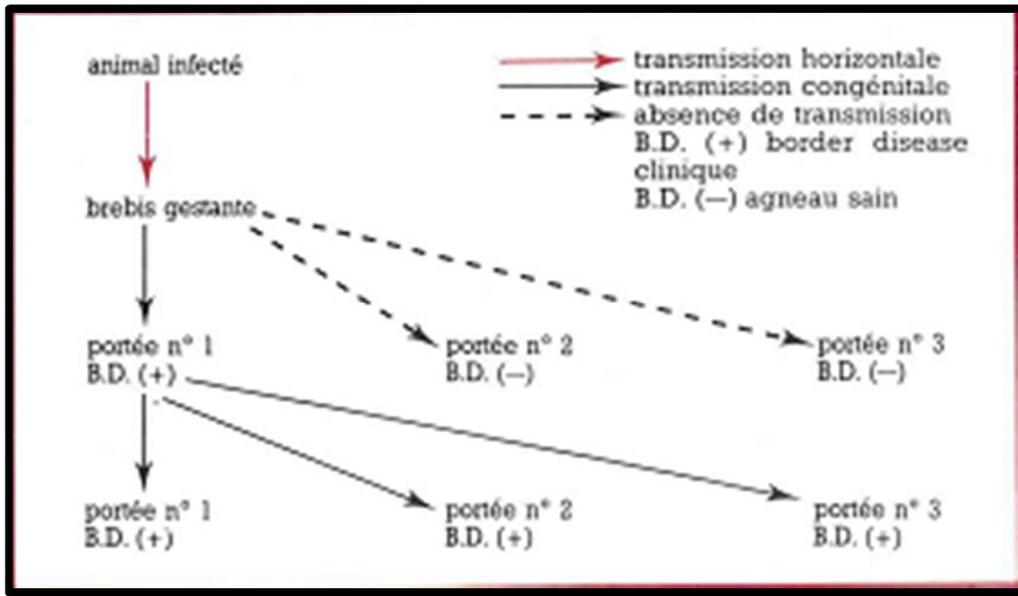


Figure 1 : Mode de transmission de la Border Disease au sein d'un effectif d'ovins [Eloit, 1983].

- **La voie horizontale directe :** par l'ingestion ou l'inhalation de matières virulentes telles que les sécrétions nasales ou oculaires, le sang, la salive, le lait ou les produits d'avortements. Les matières fécales ne se révèlent être contaminantes que durant la phase clinique de la maladie. La voie génitale est aussi une voie de contamination via les sécrétions vaginales, le sperme [Gardiner 1981] ou le transfert d'embryon [Kirkland 1990].

- **La voie verticale :** la mère viropositive transmet le virus au fœtus par voie transplacentaire. La voie verticale joue un rôle prépondérant dans l'épidémiologie de la maladie car l'infection d'une brebis gravide peut entraîner la naissance d'un agneau infecté permanent immunotolérant (IPI). Or, parmi les sources de virus, la plus importante de toutes reste les animaux IPI. Ils sont porteurs du virus tout au long de leur vie et l'excrètent en permanence, sans pour autant exprimer les signes cliniques de la maladie : ils peuvent donc contaminer à la fois leur descendance (une brebis IPI a une fertilité réduite mais donne systématiquement naissance à des agneaux IPI) mais aussi les autres animaux du troupeau par voie horizontale [Barlow 1980].

- **La voie horizontale indirecte** : par l'intermédiaire de l'auge, de la litière ou du matériel d'élevage [Niskanen 2003, Nettleton 1995] voire par des insectes piqueurs [Gunn 1993, Tarry 1991].

Cependant, il ne faut pas oublier qu'il existe une autre source de contamination bien que peu fréquente : des bovins IPI pour le virus du BVD peuvent constituer une cause d'apparition de cas de Border Disease dans un effectif d'ovins sains si le bovin IPI est élevé en contact étroit avec ces derniers [Carlsson 1991].

Des cas de transmission plus anecdotiques, par voie iatrogène (injections à l'aide de matériel contaminé ou utilisation de vaccins à virus vivant contaminés par un pestivirus [Loken 1991, Niskanen 2003], ont aussi été décrits.

2.2. Transmission entre élevages :

Les signes sont particulièrement marqués lors de l'introduction d'un animal porteur du virus dans un élevage indemne : les brebis en gestation peuvent alors être touchées par une vague d'avortements ou produisent des agneaux IPI qui perpétuent la circulation virale au sein du troupeau. C'est souvent l'introduction d'un animal IPI qui provoque une épizootie particulièrement spectaculaire dans le troupeau.

La prévalence de cette affection varie de 5 à 50% et est plus importante dans les zones d'élevage à forte densité en ovins, notamment dans les zones d'élevage intensif. La prévalence de la Border Disease dans une région donnée semble aussi être reliée aux pratiques d'élevage et au climat [Tabbaa 1995] : l'existence d'une transhumance favorisant les contacts entre animaux de statut différent augmenterait la prévalence de la maladie, alors qu'un climat sec limiterait la dissémination virale en raison de la faible résistance du virus à la dessiccation.

3. Clinique :

3.1. Pathogénèse :

3.1.1. Infection durant la gestation :

L'infection de la brebis gravide est subclinique, mais le virus gagne le placenta et infecte le fœtus en une semaine. L'issue de l'infection foetale dépend de la souche, de la dose de virus et du stade de gestation au moment de l'infection [Barlow 1982]. En effet, le système immunitaire du fœtus ovin ne peut répondre à une première stimulation antigénique qu'aux alentours du 60^{ème} ou 80^{ème} jour sur les 150 que dure la gestation [Nettleton 1998].

a. Infection avant 60 à 80 jours :

L'infection de l'embryon ou du fœtus de moins de 60 à 80 jours provoque la mort embryonnaire ou fœtale dans 50 p. cent des cas [Nettleton 1998]. La résorption fœtale ou l'avortement précoce peut passer inaperçu. D'autre part, le fœtus peut être momifié et l'avortement peut survenir tardivement par rapport au moment de l'infection. Dans les autres cas, les fœtus résistent à l'infection aiguë mais développent une infection persistante. Le virus est alors disséminé dans tous leurs organes [Nettleton 1998].

Les agneaux qui naissent sont ainsi porteurs persistants ou infectés persistants immunotolérants (IPI). Un examen de sang chez le nouveau-né, avant la prise colostrale, montre la présence du virus mais l'absence d'anticorps [Nettleton 1998].

Ils ont un sort différent selon la virulence de la souche. En effet, les souches très virulentes provoquent une déficience en myéline dans le système nerveux central, ce qui explique les tremblements, et une augmentation du nombre de follicules pileux primaires, responsable de l'aspect hirsute des agneaux atteints. Au contraire, les souches peu virulentes installent une infection persistante sans aucun signe clinique. Les agneaux sont IPI et le restent toute leur vie [Nettleton 1995, Nettleton 1998].

En général, ils grandissent moins et moins vite que la normale et représentent des non-valeurs économiques [Nettleton 1998].

Par ailleurs, la virémie est généralement aisément détectable sauf dans les deux premiers mois de vie où le virus est masqué par les anticorps colostraux [Nettleton 1992].

b. Infection aux alentours de 60 à 80 jours :

L'issue est moins prédictible lorsque l'infection se produit aux alentours de 60 à 80 jours, alors que le système immunitaire se développe. Les mortalités foetales sont plus rares. Certains agneaux naissent IPI et sont séronégatifs, alors que d'autres sont séropositifs. La faible virulence de certaines souches virales explique que des agneaux IPI ne montrent presque pas de signes cliniques [Nettleton 1990, Nettleton 1995, Nettleton 1998].

D'autres IPI présentent un syndrome de dépérissement chronique, ou souffrent de jetage oculo-nasal associé à de la détresse respiratoire. Enfin, une autre catégorie de moutons IPI meurt après deux à quatre semaines de diarrhée profuse. Dans ce dernier cas, une souche de virus cytopathogène est isolée et l'on considère que ce syndrome est très semblable à la maladie des muqueuses des bovins [Nettleton 1998].

Chez les agneaux qui naissent séropositifs, des anomalies congénitales, telles que l'hypoplasie cérébelleuse ou des déviations et des déformations des membres sont observées. A la naissance, ces agneaux souffrent de graves troubles locomoteurs et possèdent souvent des taux élevés d'anticorps spécifiques. La faible virulence de certaines souches virales explique que des agneaux infectés de manière persistante ne montrent presque pas de signes cliniques [Thiry.E 2002].

c. Infection après 80 jours :

Après 80 jours de gestation, l'infection fœtale est contrôlée par la réponse immune. La mort fœtale est rare de même que la mortinatalité consécutive à une infection en fin de gestation. Généralement, l'agneau naît en bonne santé, sans virémie et avec des anticorps spécifiques. Chez ces agneaux, l'antigène viral peut persister jusqu'à un an dans des zones d'artérite nodulaire au niveau de petites et moyennes artères du système nerveux central et d'autres organes. Ces lésions sont probablement dues à une réponse immune de type cellulaire [Hussin 1994, Nettleton 1990, Nettleton 1995].

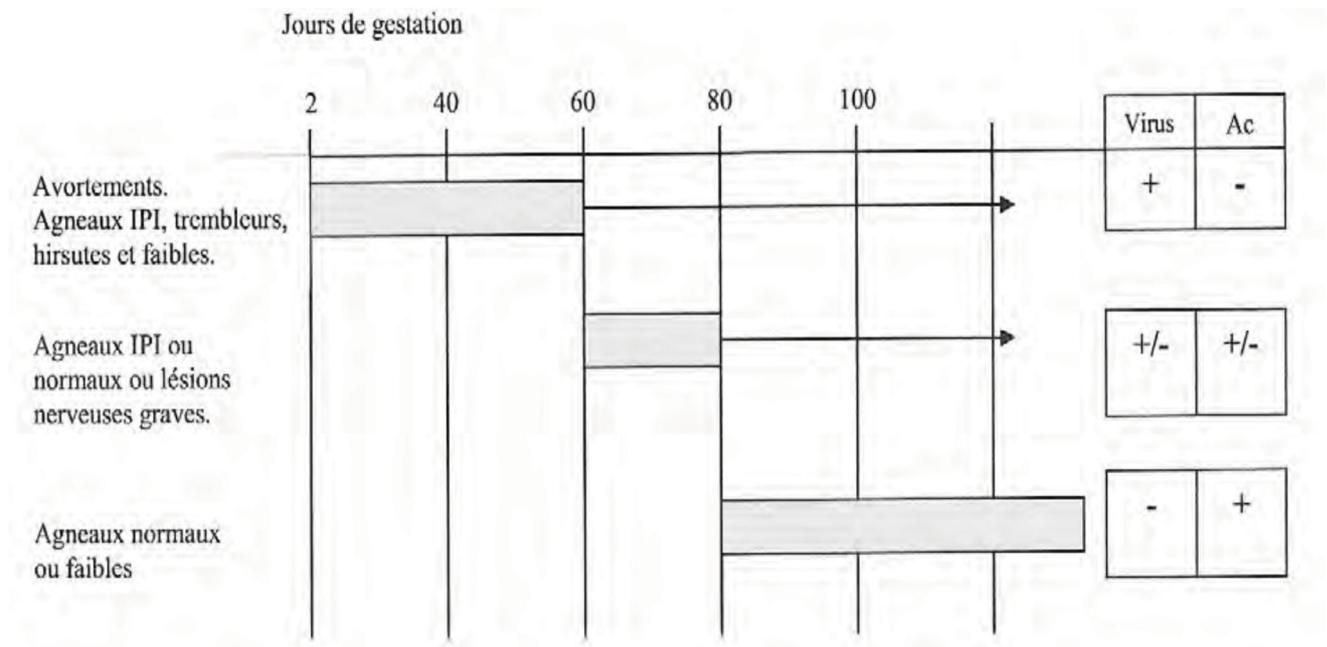


Figure 2 : Pathogénèse de l'infection du fœtus ovin par le virus BD selon le moment de gestation [Reynal 2004]

3.1.2 Infection postnatale :

L'infection postnatale d'un nouveau-né en bonne santé ou d'un adulte est habituellement subclinique. Une légère hyperthermie et une leucopénie due à une diminution des lymphocytes B et T sont observées durant la période de virémie, à savoir 3 à 14 jours après l'infection [Nettleton 1998, Thiry. E 2002]. Elles disparaissent rapidement avec le développement d'une réponse immune protectrice [Barlow R. M.1980, Nettleton 1998, Thabti F. 2002] et les hauts niveaux d'anticorps neutralisants persistent pendant au moins un an [Barlow R. M. 1980].

Lors de la période de virémie, des *Pestivirus* peuvent être isolés à partir de cellules mononuclées du sang périphérique [Nettleton 1995, Thabti F 2002]. Une grave épidémie s'est cependant déclarée en France en 1983 à la suite d'infections postnatales par des souches de virulence élevée. En effet, les virus isolés durant «l'épidémie d'Aveyronite » étaient associés à des cas d'entéocolite et de syndrome hémorragique accompagnés de leucopénie [Chappuis G 1984, Russo P 1986]. Une de ces souches provoque d'ailleurs un taux de mortalité de 50 p. cent chez les agneaux de trois à cinq mois après infection postnatale expérimentale [Nettleton 1998].

3.2. Symptômes :

a. Chez les brebis :

-**Souche virulente** : asthénie générale, baisse d'appétit et de production lactée. Après 5 à 6 jours d'évolution : hyperthermie (> 41 °) sur certains animaux pendant 2 à 5 jours puis hypothermie qui précède la mort. Le plus souvent : diarrhée profuse et très liquide, nauséabonde, noirâtre parfois hémorragique. Jetage et épistaxis (3 % des cas). Taux de mortalité : 5 à 20 %. [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998]

-**Souche moins virulente** : troubles de la reproduction. Avortements embryonnaires et précoces (écoulements brunâtres au niveau de la vulve) et forts taux de brebis vides. Les avortements peuvent survenir aussi dans le dernier tiers de la gestation avec expulsion de fœtus plus ou moins momifiés [Paul MONDOLY. Céline POUGET, 1998].

b. Chez les agneaux :

- Forte morbidité (jusqu'à 100%) et forte mortalité (15 à 95 % !). Les agneaux IPI *et* les agneaux infectés transitoires sont malades. Les symptômes apparaissent en moyenne 7 à 10 jours après la naissance ou à l'entrée en atelier d'engraissement.

Les plus fréquents sont : hyperthermie, perte d'appétit avec asthénie, amaigrissement, troubles pulmonaires, ecthyma buccal +/- surinfecté et diarrhée (jusqu'à 50 % des cas). Parfois épistaxis (3 %). Complications d'épérythrozoonose [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998].

- Naissance d'agneaux normaux, des mort-nés et des agneaux faibles et petits qui présentent certaines anomalies : membres courts et fins avec arthrogrypose des genoux et des jarrets, Membres trop longs et faiblesse des paturons, dos arqué, mâchoire inférieure raccourcie, front bombé, amaurose, nystagmus avec démarche en "chameau", incisives apparaissant tardivement et de couleur anormale, tremblements (agneaux trembleurs) [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998].

Les tremblements n'existent plus à partir de l'âge de 20 semaines environ,- anomalies de la toison et de la peau (poils de Jarre, coloration anormale (agneaux hirsutes), dermatite, mort rapide en allaitement ou au sevrage. Les survivants à cette épisode pathologique : retard de croissance important, sensibilité aux maladies intercurrentes (digestives, respiratoires, ecthyma) [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998].

3.3. Lésions :

- **Chez les brebis :** lésions hémorragiques de la muqueuse de la caillette, de l'intestin grêle et du côlon spiral (pétéchies alignées en coup de griffe). Hypertrophie des ganglions mésentériques, splénomégalie (dans 25 % des cas) et pétéchies sur les épiploons [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998].
- **Sur les brebis pleines :** lésions de nécrose au niveau du placenta. Souvent fœtus momifiés [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998].
- **Chez les fœtus atteints avant 80-85 jours :** anomalies de la toison et de l'ossification, hypomyélogenèse du système nerveux sans lésions inflammatoires. Parfois lésions de typhlocolite (forte infiltration Lymphoïde de la muqueuse et sous-muqueuse) [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998].
- **Sur les fœtus atteints après 85 Jours de gestation :** lésions de périartérite du système nerveux central. À l'autopsie : hydrocéphalies et hypoplasies cérébelleuses [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998].
- **Sur les agneaux :** lésions d'entérite ± hémorragique, hypertrophie des ganglions mésentériques, splénomégalie, congestion du thymus, pneumonies, et des stomatites sévères avec déformation des lèvres en plateau (ecthyma) [Paul MONDOLY. Céline POUGET 1998].

4. Diagnostic :

4.1. Diagnostic différentiel :

Le diagnostic différentiel doit inclure les autres causes d'avortements (fièvre Q, brucellose, chlamydie, toxoplasmose, salmonellose à *S. abortus*...) ainsi que l'ataxie enzootique (carence en cuivre provoquant des anomalies de la toison et des troubles nerveux), la maladie de l'agneau stupide, les méningo-encéphalites bactériennes, l'hypothermie [Loubière, Angélique2012]

4.2. Diagnostic clinique et nécropsique :

La clinique ne permet pas, à elle seule, de poser un diagnostic de certitude, mais elle peut permettre de s'orienter vers la Border Disease par l'observation de certains signes cliniques tels qu'une baisse de la fertilité, une augmentation de la mortalité périnatale, un nombre anormalement élevé d'avortements et d'agneaux malformés, chétifs, trembleurs ou avec une toison hirsute. Pour confirmer cette suspicion il est fortement recommandé d'avoir recours à des examens de laboratoire. Il est important de remarquer qu'en fonction du stade physiologique des brebis au moment de l'entrée du virus dans l'effectif, l'infection peut être asymptomatique [Loubière, Angélique2012].

Lors de l'autopsie, les lésions macroscopiques sont le plus souvent absentes. Chez les mères, des lésions de l'utérus voire parfois des caroncules utérines de la corne gravide peuvent être mises en évidence. Des lésions placentaires (hémorragies placentaires, nécrose et/ou œdème) sont aussi observables 10 à 20 jours après le contact contaminant [Loubière, Angélique2012].

Chez les agneaux IPI, on note principalement des lésions dues aux maladies intercurrentes (cachexie, bronchopneumonie, pleurésie, gastroentérite, ...). Jusqu'à 10 semaines d'âge, le système nerveux central peut apparaître moins développé que chez un agneau sain [Sweasey 1979].

A l'autopsie des animaux IPI surinfectés par une souche cytopathogène, on peut observer un élargissement ainsi qu'un épaissement important de la partie distale de l'iléon, du caecum et du colon [Loubière, Angélique2012].

4.3. Diagnostic expérimental :

4.3.1. Identification de l'agent pathogène (épreuve prescrite pour les échanges internationaux) :

Il y a plusieurs techniques qui sont valables pour identifier l'agent pathogène *pestivirus* parmi lesquelles : la technique immuno-enzymatique (ELISA) et Méthodes de reconnaissance de l'acide nucléique (RT-PCR).

a. Détection de l'antigène par ELISA :

Le premier ELISA destiné à détecter un antigène pestiviral a été utilisé pour rechercher les ovins virémiques. Il a été modifié, depuis, en un double ELISA de capture par 2 anticorps monoclonaux, utilisable chez les ovins et les bovins. Deux anticorps monoclonaux de capture tapissent les puits d'une plaque de microtitrage et 2 autres anticorps monoclonaux, conjugués à la peroxydase, servent d'anticorps révélateurs [ENTRICAN G., (1994)]. Cette épreuve est très couramment employée pour identifier les moutons virémiques IP, à partir de leucocytes lavés provenant de leur sang lysé par un détergent. La sensibilité de cette épreuve est proche de celle de l'isolement viral, et c'est une méthode pratique pour trier un grand nombre de prélèvements de sang. Comme dans le cas de l'isolement du virus, de hauts titres d'anticorps colostraux peuvent masquer une virémie persistante. En présence d'anticorps, l'ELISA est plus efficace que l'isolement viral, mais peut donner de faux résultats négatifs chez les agneaux virémiques âgés de moins de 2 mois. Généralement, l'ELISA n'est pas assez sensible pour détecter des infections aiguës par le BDV dans des prélèvements de sang. De même qu'il est utilisé pour détecter le virus dans les leucocytes, l'ELISA peut aussi être utilisé sur des suspensions d'organes, en particulier la rate, de moutons IP suspects comme il peut constituer une alternative aux épreuves d'immunofluorescence et d'immunopéroxydase sur cultures cellulaires. Plusieurs méthodes ELISA de détection des *Pestivirus* ont été décrites et des trousse de diagnostic permettant de détecter le BDV sont commercialisées. La validation de ces trousse est en cours [Manuel terrestre de l'OIE 2005].

b. Méthodes de reconnaissance de l'acide nucléique :

Les séquences génomiques complètes de 2 BDV ont été déterminées et comparées à celle d'autres *Pestivirus* [Becher P 1998, Ridpath J.F 1997]. L'analyse phylogénétique montre que les BDV sont plus étroitement apparentés au CSFV qu'au BVDV [Avalos-Ramirez R. 2001,

Van Rijn P.A 1997, Vilcek S 1997]. La RT-PCR est maintenant couramment utilisée pour le diagnostic des infections à *Pestivirus*. La méthode RT-PCR classique se réalise selon les étapes suivantes :

- i) L'ARN total est extrait par le phénol-chloroforme, le TRIZO et l'isothiocyanate de guanidine (GIT), ou par une colonne spin.
- ii) L'ADNc est synthétisé en employant des hexamères randomisés ou des amorces antisens ;
- iii) Environ 25 cycles pour une première amplification par PCR nichée et 30 à 35 cycles pour la seconde amplification, sont nécessaires lorsque l'on utilise des amorces panpestivirus de la région non codante 5' ;
- iv) On utilise le système *TaqMan*, ou une autre sonde, pour identifier le produit pestiviral.

Le choix des amorces est crucial. Les amorces panpestivirus sont capables de détecter et de typer toutes les espèces de *Pestivirus* [Sandvik T 1997, Vilcek S 1994]. Des amorces spécifiques, permettant de reconnaître rapidement les virus de la BD, ont été également décrites [Fulton R.W 1999, Vilcek S. & Paton D.J 2000]. Le recours à un seul tube de RT-PCR utilisant des amorces fluorescentes réduit le risque de contaminations croisées des prélèvements analysés [Mcgoldrick A 1999]. Un avantage important de cette méthode est de permettre la détection de l'ARN viral dans les organes du fœtus ou dans les cultures cellulaires utilisées pour produire les vaccins [Vilcek S 2001]. La validation de la RT-PCR est en cours. Elle pourrait aussi s'avérer utile pour détecter des virus de la BD en dépit de la présence d'anticorps contre ce virus. Les précautions à prendre avec cette méthode ont été indiquées dans le Chapitre I.1.4., « Validation et contrôle qualité des méthodes de réaction de polymérisation en chaîne utilisées pour le diagnostic de maladies infectieuses » [Manuel terrestre de l'OIE 2005].

4.3.2Épreuves sérologiques :

Les anticorps dirigés contre le BDV sont généralement détectés dans les sérums ovins par un test de séroneutralisation virale ou un ELISA. L'épreuve d'immunodiffusion en gélose peut aussi être utilisée, mais elle est moins sensible. Des témoins positifs et négatifs doivent être introduits dans toutes ces épreuves. Pour être considérés comme valides, les résultats de ces épreuves doivent être compris dans des limites prédéterminées. Pour déterminer la prévalence de la BD dans un troupeau, une région ou un pays, on peut ne faire qu'une prise de sang. En revanche, pour le diagnostic de la BD, des sérums prélevés en phase aiguë de la maladie ou lors de la convalescence sont les meilleurs pour confirmer une infection aiguë. Les sérums

provenant du même animal doivent toujours être analysés côte à côte, sur la même plaque [Manuel terrestre de l'OIE 2005].

a. Test de séroneutralisation virale :

Une souche cytopathogène standard (la souche Moredun, par exemple) peut être engagée dans le test de VN, réalisée sur des cellules de lignées semi-continues telles que la lignée FLM. Les grandes lignes du protocole de cette épreuve sont décrites ci-dessous :

- i) Les sérums à tester et les sérums témoins sont inactivés par chauffage durant 30 min à 56°C.
- ii) A partir d'une dilution de départ au 1/4, les sérums à analyser subissent une dilution sériée de raison 2 dans le milieu de culture placé dans une plaque de micro-titrage pour culture cellulaire à fond plat de 96 puits. Selon la précision que l'on souhaite obtenir pour le test, 2 ou 4 puits sont utilisés pour chaque échantillon et pour chacune des dilutions. La gamme des dilutions peut aussi varier. Habituellement, on fait une première recherche d'anticorps sur des sérums dilués au 1/4 et on ne poursuit le titrage que sur ceux qui ont donné un résultat positif. Pour ce premier tri des sérums, il faut utiliser au moins 4 puits. Le volume de travail standard est de 25 µl : 25 µl du sérum dilué sont déposés dans chacun des puits ; 25 µl de milieu sont ajoutés à chacun des puits témoins situés en bas de la plaque de titrage et 25 µl de milieu contenant 100 DICT50 (dose infectieuse 50 % pour la culture tissulaire) de virus sont ajoutés à chacun des puits situés en haut de cette plaque. Des sérums témoins positifs et négatifs doivent être prévus pour chaque épreuve, ainsi qu'un titrage du virus ;
- iii) Les plaques sont scellées avec un film ou un couvercle non toxiques, et incubées 1 h à 37°C.
- iv) 100 µl d'une suspension cellulaire contenant 2×10^5 cellules/ml sont ajoutés à chaque puits. Le sérum de foetus de veau, ou le sérum équivalent utilisé pour favoriser la croissance cellulaire doit être exempt d'anticorps du BDV ;
- v) La plaque est à nouveau scellée ou incubée en chambre humide à 5 % de CO₂ durant 4 jours à 37°C ;
- vi) L'effet cytopathogène (ECP) éventuel est recherché au microscope. Si on observe un ECP dans les puits témoins des sérums à analyser, il sera dû à la toxicité. On pourra alors tenter des dilutions plus poussées de ces sérums toxiques, mais il sera peut-être impossible d'obtenir des résultats fiables avec certains sérums. Le titre de neutralisation virale de chaque sérum est exprimé par la dernière dilution à laquelle le virus a été neutralisé dans 50 % des puits, qui peut être calculée en utilisant la méthode statistique de Spearman-Kärber. Le sérum d'un animal dit séronégatif ne neutralisera pas le virus à sa dilution la plus faible, c'est-à-dire au 1/4.

Le choix du virus d'épreuve est difficile du fait de la diversité antigénique des pestivirus [Dekker A 1995, Nettleton P.F 1998]. On peut utiliser des souches standards de BDV cytopathogènes et de cellules bovines. Les résultats obtenus avec la souche Oregon C24V sont mieux corrélés à ceux obtenus avec la souche Moredun que ne le sont ceux obtenus avec la souche NADL. Il n'y a pas de souche idéale. C'est la souche locale qui donne le titre d'anticorps le plus élevé parmi des sérums d'ovins séropositifs qui doit être retenue. Le test de séroneutralisation virale peut aussi être réalisé avec des virus non-cytopathogènes, à condition de recourir, à partir de l'étape v) décrite ci-dessus, au système de coloration par l'immunopéroxydase décrit ci-après :

- i) Le milieu de culture est écarté et les puits sont lavés délicatement avec une solution physiologique tamponnée au phosphate (PBS) tiède, puis séchés à l'air et refroidis à 4°C ;
- ii) Les puits sont fixés en ajoutant rapidement dans chacun d'entre eux de l'acétone diluée à 95 % dans l'eau et préalablement refroidi à -20°C. Les plaques sont maintenues 30 min à -20°C, et on ne doit pas les laisser empilées ni les laisser se réchauffer, car cela pourrait entraîner une imprégnation du plastique ;
- iii) L'acétone est écartée et les plaques sont séchées rapidement dans une pièce froide ;
- iv) 50 µl de sérum anti BDV sont ajoutés à tous les puits, à une dilution prédéterminée dans du PBS additionné de 1 % de Tween 80 (PBST). Les plaques sont incubées 30 min à 37°C en chambre humide ;
- v) Les plaques sont vidées et lavées 3 fois avec du PBST ;
- vi) Les puits sont vidés et un sérum anti-espèce approprié, conjugué à la peroxydase, y est ajouté à une dilution prédéterminée avant que les plaques soient remises 30 min à 37°C en chambre humide ;
- vii) Les plaques sont vidées et lavées 3 fois avec du PBST ;
- viii) Les plaques sont bien vidées et on y rajoute 50 µl de substrat activé, par exemple du 3-amino-9-ethyl carbazole (AEC). La solution mère d'AEC est composée de 0,1 g d'AEC dissous dans 15 ml de diméthyl formamide. Pour l'emploi, ajouter 0,3 ml de la solution mère à 4,7 ml de tampon acétate 0,05 M à pH 5,0 filtré sur membrane, puis ajouter 5 µl de H₂O₂ à 30 %. NB : cette dernière solution est toxique et doit donc être manipulée avec précaution ;
- ix) Les plaques sont incubées à la température ambiante, et on recherche le développement éventuel d'une coloration rouge-brun caractéristique du cytoplasme cellulaire dans les puits témoins contenant du virus. Lorsque la coloration est achevée, le substrat est écarté délicatement et les puits sont bien lavés sous l'eau du robinet. Sans enlever cette eau des puits, les plaques sont examinées au microscope pour repérer ceux qui contiennent du virus ;

- x) Le titre de VN est calculé comme précédemment par la méthode de Spearman-Kärber ;
- xi) Il est aussi possible de réaliser l'épreuve en colorant directement avec un conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine.

Il peut être parfois nécessaire de savoir si les anticorps trouvés dans un troupeau sont dirigés contre un virus appartenant à une sérogruppe particulier de *Pestivirus*. Dans ce cas, on peut recourir à une épreuve de VN différentielle dans laquelle les sérums seront titrés contre des virus représentant chacun des 4 groupes de *Pestivirus*, à savoir le BDV, les BVDV types 1 et 2, et le CSFV. C'est vis-à-vis du sérotype infectant que le titre du sérum sera le plus élevé, et on aura par la même occasion une idée des réactions croisées existantes avec les autres sérotypes [Manuel terrestre de l'OIE 2005].

b) Méthode immuno-enzymatique :

Un ELISA de capture par anticorps monoclonaux (AcM) permettant de titrer les anticorps dirigés contre le BDV a été décrit. Deux AcMs panpestivirus détectant différents épitopes de la protéine immunodominante non structurale NS 2/3 sont utilisés pour capturer l'antigène, obtenu sur culture cellulaire puis lysé par un détergent. Les résultats qualitatifs de l'ELISA sont bien corrélés à ceux du test de VN [Fenton A. 1991].

L'antigène est préparé de la façon suivante : utiliser 8 flacons de 225 cm² couverts d'un tapis confluent de cellules FLM ; 4 d'entre eux seront infectés, et les 4 autres conservés comme témoins. Laver les flacons et en inoculer quatre avec 0,01 à 0,1 m.o.i. (« multiplicity of infection ») de la souche cytopathogène de BDV Moredun. Laisser le virus s'adsorber durant 2 h à 37°C. Ajouter le milieu d'entretien additionné de 2 % de FBS (exempt d'anticorps du BDV), et incuber les cultures 4 à 5 jours jusqu'à ce que l'effet pathogène soit évident. Réaliser un mélange d'une part des surnageants des 4 flacons témoins et, d'autre part des surnageants des 4 flacons inoculés. Centrifuger à 3 000 g pendant 15 min pour mettre les cellules en culot [Manuel terrestre de l'OIE 2005].

Ecarter les surnageants et conserver les culots cellulaires. Laver les flacons avec 50 ml de PBS et centrifuger comme dans l'étape précédente. Mélanger tous les culots de centrifugation dans 8 ml de PBS contenant 1 % de nonidet P40 et reverser 2 ml de ce mélange dans chaque boîte témoin pour lyser les cellules encore attachées. Répéter l'opération pour les cellules infectées. Conserver les flacons à 4°C, pendant au moins 2 h, en agitant vigoureusement toutes les 30 min la petite quantité de liquide qui baigne les cellules pour les détacher complètement. Centrifuger l'antigène infecté et l'antigène témoin à 12 000 g pendant 5 min et les conserver à -70°C en petites aliquotes [Manuel terrestre de l'OIE 2005].

•Protocole

- i) Les 2 anticorps sont dilués à un titre prédéterminé (en général 1/4 000) dans un tampon bicarbonate 0,05 M à pH 9,6. Tous les puits d'une plaque ELISA de qualité micro-titrage (par exemple Nunc maxisorb, Greiner 129b) sont sensibilisés pendant une nuit à 4°C.
- ii) Après avoir lavé 3 fois en PBST, une solution bloquante de PBST contenant 10 % de sérum de cheval (PBSTH) est ajoutée dans tous les puits, qui sont incubés 1 h à 37°C.
- iii) L'antigène est dilué à un titre prédéterminé dans du PBSTH en rangées alternées de puits, sensibilisés soit avec l'antigène viral soit avec l'antigène témoin, pendant 1 h à 37°C. Les plaques sont ensuite lavées 3 fois avec du PBST avant d'ajouter les sérums à titrer.
- iv) Les sérums à titrer sont dilués à 1/50 en PBSTH et ajoutés à 2 puits sensibilisés avec le virus et à 2 autres puits sensibilisés avec l'antigène témoin, avec lesquels ils restent en contact pendant 1 h à 37°C. Les plaques sont ensuite lavées 3 fois avec du PBST ;
- v) Une IgG anti-ovin conjuguée à la peroxydase est diluée à un titre prédéterminé en PBSTH et ajoutée à tous les puits, avec lesquels elle reste en contact 1 h à 37°C. Les plaques sont ensuite lavées 3 fois avec du PBST.

- vi) Un substrat enzyme activé approprié, tel que de l'ortho-phénylène diamine (OPD) ou du bleu de tétraméthyl (TMB) est ajouté, en tenant bien compte des mises en garde du fabricant concernant la toxicité de ces produits. Après apparition de la coloration, la réaction est arrêtée par l'acide sulfurique et le résultat est lu sur un lecteur de plaques ELISA. La valeur moyenne d'absorption de 2 puits témoins est soustraite de celle de 2 puits contenant l'antigène viral de façon à obtenir la valeur d'absorption corrigée de chaque sérum. Les résultats sont exprimés en absorption corrigée par rapport à celle d'un sérum positif et d'un sérum négatif connus.

Les titres ELISA peuvent également être extrapolés à partir de la courbe standard d'une série de dilutions d'un sérum positif de référence connu [Manuel terrestre de l'OIE 2005].

Si des antigènes d'une puissance suffisante peuvent être obtenus, l'étape de capture par les AcMs peut être omise. Dans ce dernier cas, les rangées alternées de puits sont sensibilisées avec de l'antigène viral et de l'antigène témoin dilués à un titre prédéterminé (en général 1/100) dans du tampon au bicarbonate 0,05 M de pH 9,6, et abandonnées toute une nuit à + 4°C. Les plaques sont lavées et la réaction est arrêtée comme à l'étape ii) précédemment décrite. Après lavage, on ajoute les sérums dilués et l'épreuve se poursuit comme à partir de l'étape iv décrite ci-dessus [Manuel terrestre de l'OIE 2005].

5. Prophylaxie :

L'objectif de la vaccination est tout d'abord d'éviter l'apparition de signes cliniques en protégeant les ovins contre une infection transitoire. Mais c'est aussi de limiter l'excrétion virale et de protéger le fœtus contre une infection transplacentaire, de façon à éviter la naissance d'animaux IPI [Loubière, Angélique2012].

En Algérie la vaccination contre la border disease n'est pas encore applicable et n'est pas obligatoire, parce qu'il n'y a pas des études ou des recherches réalisées pour préciser la prévalence de pestivirus au niveau des différentes régions de l'Algérie.

Dans l'idéal, la vaccination ne doit pas interférer avec les dépistages sérologiques. Pour cela, il faut préférer les vaccins à virus inerte aux vaccins à virus vivant modifié. Cependant, certains vaccins inactivés (comme Bovilis BVD ®) n'ont pas encore fait l'objet d'essais permettant de vérifier leur efficacité vis-à-vis d'une épreuve virulente dans l'espèce ovine [Loubière, Angélique2012].

Même avec les vaccins ayant prouvé leur efficacité dans la protection de l'infection fœtale [Brun 1993], des échecs de vaccination ont été observés en raison de la diversité antigénique des virus de la BD [Loubière, Angélique2012].

6. Methodes de lutte :

6.1 Mesures sanitaires :

***dans des cheptels infectes** .afin de limiter les risques de diffusion aux autres élevages, il est recommandé de :

- ne pas transhumer ou de transhumer avec des cheptels de statut identique,
- ne pas vendre d'animaux pour l'élevage ou la reproduction,
- ne pas amener d'animaux sur les foires et marchés,
- prévenir l'engraisseur d'agneaux afin qu'il prenne des précautions adéquates (tournées de collecte spécifiques des agneaux issus de cheptels infectes, allotement des agneaux en fonction du statut d'origine).
- prévenir le voisinage qui peut mettre en place une vaccination de précaution,
- maintenir une vigilance vis-à-vis du matériel utilisé en commun, des personnes ou des chiens qui transitent entre différentes exploitations.

-respecter les bonnes pratiques d'hygiène : nettoyage et désinfection des bottes et du matériel utilisé, emploi de sur bottes, utilisation de pédiluves, changement de blouses,... (La détection des IPI n'est pas faite systématiquement car très couteuse. Elle pourra être proposée aux cheptels sélectionneurs[R de cremoux .F corbière 2013].

***pour les cheptels a priori sains**, il est recommandé de rester vigilant lors de l'introduction d'un nouvel animal (achats dans des troupeaux de statut négatif et/ou prise de sang à l'introduction) [R de cremoux .F corbière 2013].

6.2 Mesures médicales :

-il n'existe pas de réglementation spécifique.

-chez les ovins, la vaccination est possible hors AMM (application du principe de la cascade).

-en cas de troupeaux mixtes bovins –petits ruminants sur l'exploitation, il est recommandé de mettre en place des mesures vaccinales sur les bovins[R de cremoux .F corbière 2013].

L'importance d'élevage ovin en Algérie :

En Algérie, où le cheptel ovin est le premier fournisseur de la viande rouge, l'engraissement des agneaux est considéré comme la spéculation animale de choix.

Importance de l'effectif : En 2001, l'effectif du cheptel ovin algérien a été estimé à environ 19 millions de têtes, occupant le 14^e rang mondial [FAO, 2001]. Cet effectif constitue 78% du cheptel national face aux caprins avec 14 % et les bovins qui ne représentent que 6% de l'effectif total [statistiques agricoles, 1998]

Distribution géographique La répartition géographique du cheptel ovin dans le territoire national est très inégale ; en effet, la majeure partie des ovins est concentrée dans les régions steppiques, le reste de l'effectif se trouve au niveau des régions telliennes et une minorité est localisée dans les régions sahariennes [Statistiques agricoles, 1998].

Principales races ovines algériennes Le cheptel national est constitué de races autochtones ayant en commun la qualité essentielle d'une excellente résistance et adaptation aux difficiles conditions de milieu de la steppe. De par les effectifs, on distingue deux grandes catégories de races [I.T.E.B.O, 1996] : Les races dites principales regroupent :

- Race Arabe Blanche (dite Ouled Djellal)

- Race Hamra ou Béni-Ighil

- Race Rembi.

Les races dites secondaires à effectifs réduits regroupent :

- Race Berbère à laine Zou lai

- Race Barbarine d'Oued Souf

- Race Dmène

- Race Targuia-Sidaou.

Partie expérimentale

Partie expérimentale :

Problématique :

A partir des données recueillies de la partie bibliographique et devant le manque d'informations relatives à la border disease en Algérie. Nous avons voulu par le biais de notre étude expérimentale apporter quelque notion sur la BD en exposant notre travail en trois parties qui visent les objectifs suivants :

- * Récolter des informations concernant les symptômes de la BD sur terrain à partir d'un questionnaire adressé aux vétérinaires praticiens.
- * Récolter des informations concernant le risque d'introduction de la BD par le biais d'une enquête réalisée au niveau des élevages.
- * Rechercher les traces sérologiques et estimer la séroprévalence de la BD.

L'importance d'élevage ovin dans la région de Bou Saada :

L'effectif du cheptel ovin et distribution : L'effectif du cheptel ovin dans cette région steppique a été estimé à environ 100128 têtes exploitées par 593 éleveurs distribués en sept communes : Bou Saada, Oultem, El Hamel, Sidi Ameur, Temsa, Ouled Sidi Brahim, Benzouh (annexe1) selon statistiques agricoles 2015.

Tableau1 : nombre d'ovins et éleveurs selon la commune de vaccination anti-claveuse 2015(statistiques agricoles 2015).

Commune	ovins	Nombre d'éleveurs
Bou Saada	15614	102
Oultem	4286	29
El Hamel	3465	27
Sidi Ameur	45016	208
Temsa	12836	84
Ouled Sidi Brahim	8961	71
Benzouh	9950	72
Total	100128	593

Race exploitée : la race exploitée dans cette région est principalement taadmit, qui est une variété de la race d'Ouled Djalal.

Partie 1 : le questionnaire :

Un questionnaire, à l'attention des vétérinaires praticiens de différentes communes de la région de Bou Saada, a été fait dans le but d'avoir une évaluation approximative de la situation.

- **Méthodes :**

Notre questionnaire (annexe2) a été traité de la façon suivante :

- Réponses recueillies par déplacement personnel chez les praticiens de proximité.
- Réponses recueillies par communication téléphonique.

A travers ce questionnaire qui est composé de 14 questions, nous avons visé 3 grands axes qui se résument à :

- L'état de connaissance des vétérinaires à cette maladie.
- La présence de la maladie cliniquement.
- La conduite adoptée par l'éleveur lorsqu'il y a des avortements dans son cheptel.

- **Résultats :**

Q1-conaissez-vous la border disease O/N ?

Tous les vétérinaires ont répondu par : Non (Figure 3).

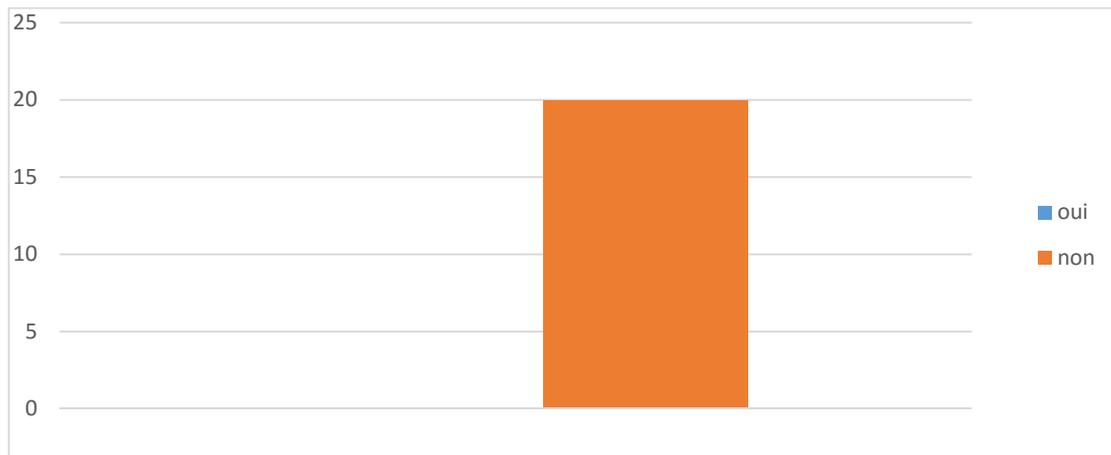


Figure 3 : L'état de connaissance des vétérinaires à la BD.

Q2-l'apparition des signes cliniques : (mort-nés. dermatite. tremblements. malformations osseuses. pigmentation anormale de la laine) O/N ? (Figure 4).

14 vétérinaires ont dit oui et 6 ont dit non.

a-naissance d'agneaux chétifs O/N ?

Tous les vétérinaires ont répondu par oui.

b-apparition 1 à2 semaines après la naissance des signes suivants :(diarrhée .BP. Ecthyma) O/N ? Tous les vétérinaires ont répondu par oui.

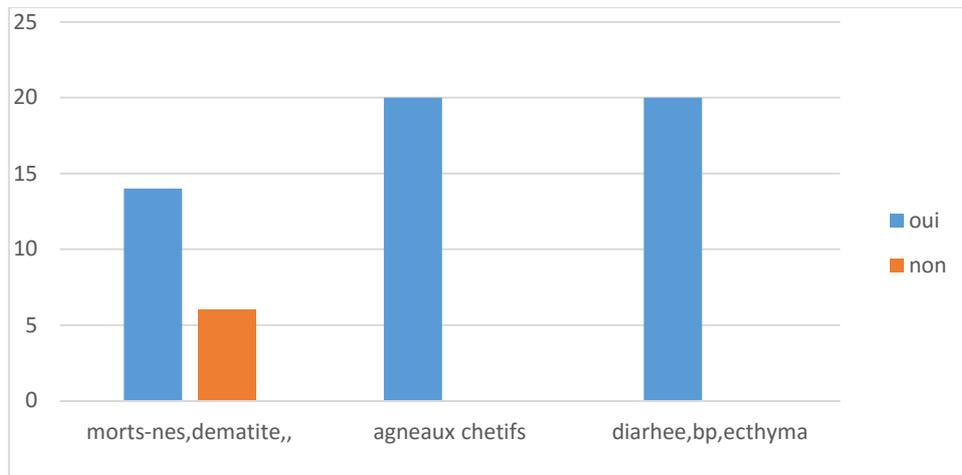


Figure4 : clinique de la BD

Q3-Y a-t-il eu un nombre anormalement élevé d'avortements O/N ?

Tous les vétérinaires ont répondu par oui (Figure 5).

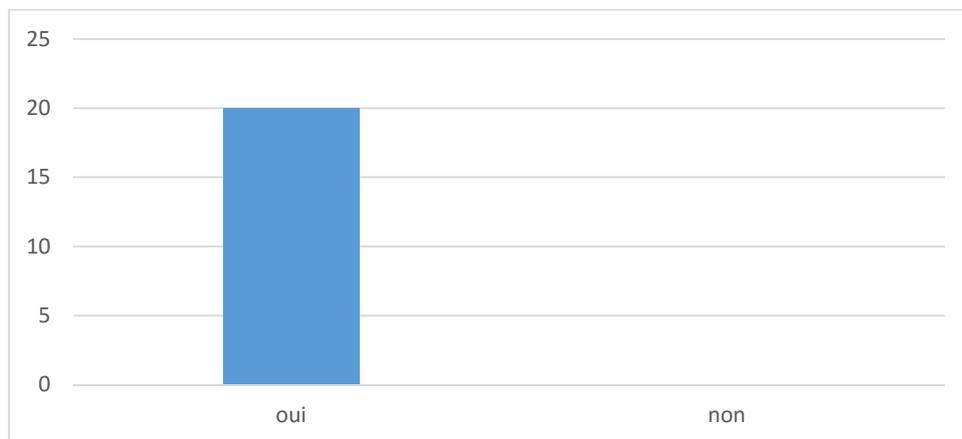


Figure 5 : l'existence de nombre élevé d'avortement.

a-Si oui : quel a été le taux d'avortement ?

Les réponses ne sont pas précises et certains vétérinaires n'ont pas répondu à cette question mais d'autres vétérinaires nous donnent des pourcentages entre **10%** et **30%** selon le cas et le moment d'intervention de vétérinaire.

b-A quel stade de la gestation ont-ils eu lieu ?

Les vétérinaires ont répondu par différentes manières, donc nous avons partagé les réponses en trois périodes (Figure 6) :

1^{er} tiers de gestation : **2**.

2^{eme} tiers de gestation : **9**.

3^{eme} tiers de gestation : **9**.

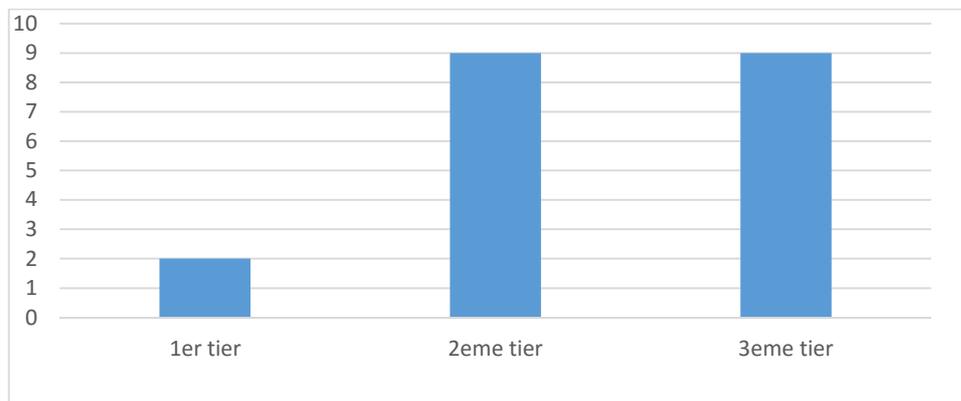


Figure6 : l'avortement par rapport au stade de gestation.

c-A quelle période ces avortements ont-ils commencés ?

-après vaccination

-période de lutte (2)

18 ont évités de répondre à cette question.

d-Combien de temps cette vague d'avortement a-t-elle durée ?

La pluparts des vétérinaires qui ont répondu à cette question ont dit que la durée de la période d'avortement varie selon le traitement et le moment d'intervention de vétérinaire.

e-ES que le taux a augmenté par rapport à l'année précédente O/N ?

Deux vétérinaires ont répondu par oui et 18 par non (Figure 7).

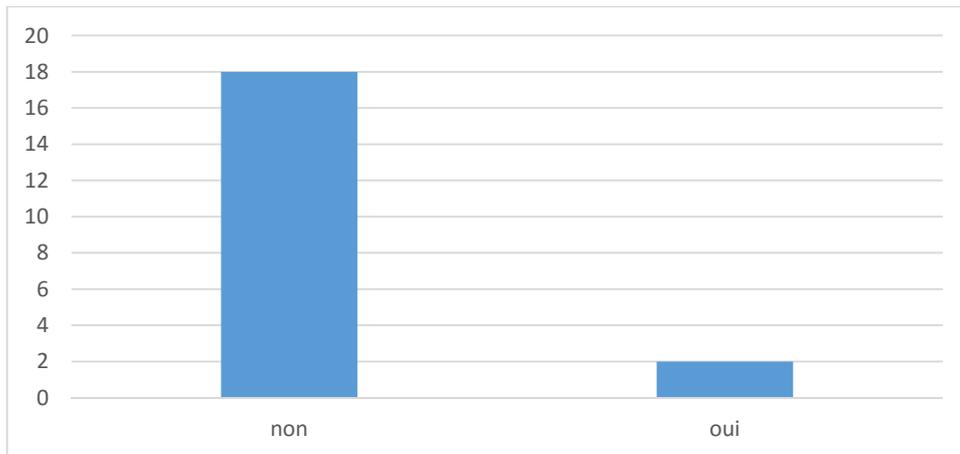


Figure 7 : l'opinion des vétérinaires à l'incidence des taux d'avortement.

Q4-Avez-vous remarqué une mortalité brusque chez les adultes (syndrome hémorragique diarrhée hémorragique) O/N ?

5 vétérinaires ont répondu par oui et 15 par non (Figure 8).

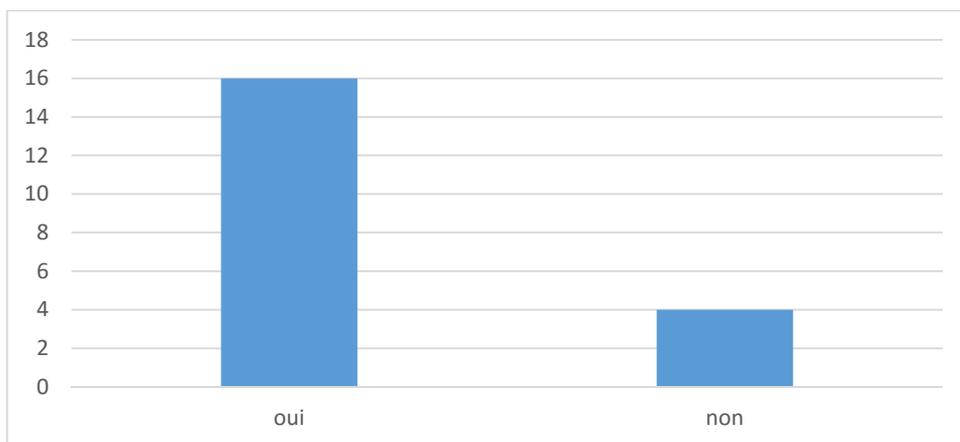


Figure8 : la présence de la mortalité brusque chez les adultes.

- **SI oui : quelle a été la proportion d'animaux touchés ?**

Les vétérinaires sont variables allant de 4% et 20%.

- **A quelle date ces signes cliniques sont-ils apparus ?**

deux vétérinaires ont dit : **Janvier.**

deux vétérinaires ont dit : **l'hiver.**

un seul vétérinaire a dit : **après la saison pluvieuse.**

- **ES que l'éleveur vous fait appel en cas d'avortements O/N ?**

16 vétérinaires ont dit oui, et 4 ont dit : non (Figure 9).

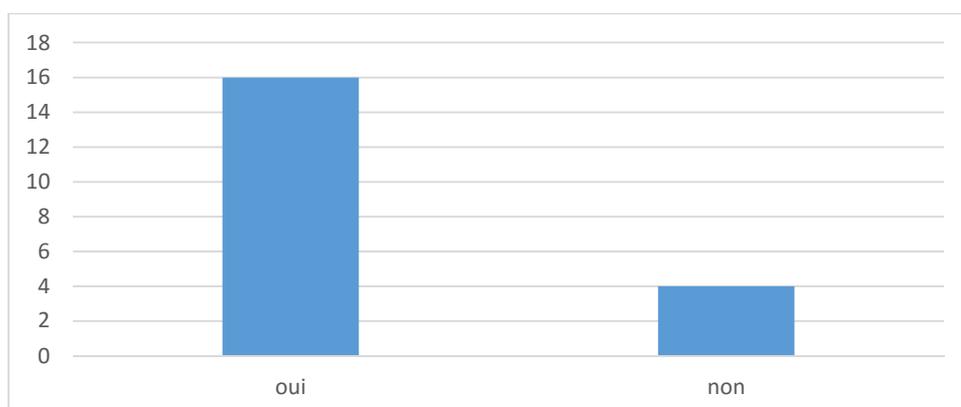


Figure9 : l'appel des éleveurs aux vétérinaires en cas d'avortement.

- **Discussion :**

Après la réalisation des questionnaires avec vingt vétérinaires on peut résumer les réponses en trois points :

L'état de connaissance des vétérinaires à la BD :

Nous avons remarqué que tous les vétérinaires qui ont répondu au questionnaire n'avaient aucune idée sur la border disease.

La présence de la maladie cliniquement :

A partir de ce questionnaire nous avons confirmé qu'il y a des signes cliniques semblables à ceux de la BD (14 vétérinaires ont répondu par oui pour des cas de mort-nés, dermatite, tremblement...etc.). Et tous les vétérinaires affirment la présence des troubles affectant les agneaux (agneaux chétifs, diarrhée et BP ecthyma).

Pour les troubles de reproduction : il y a toujours un nombre anormal des avortements avec des taux et des durées différents entre 10% à 30% selon le moment de l'intervention de vétérinaire et le traitement. Et en différents stades de gestation généralement dans les deux derniers tiers avec un taux d'avortement qui a diminué par rapport à l'année précédente.

Selon Dahmani, le taux de prévalence des avortements chez les ovins est de 59% en troupeau, et 03% au niveau des animaux [Dahmani et al 2011].

La mortalité brusque chez les adultes (syndrome hémorragique, diarrhée hémorragique) n'est pas fréquente, apparaît en hiver et touche une grande proportion dans un

même troupeau (entre 4% et 20%). Loubiere et Angelique en Aveyron en France ont donné un taux entre 5.5% et 10.5% [Loubiere Angelique 2011].

La conduite adoptée par l'éleveur lorsqu' il y a des avortements dans son cheptel :

La plupart des vétérinaires sont appelés par les éleveurs (estimés à 80%) mais toujours en retard.

Notre résultat est différent de celui de DECHICHA qui a montré que l'avortement à lui seul ne soit pas considéré comme un problème important pour l'éleveur et juste 20 % sont appelés systématiquement lorsque l'éleveur constate un avortement [DECHICHA 2004].

Partie 2 : l'enquête au niveau des élevages :

Une enquête faite dans les élevages des différentes communes de la région de Bou-Saada,

- **Méthodes :**

Notre enquête (Annexe 3) a été traitée de la façon suivante :

- Réponses recueillies par déplacement personnel chez les éleveurs.
- Réponses recueillies au niveau du cabinet vétérinaire au cours de stage.

A travers ce questionnaire qui est composé de 14 questions, nous avons visé 4 grands axes qui se résument aux :

- différentes techniques d'élevage dans la région de Bou Saada.
- différents modes de reproduction.
- risques de l'introduction de la BD.
- antécédents de l'élevage et le statut vaccinal.

- **Résultats :**

- **Les ateliers :**

Tableau2 : les ateliers de l'exploitation (Figure 10)..

	ovin	ovin-bovin	ovin-caprin	mixte
l'atelier	8	2	14	1

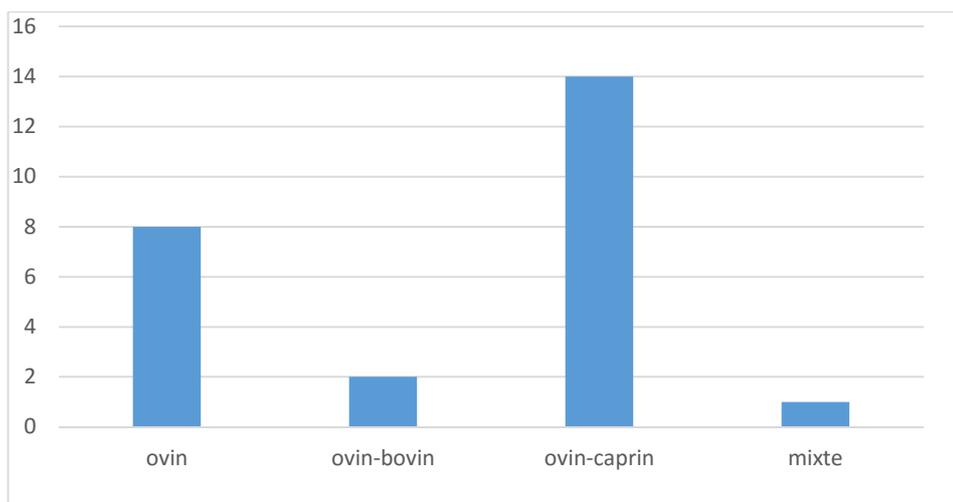


Figure10 : les ateliers de l'exploitation

Tableau3 : cohabitation et mouvement des animaux (Figure 11).

	ovin-bovin même site	ovin-caprin même site		mouvement bovin	mouvement caprin
Oui	1	15	rare	3	3
Non	2	0	fréquent	0	12
			très fréquent	0	1

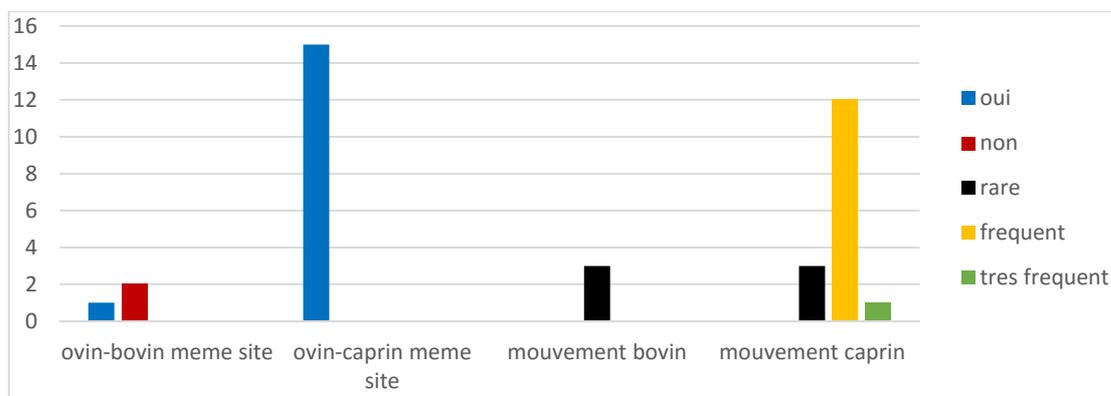


Figure11 : la cohabitation et mouvement des animaux.

• **Les mouvements d'animaux :** (Figure 12).

- -Auto renouvellement : O/N ? Oui : 25 Non : 0.
- -achat d'agnelles de renouvellement O/N ? Oui : 13 Non : 12

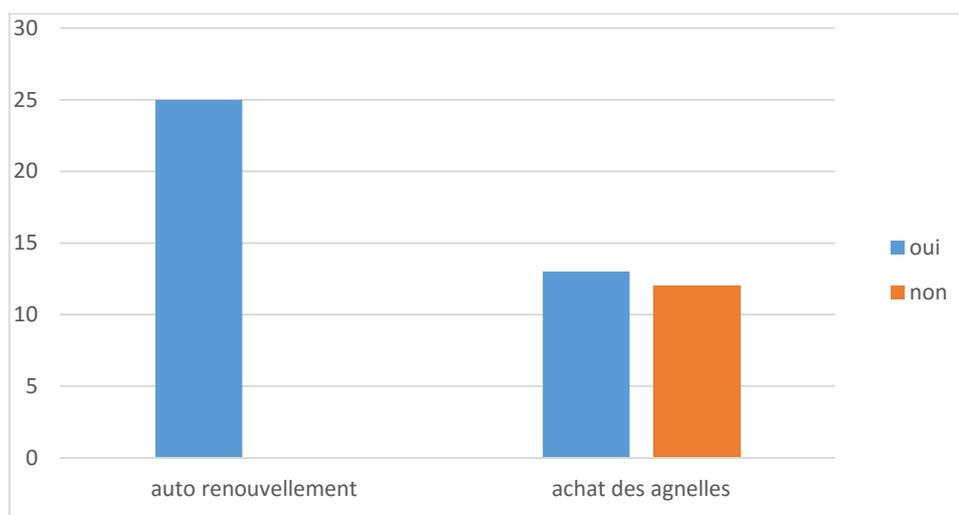


Figure12 : les types du renouvellement

- **L'engraissement :** (Figure 13).

- Engraissement : de leurs agneaux seuls O/N ?

Oui : 14 Non : 11

- D agneaux de différents élevages (collecte dans le voisinage, marchés,) O/N ?

Oui : 11 Non : 14

- Connaissance du statut des agneaux à l'engraissement provenant d'autres élevages O/N ? Oui : 11 Non : 0.

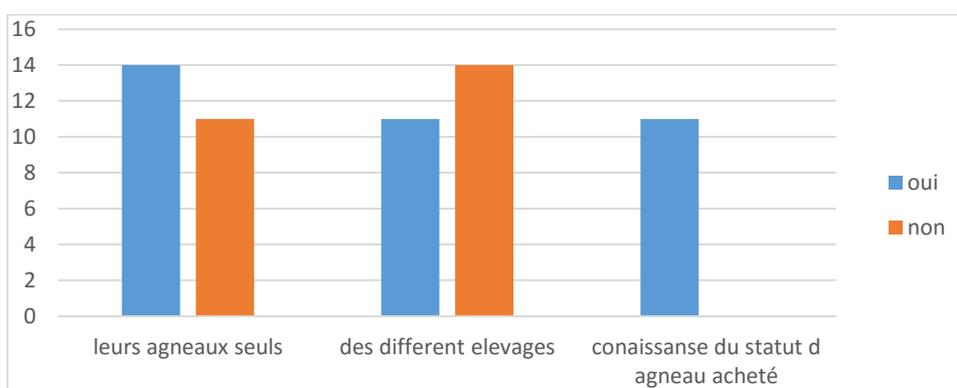


Figure 13 : l'engraissement des agneaux

- **Risque d'introduction du BD dans l'exploitation :** (Figure 14).

- Au cours de 12 derniers mois, avez-vous acheté des animaux O/N ?

Oui : 13 Non : 12

- Si vous avez acheté des animaux ont-ils été testés pour le BD O/N ?

Oui : 0 Non : 25

- Au cours des 12 derniers mois vous êtes déplacés avec votre cheptel O/N ?

Oui : 1 Non : 24

- En pâture, les ovins de votre troupeau sont-ils en contact avec des animaux d'autres troupeaux O/N ? Oui : 13 Non : 12

- Es que votre cheptel est entré en contact avec des animaux sauvages O/N ?

Oui : 0 Non : 25

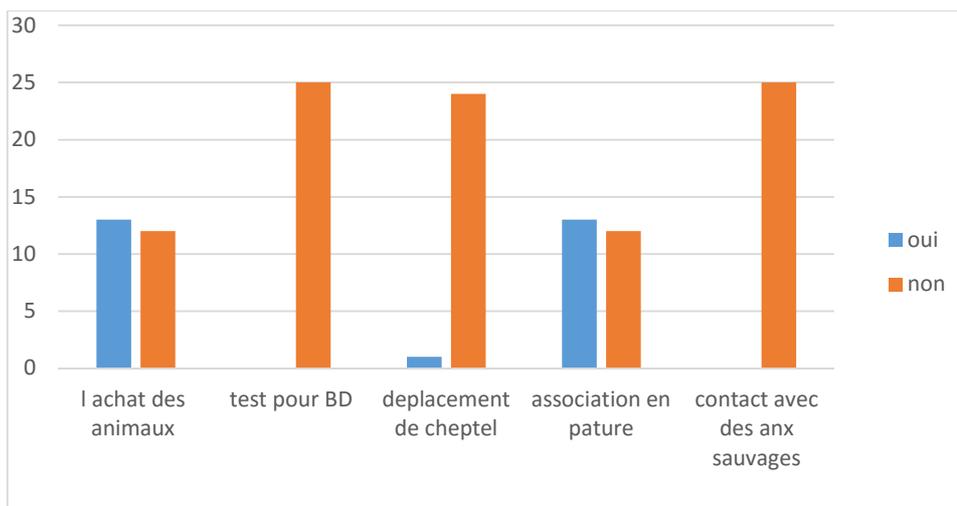


Figure14 : le risque d'introduction de la BD

• **Gestion de la reproduction** : (Figure 15).

- Mode de reproduction :
- Saillie naturelle O /N ? Oui : 25 Non : 0
- IA O/N ? Oui : 0 Non : 25
- Ya-t-il des cas d'avortements enregistrés O/N ? Oui : 13 Non : 12

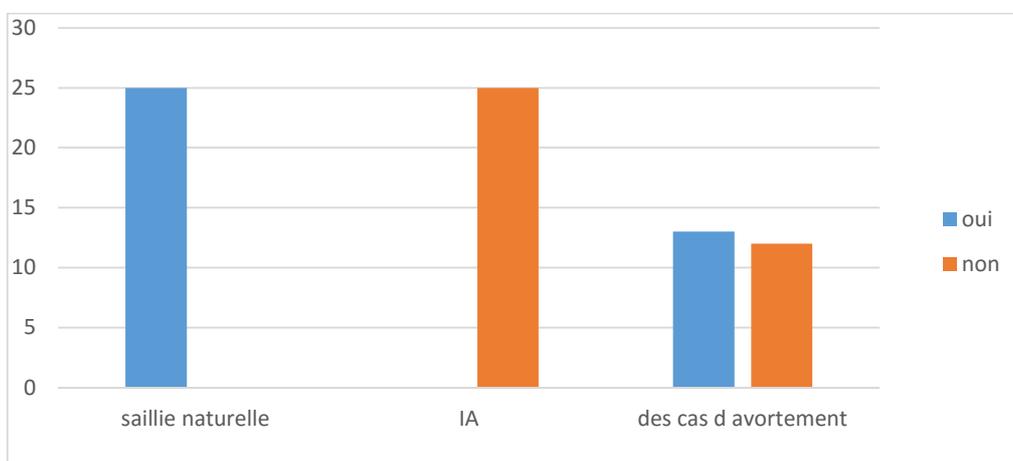


Figure15 : mode de reproduction et présence des avortements

Tableau 4 : le nombre de mise bas et le nombre d'avortement dans chaque élevage.

mise bas	60	80	40	50	50	70	60	60	50	60	40	15	9	25	50	100	17	45	30	20	15	30	40	30	15
Avortements	12	4	0	0	0	0	0	0	3	2	2	2	0	2	2	1	1	3	0	1	0	2	3	0	0

- **Les reproducteurs** : (Figure 16).
- Origine des béliers :-bélier est d'origine même cheptel : 20 -bélier acheté : 5.
- Existence de béliers communs à plusieurs exploitations (location de béliers)
O/N ? Oui : 1 Non : 24

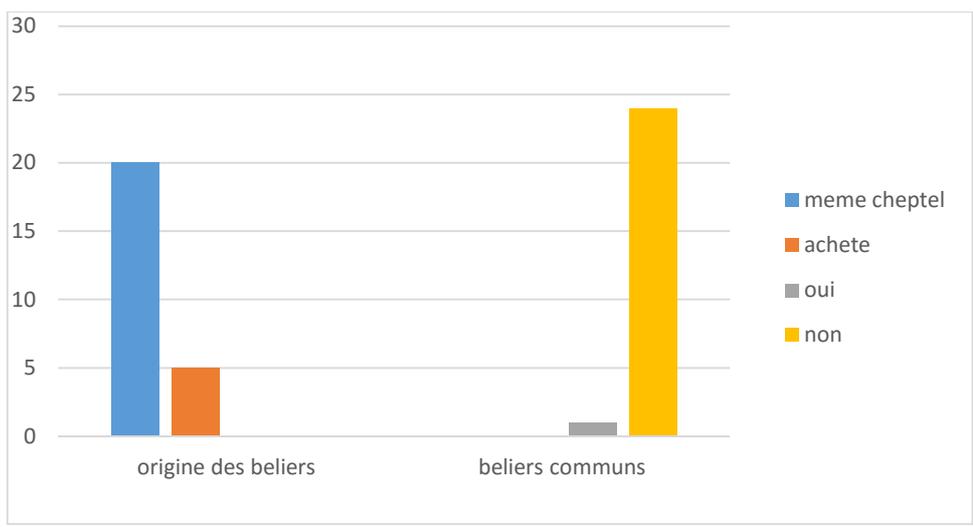


Figure16 : origine et location des béliers

- **Antécédents de l'élevage** : (Figure 17).
- Y a-t-il déjà eu des épisodes cliniques de BD dans l'élevage O/N ?
Oui : 2 Non : 18.

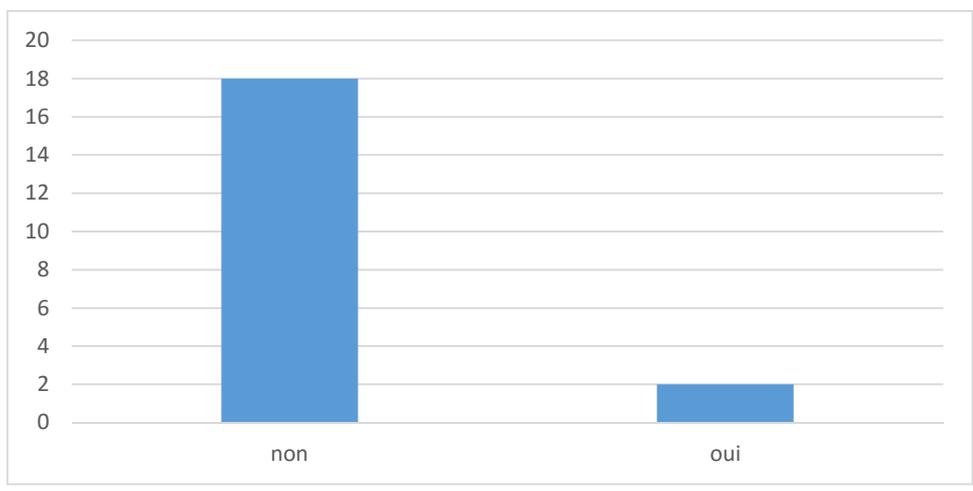


Figure 17 : la présence des épisodes clinique de la BD.

- Autres problèmes sanitaires rencontrés : on a remarqué que la plupart des élevages ont représenté des problèmes des entéro-toxémies, et quelques élevages parmi eux ont représenté des cas de la clavelée et suspicion de la fièvre Q.
- Le statut vaccinal des cheptels : tous les cheptels ont été vaccinés juste contre la clavelée.
- **Discussion :**

D'après les réponses obtenues durant l'enquête, on constate que tous les éleveurs applique l'auto renouvellement et 52% ont achetés des agnelle de renouvellement. Boukhalfa a montré que 48.8% des éleveurs gardent les descendants pour renouveler leurs cheptels [Boukhalfa 2014].

L'engraissement a été fait par deux manières : c'est l'éleveur qui engraisse seul ces agneaux seuls soit 56%, sinon achat d'agneaux de différents élevages.

Tous les éleveurs affirment connaître les statuts des agneaux d'engraissement provenant d'autres élevages mais ça reste une allégation d'éleveur.

Le mode de reproduction est la lutte libre, le bélier est maintenu toute l'année au sein du troupeau et l'IA n'est pas encore applicable. Le nombre de mise bas ne dépasse pas le nombre des brebis dans la plupart des élevages. L'avortement est présent dans 52% des élevages, le taux minimal est de 1% et le taux maximal est de 16.67% et la moyenne est de 6.83%.

Dans 80% des cas c'est le bélier des élevages qui est utilisé pour la reproduction et la location des béliers est presque inexistante 4%.

La présence d'un atelier bovin ou caprin dans une même exploitation avec les ovins et leurs mouvements non contrôlés peuvent posséder un grand risque d'introduction de la maladie.

L'association des élevages ovins avec les bovins ou les caprins est fréquente dans la plupart des élevages de la région de Bou Saada avec des mouvements fréquents et non contrôlés.

Une étude menée en France faite par Loubière et Angélique qui démontre que la prévalence de la Border Disease est plus importante dans le groupe des exploitations qui possèdent un atelier bovin [Loubière , Angélique 2011]. Certaines mettent en évidence une prévalence significativement plus élevée dans les exploitations possédant en parallèle un atelier

bovin [Tegtmeier 2000, Krametter-Frotscher 2007], d'autres n'identifient pas d'association statistique entre les 2 éléments [Graham 2001].

En Aveyron(France), il n'existe pas de dépistage de la Border Disease chez les caprins [loubiere .angelique 2011]. Or, les caprins sont sensibles à l'infection par la BD et une étude menée au Pays-Bas Tegtmeier a montré que la prévalence de la BD était identique chez les ovins et chez les caprins [Tegtmeier 2000].

Le contact avec des animaux sauvages est absent et le déplacement des éleveurs avec leurs cheptels est rare mais l'achat des nouveaux animaux et leurs introductions dans les élevages est de 52% sans test pour la BD est dans la pluparts des exploitations (pas de teste de la BD en Algérie) avec des associations fréquentes en pâture 52% qui peuvent augmenter le risque.

Selon Sellali le pâturage en commun est une pratique très répandue dans nos élevages, il engendre un brassage des troupeaux et favorise les échanges microbiens et l'exposition des animaux sains aux agents pathogènes [Sellali 2015].

Il n'y a pas des épisodes cliniques de la BD dans nos élevages. Autres problèmes sanitaire : quelques cas d'entéro-toxémie dans la pluparts des élevages, et quelques cas de la clavelée non déclarés sont découverts au moment de l'enquête. Le statut vaccinal : tous les élevages sont vaccinés juste contre la clavelée, et la vaccination contre la BD n'est pas encore applicable en Algérie.

Partie 3 : population cible et échantillonnage :

- Objectifs :

L'objectif de l'étude sérologique est de détecter les traces éventuelles de la border disease.

- Animaux concernés :

Le sondage sérologique est réalisé dans six cheptels ovins, les prélèvements sont divisés en deux groupes selon l'âge de l'animal : moins de six mois et plus de six mois. La proportion des prélèvements est de 10% au minimum par rapport au nombre total des animaux dans chaque cheptel, les prélèvements ont été réalisés juste sur les femelles et les géniteurs.

Tableau5 : les nombres d'animaux et des prélèvements dans chaque élevage.

	Nombre d'animaux	Nombre des prélèvements
Elevage 1	46	20
Elevage 2	68	15
Elevage 3	200	25
Elevage 4	50	16
Elevage 5	23	10
Elevage 6	50	14
Total	437	100

- Nature, réalisation et acheminement des prélèvements :

Pour chaque animal, **5mL de sang** ont été prélevés à la veine jugulaire dans des tubes sous vide secs standard et à EDTA. Ils ont été conservés à température de 4°C et ont été transmis directement au labo universitaire de Blida avant 48 h où il est centrifugé pour l'obtention du sérum. Les animaux dont on a prélevé le sang n'ont pas été marqués et la composition des cheptels change fréquemment.

- Recherche d'anticorps contre la border disease :

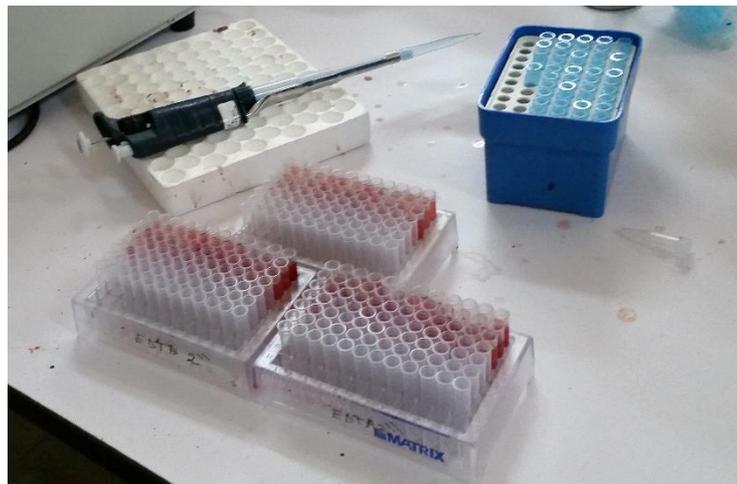
Les prélèvements sont acheminés au laboratoire dans une glacière à basse température et ont été identifiés de 1 à 100.

- Matériels :

*Photo n °1 : centrifugeuse de marque nuve NF200 :



*Photo n °2 : micropipette et des plaques à étui destinés à test ELISA.



- Mode opératoire :

- Les prélèvements ont été centrifugés en raison de 3000 tour pendant 15 minute à l'aide d'une centrifugeuse de marque nuve NF200.
- Le sérum a été récolté à l'aide d'une micropipette graduée à 1 ml.

- Les sérums ont été conservés dans des plaques à étui destiné pour faire le test ELISA.
- Les sérums ainsi récolté ont été conservés à - 40°C avant de les envoyé directement par DHL à Bruxelles. Le traitement des résultats a été fait au niveau du laboratoire de virologie, CODA CERVA.

- **Kit de détection des anticorps anti-bvd/bd chez les ruminants :**

Individuels (bovins et caprins)

Individuels et mélanges (ovins)

Technique immuno-enzymatique par blocage

384 réactions monocupules

I. Principe du test

Le kit SERELISA® BVD p80 Ab Mono Blocking est destiné à la détection des anticorps spécifiques d'une protéine commune à toutes les souches des virus BVD/MD et BD (protéine non structurale p80/125), anticorps induits lors de la multiplication virale (après infection naturelle ou vaccination avec un vaccin vivant). Le kit SERELISA BVD p80 Ab Mono Blocking utilise une technique immuno-enzymatique monocupule par blocage. La réaction comporte trois étapes :

1. Chaque échantillon de sérum ou plasma est distribué dans une cupule sensibilisée avec la protéine BVD/BD p80/125. Les anticorps éventuellement présents dans l'échantillon se fixent spécifiquement à l'antigène.

2. Après lavage, un conjugué anticorps monoclonal (AcM) anti-BVD/BD [p80/125] peroxydase est ajouté. Il se fixe sur les sites antigéniques restés libres, formant un complexe :

(Ag) - (anti-BVD/BD [p80/125] / peroxidase).

3. L'excès de conjugué est éliminé par lavage. L'enzyme liée au complexe est révélée par adjonction d'un substrat qu'elle transforme en un produit coloré. Les densités optiques correspondantes sont alors enregistrées et s'interprètent de la façon suivante :

- En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, une réaction colorée intense sera mise en évidence, du fait de la fixation du conjugué sur les sites antigéniques de la phase solide.

- En présence d'anticorps dans l'échantillon, il y aura moins de conjugué fixé, donc diminution ou absence de réaction colorée.

- **Interprétation :**

OVIN /CAPRIN INDIVIDUEL :

- Tout sérum ou plasma présentant un pourcentage de compétition (%E) > 40 % est considéré comme **positif**.

- Tout sérum ou plasma présentant un pourcentage de compétition (% E) < 20 % est considéré comme **négatif**

- **Les résultats :**

Les résultats du diagnostic de labo :

Tableau 6 et 7 : résultats de test ELISA selon l'organisation dans les plaques à etui.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	99,4	100,6	64,9	-43,9	53,9	80,1	80,0	74,2	92,0	48,7	59,0	90,8
B	-1,9	1,9	31,3	92,7	29,4	89,8	3,0	94,7	3,6	11,1	0,0	-39,8
C	98,6	99,1	10,4	-3,5	-3,4	10,1	10,9	-52,0	3,0	94,5	-35,9	31,9
D	99,1	99,9	-7,6	11,0	10,8	87,3	84,7	16,3	100,1	99,8	0,0	2,5
E	72,1	4,5	0,2	-12,5	-16,4	-58,5	46,6	-3,7	-49,4	93,7	95,1	69,0
F	11,8	20,2	-30,5	95,4	82,5	87,4	83,3	-13,3	-16,1	58,6	4,2	83,0
G	99,6	100,5	-18,5	93,4	92,1	86,3	89,3	81,2	95,3	19,3	-50,4	45,1
H	-18,0	-21,4	38,9	65,9	31,2	-44,9	-40,6	59,9	22,7	-70,6	7,1	-18,4

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	99,4	100,6	78,5	49,1	60,6	-27,5	58,8	89,5	85,2	-45,0	18,4	1,5
B	-1,9	1,9	-9,9	-17,8	-23,4	79,8	-16,5	-19,3				
C	98,6	99,1										
D	99,1	99,9										
E	72,1	4,5										
F	11,8	20,2										
G	99,6	100,5										
H	-18,0	-21,4										

Présentation des résultats :

Tableau 8 : calcul des résultats (Figure 17).

POS	(%E)>40	43	45%
NEG	(%E)<20	47	49%
DOUT	20< (%E) <40	6	06%

N.B : les deux premières colonnes dans le tableau n°1 et 2 sont des témoins, et on a perdu 4 prélèvements à cause de l'hémolyse.

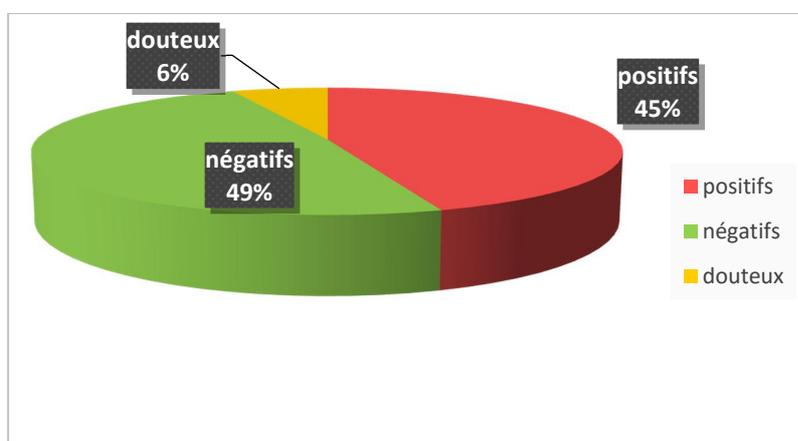


Figure 18 : les résultats du test sérologique.

- **Discussion :**

Les résultats montrent que :

La séroprévalence de la BD dans la région d'étude était estimée à 45%, ce qui pourrait supposer l'existence de pestivirus dans les élevages de la région de Bou Saada, chose que l'on ignorait auparavant du fait que nous ne l'avons jamais recherché ou soupçonné.

Cette prévalence est nettement supérieure à celles observées en France qui a été évaluée entre 8 et 9% [Loubière, angélique 2011]. Et inférieure à celles observées en Autriche et en Irlande. En Autriche, [Krametter-Frotscher 2007] a estimé que la prévalence moyenne s'élevait à près de 63% des troupeaux testés, avec des variations de 23,8 à 89,1% selon les régions. Cependant, cette étude a été réalisée sur seulement 2% des troupeaux répartis sur 4 des 9 provinces du pays. De plus, les prélèvements n'étaient effectués que sur 15 animaux du cheptel, et uniquement sur la base du volontariat, dans le cadre d'un programme de surveillance de la

Visna Maedi et de la Brucellose : les individus prélevés n'étaient donc peut-être pas représentatifs de l'ensemble de la population ovine de l'Autriche. Il faut aussi prendre en considération les pratiques d'élevages qui diffèrent entre l'Autriche et l'Aveyron : dans l'étude de Krametter-Frotscher , près de la moitié des troupeaux prélevés pratiquaient la transhumance, pratique favorisant la dissémination du virus [Krametter-Frotscher et al. 2007].

Et proche à celles en Irlande, en 2004, la prévalence de la Border Disease a été évaluée à environ 46% des cheptels testés (91 troupeaux répartis de façon représentative dans le pays) [O'Neill 2004]. Des résultats similaires à ceux présentés par O'Neill ont été obtenus sur 92 troupeaux du nord de l'Irlande par Graham. Dans cette dernière étude, des différences significatives ont été constatées entre les différentes régions du nord du pays [Graham (2001)].

En revanche, la prévalence estimée aux Pays- Bas entre 1994 et 1996 par Tegmeyer est nettement inférieur à celle observés dans nos résultats : environ 8% des troupeaux testés dans le pays possédaient des animaux séropositifs. Mais cette étude sous-estime probablement la prévalence réelle de la pathologie dans le pays car seuls 2 animaux adultes étaient prélevés dans chacune des 1000 exploitations testées [Tegmeyer 2000].

Notre enquête sur terrain ainsi que notre étude sérologique nous permettent d'incriminer le Pestivirus dans les pathologies abortives reste à confirmer par d'autre examen de laboratoire, avec un échantillonnage plus important.

Conclusion :

Notre étude nous a permis de conclure les points suivants :

La méconnaissance de la pathologie sur terrain, ainsi que la prédominance des élevages informels dans notre région, d'où l'obtention de réponses variables d'un élevage à un autre selon leurs pratiques d'élevage.

L'obtention d'un tel taux de prévalence élevé qui a été estimé à 45% nous permet de conclure qu'il faut encore beaucoup de recherche et d'études pour pouvoir déterminer l'état des lieux de cette maladie en Algérie ainsi que les facteurs de risques qui pourrait influencer la survenue de cette dernière et que notre travail ne peut être qu'une initiation à cette recherche.

Références

Références :

- ARNAL M., FERNANDEZ-DE-LUCO D., RIBA L., MALEY M., GILRAY J., WILLOUGHBY K., VILCEK S., NETTLETON P. F. A novel pestivirus associated with deaths in Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*). *Journal of General Virology*, 2004, vol. 85, 3653-3657.
- AVALOS-RAMIREZ R., ORLICH M., THIEL H. J., BECHER P. Evidence for the presence of two Novel Pestivirus Species. *Virology*, 2001, 286, 456-465.
- BARLOW R.M. Morphogenesis of hydranencephaly and other intracranial malformations in progeny of pregnant ewes infected with pestiviruses, *Journal of Comparative Pathology*, 1980, vol. 90, pp. 87 – 98
- BARLOW R. M., PATTERSON D. S. P. Border disease of sheep: a virus-induced teratogenic disorder. *Adv. Vet. Med*, 1982, 36, 10-87
- BECHER P., ORLICH M., THIEL H. J. Complete genomic sequence of border disease virus, a pestivirus from sheep. *J. Virol.*, 1998, 72, 5165-5173.
- BOUKHALFA Nabila. étude sérologique de la chlamydie abortive des petits ruminants dans la région centre 2014.
- BRUN A., LACOSTE F., REYNAUD G., KATO F., SAINT-MARC B. Evaluation of the potency of an inactivated vaccine against border disease pestivirus infection in sheep, *Proceedings of the Second Symposium on Pestiviruses*, 1993, pp. 257 – 259
- BROADDUS C.C., LAMM C.G., KAPIL S., DAWSON L., HOLYOAK G.R. Bovine viral diarrhoea virus abortion in goats housed with persistently infected cattle, *Veterinary Pathology*, 2009, vol. 46, pp. 45 – 53
- BRUGERE-PICOUX J. *Maladies des moutons*. Edition France agricole, 1994, pp. 22 – 27
- CARLSSON U. Border Disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with Bovine Virus Diarrhoea virus. *The Veterinary Record*, February 1991, vol. 128, pp.145 – 147

- CHAPPUIS G., BRUN A., KATO F., DUFFOUR R., DURANT M. Isolement et caractérisation d'un pestivirus dans un foyer d'entérocologie leucopénie chez des moutons de l'Aveyron. *Epidémiol. Santé Anim.*, 1984, 6, 117-118.
- Dahmani a. rahal k. dechicha a. et kaidi r. prevalence des avortements chez la brebis dans la region de ksar boukhari, 4^{ème} journées vétérinaire de blida, 2011, 48-51.
- DARCEL C., AVERY R.T., BAINBOROUGH A.R. Congenital trembling in lambs, *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science*, 1961, vol. 25, pp. 132 – 133
- DECHICHA Amina Samia. Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida 2004, Mémoire de magister.
- DEKKER A., WENSVOORT G., TERPSTRA C. Six antigenic groups within the genus Pestivirus as identified by cross-neutralization assays. *Vet. Microbiol.*, 1995, 47, 317-329.
- ELOIT M., TOMA B. La Border Disease . *Le Point Vétérinaire*, mars – avril 1983, vol. 15, n°72, pp. 55 – 60
- ENTRICAN G., DAND A. & NETTLETON P.F. (1994). A double monoclonal-antibody ELISA for detecting pestivirus antigen in the blood of viraemic cattle and sheep. *Vet. Microbiol.*, 43, 65–74.
- EVERMANN J.F. Pestiviral infection of llamas and alpacas , *Small Ruminant Research*, 2006, vol. 61, pp. 201 – 206
- FAO, 2001. *Global Livestock Production and Health Atlas*.
- FENTON A., SINCLAIR J.A., ENTRICAN G., HERRING J.A. & NETTLETON P.F. (1991). A monoclonal antibody capture ELISA to detect antibody to border disease virus in sheep sera. *Vet. Microbiol.* , 28, 327–333.
- FULTON R.W., D'OFFAY J.M., SALIKI J.T., BURGE L.J., HELMAN R.G., CONFER A.W., BOLIN S.R. & RIDPATH J.F. (1999). Nested reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) for typing ruminant pestiviruses: bovine viral diarrhoea viruses and border disease virus. *Can. J. Vet. Res.*, 63, 276–281.

- GARCIA-PEREZ A.L., MINGUIJON E., ESTEVEZ L., BARANDIKA J.F., ADURIZ G., JUSTE R.A., Clinical and laboratorial findings in pregnant ewes and their progeny infected with Border Disease virus (BDV-4 genotype). *Research in Veterinary Science*, 2009, vol. 86, pp. 345 – 352
- GARDINER A.C., BARLOW R.M. Vertical transmission of Border Disease infection, *Journal of Comparative Pathology*, 1981, vol. 91, pp. 467 – 470
- GIANGASPERO M., HARASAWA R. Ovine pestiviruses : their taxonomic status revealed by palindromic nucleotide substitutions. *Veterinary Microbiology*, 1999, vol. 70, pp. 33 – 39
- GRAHAM D.A., CALVERT V., GERMAN A., MC CULLOUGH S.J., Pestiviral infections in sheep and pigs in Northern Ireland , *The Veterinary Record*, 2001, vol. 148, pp. 69 – 72.
- GREDAAL, 2001. Une première lecture des résultats préliminaires du recensement relatif aux élevages en Algérie (2000-2001).
- GUNN H.M. Role of fomites and flies in the transmission of bovine viral diarrhoea virus , *The Veterinary Record*, 1993, vol. 132, pp. 584 – 585
- HOUE H. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections. *Veterinary Microbiology*, 1999, 64 :89-107.
- HUGHES L.E., KERSHAW G.F., SHAW I.G., « B » or Border Disease, *The Veterinary Record*, 1959, vol. 71, pp. 313 – 317
- HUSSIN A.A., WOLDEHIWET Z. Effects of experimental infection with border disease virus on lymphocyte subpopulation in the peripheral blood of lambs, *Research in Veterinary Science*, 1994, vol. 56, pp. 201 – 207
- I.T. E. B. O (Institut Technique de l’Elevage Bovin et Ovin). 1996. les races ovines algériennes principales caractéristiques. Prospectus.
- KIRKLAND P.D., HART K.G., ROGAN E., The impact of pestivirus on a artificial breeding program for cattle , *Australian Veterinary Journal*, 1990, vol. 67, pp. 261 – 263
- KRAMETTER-FROTSCHER R., LOITSCH A., KOHLER H., SCHLEINER A., SCHIEFER P., MOSTL K., GOLIA F., BAUMGARTNER W. Serological survey for

antibodies against pestiviruses in sheep in Austria, *The Veterinary record*, 2007, vol. 160, pp. 726 – 730

- KRAMETTER- R., NIELSEN S., LOITSCH A., FROTSCHER W., BENETKA V., MOESTL K., BAUMGARTNER W. Pestivirus exposure in free-living and captive deer in Austria, *Journal of Wildlife Disease*, 2004, vol. 40, pp.791 – 795
- LOKEN T., KROGSRUD J., BJERKAS I., Outbreaks of Border Disease in goats induced by a pestivirus-contaminated of vaccine, with virus transmission to sheep and cattle. *Journal Of Comparative Pathology*, 1991, vol. 104, pp. 195 – 209
- Loubière, Angélique. La border disease en Aveyron : analyse de la situation épidémiologique entre 2006 et 2010. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2012, 176 p.
- MANUEL TERRESTRE DE L'OIE Maladie de la frontière (« Border Disease ») . Chapitre 2. 10. 5. Manuel Terrestre de l'OIE, 2005, pp. 1142 – 1152 (Disponible sur : http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/pdf_fr/Chapitre%20final05%202.10.5_BD.pdf)
- MANKTELOW B.W., PORTER W.L., LEWIS K.H.C. Hairy shaker disease of lambs , *New Zealand Veterinary Journal*, 1969, vol. 17, pp. 245 – 248
- MCGOLDRICK A., BENSUADE E., IBATA G., SHARP G. & PATON D.J. (1999). Closed one-tube reverse transcription nested polymerase chain reaction for the detection of pestiviral RNA with fluorescent probes. *J. Virol. Methods*, 79, 85–95.
- Mondoly.p et Pouget.c . La border disease, commission ovin (sngtv) . Fiche n°18 novembre 1998.
- NETTLETON P.F., GILMOUR J.S., HERRING J.A., SINCLAIR J.A. The production and survival of lambs persistently infected with Border Disease virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 1992, vol. 15, pp. 179 – 188
- NETTLETON P.F., ENTRICAN G., Ruminant pestiviruses, *The British Veterinary Journal*, 1995,vol. 151, pp. 615 – 642
- NETTLETON P., GILRAY J.A., RUSSO P., DLISSI E. Border Disease of sheep and goats .*Veterinary Research*, 1998, vol. 29, pp. 327 – 340

- NISKANEN R., LINDBERG A. Transmission of bovine viral diarrhoea virus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens, *Veterinary Journal*, 2003, vol. 165, pp. 125-130
- O'NEILL R., O'CONNOR M., O'REILLY P.J. : A survey of antibodies to pestivirus in sheep in the Republic of Ireland, *Irish Veterinary Journal*, 2004, vol. 57(9), pp. 525 - 530
- OLDE RIEKERINK R.G.M., DOMINICI A., BARKEMA H.W., DE SMIT A.J. Seroprevalence of pestivirus in four species of alpine wild ungulates in the High Valley of Susa, Italy, *Veterinary Microbiology*, 2005, vol. 108, pp. 297 – 303
- PASSLER T., WALZ P.H. Bovine viral diarrhoea infections in heterologous species. *Animal Health Research Reviews*, 2009, pp. 1 – 15
- PATON D.J., CARLSSON U., LOWINGS J.P., SANDS J.J., VILCEK S., ALENIUS S. Identification of herd-specific bovine viral diarrhoea virus isolates from infected cattle and sheep , *Veterinary Microbiology*, 1995, vol.43, pp. 283 – 294
- R.de Cremoux et F. corbiere, La border disease chez les petits ruminants , Septembre 2013 :Réf 001338045.
- REYNAL J. Etude sérologique de maladies abortives non réglementées chez les isards et les ovins de la réserve de chasse et de la faune sauvage d'Orlu (09). Thèse, E.N.V.T., Toulouse, 2004, 202p.
- RIDPATH J. F., BOLIN S. R. Comparison of the complete genomic sequence of the border disease virus, BD31, to other pestiviruses. *Virus Res.*, 1997, 50, 237-243.
- RUSSO P. La border disease. *Bull. Lab. Vét.*, 1986, 21, 43-48
- SANDVIK T., PATON D.J & LOWINGS P.J. (1997). Detection and identification of ruminant and porcine pestiviruses by nested amplification of the 5' untranslated cDNA region. *J. Virol. Methods*, 64, 43–56.
- SCHERER C.F.C., FLORES E.F., WEIBLEN R., CARON L., IRIGOYEN L.F., NEVES J.P., MACIEL M.N. Experimental infection of pregnant ewes with bovine viral diarrhoea virus type-2 (BVDV-2): effects on the pregnancy and foetus, *Veterinary Microbiology*, 2001, vol. 79, pp. 285 -299.

- SELLALI Sabrina. étude sérologique de la fièvre Q ovine dans la région centre de l'Algérie 2015, Mémoire de magister.
- STATISTIQUES AGRICOLES. 1998. Série B, productions.
- STATISTIQUES AGRICOLES. Campagne de vaccination anti-claveleuse Bou Saada 2015.
- SWEASEY D., PATTERSON S.P., RICHARDSON C., HARKNESS J.W., SHAW I.G., WILLIAMS W.W, Border disease : a sequential study of surviving lambs and an assessment of its effects on profitability, *The Veterinary Record*, 1979, vol. 104, pp. 447 – 450
- TABBAA D., GIANGASPERO M., NISHIKAWA H. Seroepidemiological survey of Border Disease (BD) in Syrian Awassi sheep. *Small Ruminant Research*, 1995, vol. 15, pp. 273 – 277
- TEGTMEEIER C., STRYHN H., UTTENTHA I., KJELDSSEN A.M., NIELSEN T.K., Seroprevalence of Border Disease in Danish sheep and goat herds , *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2000, vol. 41, pp. 339 – 344
- THABTI F., FRONZAROLI L., DLISSI E., GUIBERT J. M., HAMMAMI S., PEPIN M., RUSSO P. Experimental model of Border Disease Virus infection in lambs: comparative pathogenicity of pestiviruses isolated in France and Tunisia. *Vet. Res.*, 2002, 33, 35-45.
- TARRY D.W., BERNAL L., EDWARDS S. Transmission of bovine virus diarrhoea by blood feeding flies, *The Veterinary Record*, 1991, vol. 128, pp. 82 – 84
- THIRY E., BUONAVOGLIA C. La maladie des frontières chez les ovins. *Le Point Vétérinaire*, 2002, Numéro spécial : Pathologie ovine et caprine, pp. 93 – 95
- VAN RIJN P.A., VAN GENNIP H.G.P., LEENCLERSE C.H., BRUSCHKE C.J.M., PATON D.J., MOORMANN R.J.M. & VAN OIRSCHOT J.T. (1997). Subdivision of the pestivirus genus based on envelope glycoprotein E2 *Virology*, 237, 337–348.
- VILCEK S., NETTLETON P.F. Pestiviruses in wild animals. *Vet. Microbiol.* ,2006, 116 : 1-12.

- VILCEK S., PATON D.J., UKOVIC B., S TROJNY L., IBATA G., MOUSSA A., LOITSC H.G., ROSSMANITH W., VEGA S., S CICLUNA M.T., PALFI V. Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into 11 genetic groups. *Arch. Virol.* , 2001, 146 : 99-115.
- VILCEK S. (2001). Identification of pestiviruses contaminating cell lines and fetal calf sera. *Acta Virol.*, 45, 81–86.
- VILCEK S., HERRING A.J., HERRING J.A., NETTLETON P.F., LOWINGS J.P.L. & PATON D.J (1994) Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch. Virol.*, 136, 309–323.
- VILCEK S., NETTLETON P.F., PATON D.J. & BELAK S. (1997). Molecular characterization of ovine pestiviruses. *J. Gen. Virol.*, 78, 725–735.
- VILCEK S. & PATON D.J. (2000). A RT-PCR assay for the rapid recognition of border disease virus. *Vet. Res.*, 31 , 437–445.

Annexes

Annexe n°01 : Carte de la région d'étude :

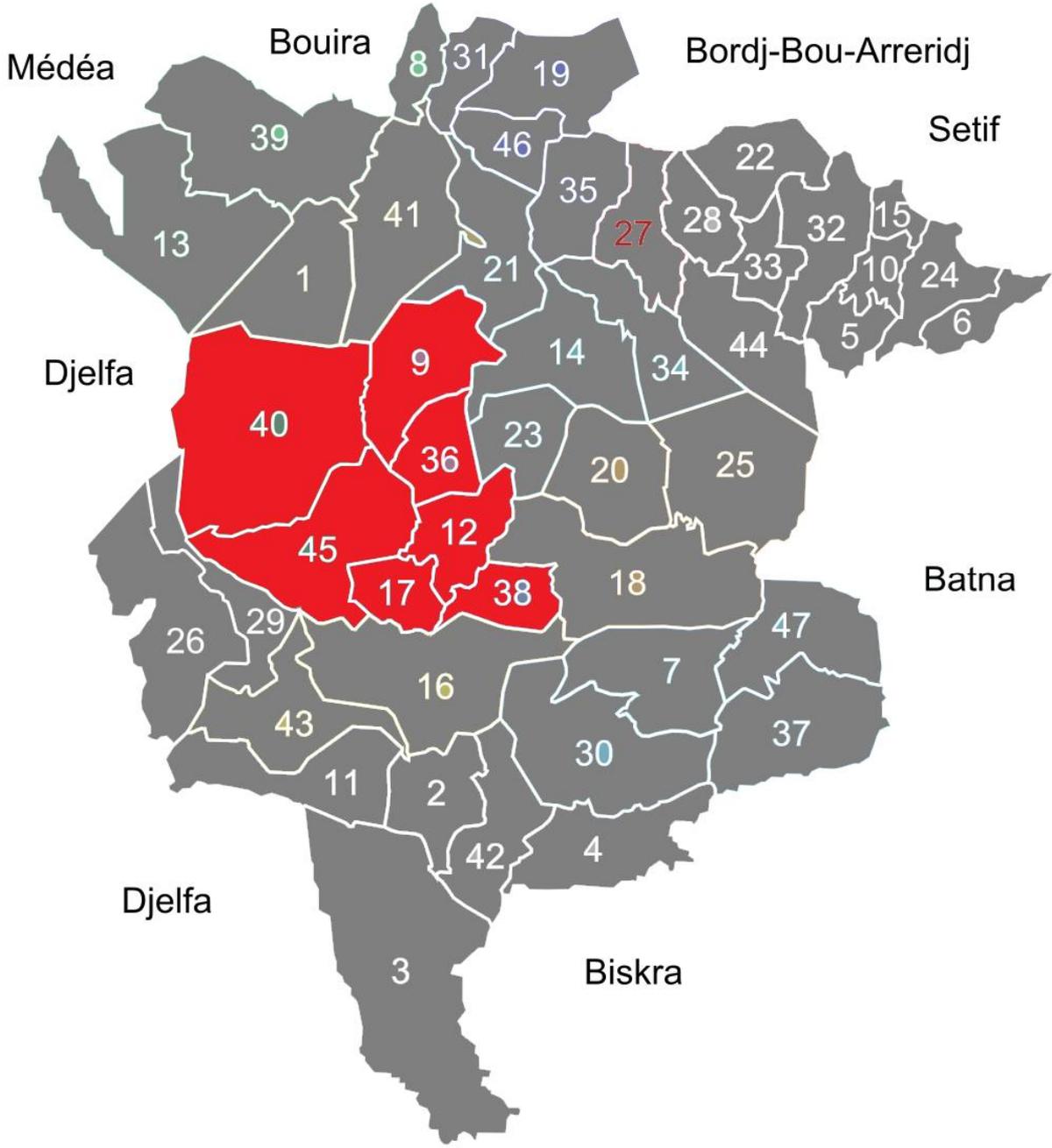


Figure 19 : carte de la région d'étude [Benzouh(09). Bou Saada (12). El Hamel (17). Oultem (38). Sidi Ameer (40). Temsa (45)]

Annexe n°02 :

Questionnaire Participant Etude BD

Date de réponse questionnaire : / / 2016

Nom de vétérinaire :

Wilaya :

Localité :

Publique :

Privé :

1/ Connaissez-vous la border disease O/N ?.....

2/ Signes cliniques :

- 1/ L'apparition des signes cliniques : (mort-nés. dermatite. tremblements. malformations osseuses. pigmentation anormale de la laine) O/N ?.....
- 2/ Troubles affectant les agneaux :
 - Naissance d'agneaux chétifs O/N
 - Apparition 1 à2 semaines après la naissance des signes suivants :(diarrhée .BP. Ecthyma) O/N ?
- 3/ Trouble de la reproduction :
 - Y a-t-il eu un nombre anormalement élevé d'avortements O/N ?.....
 - Si oui : quel a été le taux d'avortement ?
 - A quel stade de la gestation ont-ils eu lieu ?.....
 - A quelle période ces avortements ont-ils commencés ?

Après vaccination		Période de lutte	
-------------------	--	------------------	--

- Combien de temps cette vague d'avortement a-t-elle durée ?
- ES que le taux a augmenté par rapport à l'année précédente O/N ?.....
- 4/Avez-vous remarqué une mortalité brusque chez les adultes (syndrome hémorragique diarrhée hémorragique) O/N ?

- SI oui : quelle a été la proportion d'animaux touchés ?.....
- A quelle date ces signes cliniques sont-ils apparus ?.....
- ES que l'éleveur vous fait appel en cas d'avortements O/N ?

Annexe n° 03 :

Questionnaire Participant Etude BD

Date de réponse : / / 2016

Code éleveur :

N° troupeau :

Wilaya :

Localité :

Taille du troupeau :

1. L'exploitation :

1) Les ateliers de l'exploitation :

Ovins		Bovins		Caprins		Mixtes	
-------	--	--------	--	---------	--	--------	--

2) L'atelier bovin se situe-t-il sur le même site que l'atelier ovin O/N ?

3) Les mouvements d'animaux (achats, pensions, estives,..) dans l'atelier bovin sont-ils :

Rares		Fréquents		Très fréquents	
-------	--	-----------	--	----------------	--

4) Présence d'atelier caprin O/N :

5) L'atelier caprin se situe-t-il sur le même site que l'atelier ovin O/N ?

6) Les mouvements d'animaux (achats, pensions, estives,..) dans l'atelier caprin sont-ils :

Rares		Fréquents		Très fréquents	
-------	--	-----------	--	----------------	--

2. Les mouvements d'animaux :

- Le renouvellement :

a. -Auto renouvellement O/N :

b. -achat d'agnelles de renouvellement O/N :

- L'engraissement :

a. Engraissement : de leurs agneaux seuls O/N :

- b. D agneaux de différents élevages (collecte dans le voisinage, marchés,) O/N :.....
- c. Connaissance du statut des agneaux à l'engraissement provenant d'autres élevages O/N ?.....

3. Risque d'introduction du BD dans l'exploitation :

- a. Au cours de 12 derniers mois, avez-vous acheté des animaux O/N ?.....
- b. Si vous avez acheté des animaux ont –ils été testés pour le BD O/N ?.....
- c. Au cours des 12 derniers mois vous êtes déplacés avec votre cheptel O/N ?.....
- d. En pâture, les ovins de votre troupeau sont-ils en contact avec des animaux d'autres troupeaux O/N ?.....
- e. Es que votre cheptel est entré en contact avec des animaux sauvages O/N ?.....

4. Gestion de la reproduction :

- a. Mode de reproduction :
 - Saillie naturelle O /N ?.....
 - IA O/N ?
 - Nombre de mise bas par an :.....
 - Ya-t-il des cas d'avortements enregistrés O/N ?.....,si oui combien depuis 1 an ?....
- b. Les reproducteurs :
 - Origine des béliers :.....
 - Existence de béliers communs à plusieurs exploitations (location de béliers) O/N ?....

5. Antécédents de l'élevage :

- Y a-t-il déjà eu des épisodes cliniques de BD dans l'élevage O/N ?
- Autres problèmes sanitaires rencontrés : exemple parapoxvirus,

- Quel est Le statut vaccinal du cheptel ?.....