

UNIVERSITE BLIDA 1
Institut des Sciences Vétérinaires

THESE DE DOCTORAT
En Sciences Vétérinaires
Spécialité : Microbiologie Médicale

**Etude des Propriétés Biologiques du virus de la Rhinotrachéite
Infectieuse Bovine isolé en Algérie.**

Par KADDOUR Abdenour

Devant le jury composé de :

- A. A BERBER Professeur, U. Blida 1 Président N.**
- B. H KHALED Maitre de conférences A, U. Blida 1 Examineur**
- C. N. AZZAG Maitre de conférences A ; ENSV Examinatrice**
- D. A. BAZIZI Professeur, ENSV Examinatrice**
- E. L. AOUN Professeur, U. El Taref Examinatrice**
- F. A. BOUYOUCHEF Professeur, U. Blida 1 Promoteur**

Blida 2023

Remerciements

Je remercie le bon Dieu d'avoir réussi dans ce travail

Je tiens à remercier le membre des jurys d'avoir accepté de corriger et d'être mon jury de soutenance de cette thèse.

Je tiens à remercier Pr BERBER ALI un exemple de simplicité et de gentillesse

Je tiens à remercier Pr AOUN L d'avoir accepté de corriger ma thèse

Je tiens à remercier Pr AZZAG N d'avoir accepté de corriger ma thèse

Je tiens à remercier Pr BAZIZI A d'avoir accepté de corriger ma thèse

Je tiens à remercier Dr KHALED H d'avoir accepté de corriger ma thèse

Je tiens à remercier Pr BOUYOUCHEF A d'avoir accepté de me diriger, pour ses conseils et ses orientations, de sa patience, un grand respect pour lui.

Je remercie ERIC DUBOIS mon co-promoteur ; d'avoir accepté de me diriger, pour ses conseils et ses orientations lui qui a cru en moi.

Je remercie Pr GOZALO F d'avoir accepté de me diriger, pour ses conseils et ses orientations.

Je remercie le directeur de Laboratoire de l'ANSES SOPHIA ANTIPOLICE NICE et son personnel à leur tête Dr ABDEKRIM BOUMADIEN, CRISTINA !!, CRISTOPH, et toute l'équipe

Je tiens à remercier Dr KECHIH Directrice de Laboratoire Régional Vétérinaire de DBK

Je remercie Dr AMELLAL de LRV DBK

Je remercie Pr MOULA NASSIM un ami un grand homme, pour son aide précieuse dans ce travail, merci beaucoup mon ami !!

Je remercie tous ceux qu'ont contribués de près ou de loin dans ce travail, merci infiniment !!

Je remercie ma femme et ma famille pour tous ce qu'elle fait pour moi un GRAND MERCI !!

Dédicaces

Je dédier ce modeste travail à

Mon frère et un grand ami SADOUDI AHMED que Dieu reçoit dans son vaste paradis amine.

Mes parents ma fierté et mes idoles ; que Dieu vous garde pour nous

Ma femme ; ma chère un grand soutien une lumière dans ma vie

Ma famille mes sœurs FATMA, FATIHA, mes frères MOHAMED ALI, AHCEN, HOCINE, SLIMANE, SMAIL, KAMEL, OMAR, BRAHIM ; je vous aime !!

Mes amis Docteurs YAHY KRIMOU, Lkhel, Halim, Slimane, Salim, Amar, Hacem, Hamid, la promotion ENV 2004.

Mes enseignants KADDOUR RACHID, LAGHRISSI, MAKOUR, BENSEGNI et autres....

Sommaire

Résumé

Introduction 1

Historique 3

CHAPITRE I EPIDEMIOLOGIE

1. Epidémiologie de l'IBR..... 4

1.1. Situation actuelle.....4

1.1.1. En Algérie.....4

1.1.2. En France.....4

1.1.3. En Europe5

1.2. Epidémiologie analytique.....6

1.2.1. Sources de BHV1.....6

1.2.2. Transmission directe.....8

1.2.3. Transmission indirecte.....9

1.2.4. Facteurs de risque de transmission.....9

1.2.4.1. Intervention de vecteurs du virus9

1.2.4.2. Insémination artificielle.....10

1.2.4.3. Mise en estive.....11

1.2.4.4. Sevrage des veaux.....11

CHAPITRE II VIROLOGIE

1. Classification.....12

1.1. Taxonomie12

1.1.1. Famille des herpesviridae12

1.1.1.1. Sous-famille des betahepesvirinae12

1.1.1.2. La sous-famille des gammaherpesvirinae13

1.1.1.3. La sous-famille des alphaherpesvirinae14

1.1.1.3.1. Herpèsvirus bovin type 1 (BHV-1)14

1.1.1.3.2. Le BoHV-1.115

1.1.1.3.3 Le BHV-1.2	15
1.1.1.3.4 Un troisième sous-type de BoHV-1(BoHV-1.3)	15
2.1.1.4 Souches et mutants	16
2 Structure du virion	16
3 Génome	18
4 Cycle de multiplication virale	20
4.1 Adsorption ou attachement	20
4.2 Pénétration dans la cellule hôte	20
4.3 Transcription et réplication de l'ADN	21
4.3.1. décapsidation	21
4.3.2 La synthèse des protéines	21
4.3.3 Réplication de l'ADN et encapsidation.....	22
4.4 Maturation	22
4.5 Libération du virus	22
5 Glycoprotéines virales	23
CHAPITRE III PATHOGENIE	
1. Généralités	25
1.1. Primo-infection	25
1.1.1. Pénétration dans l'organisme	25
1.1.1.1. Contamination	25
1.1.1.2. Réplication et excrétion virale.....	26
1.1.1.3. Dissémination dans l'organisme.....	28
1.1.1.3.1. Virémie	28
1.1.1.3.2. Voie neurale	28
1.1.1.3.3. Transmission de cellule en cellule	29
CHAPITRE IV CLINIQUES	
1. Forme clinique de l'IPV	32
1.1 Femelle.....	32
1.2. Mâle balanoposthite.....	33
2. Forme IBR	34

3. Avortement.....	35
4. Mammite.....	36
5. Symptômes digestifs	37
6. Mortalité néonatale.....	37
7. Infection subclinique.....	37
8. La latence.....	38
9. Réactivation et réexcrétion	40

CHAPITRE V REPONSE IMMUNITAIRE

1. Réponse immunitaire non spécifique	41
1.2. Réponse cellulaire.....	42
1.3. Immunité humorale.....	43

PARTIE PRATIQUE

2. Matériels et Méthode.....	59
2.1. Matériels non Biologique.....	59
2.1.1. Matériel	
Biologique	59
3. Méthode.....	59
3.1. Recensement des élevages rencontrant des avortements..	59
3.2. Etude des facteurs de risque	60
3.3. Période d'étude	60
3.4. Réalisation des prélèvements sanguins.....	61
3.5. Préparation et identification des échantillons	61
3.6. Domaine d'étude.....	61
4. Analyse des prélèvements	63
4.1. ELISA indirecte gB	63
4.2. ELISA de Compétition gE	63
4.3. Séroneutralisation.....	64
4.4. Isolement du virus	65
4.1.1. Réactivation virale à la dexaméthasone	66
4.1.2. Ajustement des sérums	69

5. Recherche virale dans les ganglions nerveux trijumeaux.....	70
5.1. Description de la méthode	70
5.1.1.1^{ère} Phase : préparation du site de découpe.....	70
5.1.2.2^{ème} Phase : découpe.....	73
5.1.3.3^{ème} phase : prélèvement des ganglions trijumeaux.....	76
6. Analyse statistique	79

Résultats

1. La séroprévalence de l'IBR (tests ELISA gB).....	80
La séroprévalence de l'IBR selon les régions	81
1.1. La séroprévalence de l'IBR selon le type de production.....	82
1.2. La séroprévalence de l'IBR selon le type d'élevage.....	83
1.3. La séroprévalence de l'IBR selon l'état d'hygiène.....	84
1.4. La séroprévalence de l'IBR selon l'introduction.....	85
1.5. La séroprévalence de l'IBR selon l'âge.....	86
1.6. séroprévalence de l'IBR selon le sexe	87
2. La séroneutralisation virale.....	88
3. Résultats de l'analys statistique	92
Discussion	96
Conclusion Générale.....	112
Perspectives	114
Référence bibliographiques.....	115
Annexe1.....	142
Annexe2.....	147
Liste tableaux	154
Liste des figure	155

Liste des photos	157
-------------------------------	------------

Listes des abréviations	158
--------------------------------------	------------

Résumé

L'herpèsvirus bovin de type 1 (BoHV-1) provoque principalement une infection des voies respiratoires supérieures la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) et avortements chez les bovins adultes la vulvovaginite infectieuse (IPV).

Une synthèse bibliographique pour éclairer les différents aspects ; les caractéristiques du virus BoHV-1; la répartition géographique ; les manifestations cliniques ; les modalités de transmission ; la physiopathologie de l'infection ; les méthodes de diagnostic et les mesures de prophylaxie.

Une partie pratique pour recueillir des données qui permettront d'apprécier plus finement la situation épidémiologique de l'IBR dans les cheptels ciblés en Algérie.

Cette partie pratique est divisée en trois étapes successives :

La première étape : elle a comme objectif de chercher la circulation de virus de l'IBR le BHV-1 dans les cheptels bovins algériens, elle consiste à une enquête sérologique préliminaire Elisa gB sur 155 bovins, suivie d'une étude de comparaison des bovins positifs (N=11) avec Elisa gE, pour éliminer les positifs vaccinés.

La deuxième étape : l'objectif est de déterminer l'importance de la séroprévalence de du virus Le BoHV-1 dans les régions de Tizi ousou, Boumerdes, Buirra, Bordj Bouareredj ; associée à des facteurs de risques ; région, sexe, âge, type de production, type d'élevage, état d'hygiène, introduction des nouveaux animaux (N=1129) Elisa gB.

La troisième étape ; son objectif est ; étudier les caractéristiques biologiques du virus Le BoHV-1 ; culture cellulaire séroneutralisation virale gB, gE, gD, réactivation du virus chez les bovins séropositifs à la dexaméthasone pendant 5 jours, ajustement des sérums algérien avec des vrais positifs de référence et des vrais négatifs de référence, et enfin isolement et identification BoHV-1 virus Algérien grâce à la PCR.

Des enquêtes auprès des élevages bovins rencontrant des avortements, les données sont recueillies lors des prélèvements ; Les facteurs évalués sont : le système élevage (intensif et semi-intensif), le système de production (lait, viande, mixte), les nouveaux bovins introduits à la ferme (non, oui), l'âge des bovins (6–36, 37-72 et > 72 mois), sexe, état d'hygiène de l'étable et la région géographique (Tizi-Ouzou, Boumerdes, Buirra, Bordj Bouareredj).

Pour estimer la séroprévalence le nombre d'animaux échantillonnés (n = 1068 prélèvements valables des animaux plus de 6 mois), la prévalence dans cette étude a été calculé en tenant compte d'une prévalence attendue de 50%, et d'un niveau de confiance de 95% et d'une précision de 5%. Tous les animaux inclus n'étaient pas

vaccinés contre BoHV-1. La plupart des animaux échantillonnés appartenait à des croisements de type Montbéliard, Holstein, charolais, Il n'y avait aucun signe clinique chez les animaux enregistrés lors de l'échantillonnage ; ainsi les prélèvements sont effectués de Mai 2010 au septembre 2012 (n=136), ensuite une autre étude est réalisée mai 2014 septembre 2015 (n=1063). La réactivation de virus et récupération des prélèvements ; sang, écouvillons nasaux et vaginaux sont réalisés de 13 octobre 2016 au 13 novembre 2016 (n=5) et enfin pour la PCR un prélèvement des ganglions nerveux trijumeau chez deux vaches (n=2) en juin 2020.

L'analyse des échantillons avec ELISA indirecte gB (n=136) Laboratoire Européen de Référence de l'IBR de l'Anses Sophia-Anti police de Nice en France (kits ELISA BoHV-1 IBRgB IDEXX Laboratories Inc., Westbrook; Maine 04092 USA). Pour différencier les bovins séropositifs du virus sauvage et des bovins vaccinés on a effectué une ELISA de Compétition gE (n=13) (kit IDEXX). Suite à la confirmation des résultats de l'ELISA gE une séroneutralisation est réalisée. La réactivation du virus avec des injections de dexaméthasone, elle induit des changements dans le ganglion trigéminal, la dose permettant la réactivation virale est de 0,1 mg/kg/jour pendant 5 jours.

Nous avons réalisé la réactivation sur cinq vaches séropositives avec des injections de 0,1 mg/kg/jour pendant 5 jours associés à une antibiothérapie préventive Oxytétracycline et ampicilline.

On a prélevé ensuite du mucus nasal et vaginal avec 2 écouvillons/ vache/ jour, de J5 à J10 avec un total de 12 écouvillons pour chaque vache, ensuite on a prélevé du sang deux tubes de 10ml/vache/ jour à J1, J2, J3, J4, J5. La recherche du virus se fait ensuite par isolement sur culture cellulaire et PCR. On a récupéré ; 1 litre (2 poches de sang de 500ml) pour chaque prélèvement ; à J0, J10, J20 et J30 ainsi 5 litre pour chaque vache sont prélevées, 1L à (J0, J10, J20) et 2L à J30.

Malheureusement ces échantillons ne sont pas analysés, au Laboratoire Européen de Référence de l'IBR de l'Anses Sophia-Anti police de Nice en France, suite à l'annulation de la convention de coopération et transfère de la thématique au laboratoire de Niort en France. Le prélèvement des ganglions trijumeaux chez un bovin se fait sur la caboche obtenue en fin de chaîne d'abattage, c'est-à-dire la tête à laquelle on a retiré les mandibules, les muscles de la joue et la langue. La caboche comprend alors le crâne et l'appareil hyoïde, les ganglions sont conservés Pour une analyse PCR.

Une étude statistique pour l'analyse des facteurs de risques associés aux maladies, le logiciel SAS version 9.2 (Cary, N.C.) a été utilisé pour effectuer les analyses des facteurs de risques. Les calculs ont été effectués avec un intervalle de confiance de 95%. En conclusion, cette étude confirme la forte séroprévalence du BoHV-1. Le fait que les animaux ne soient pas vaccinés et que toutes les tranches d'âge aient une séroprévalence élevée indique que le BoHV-1 circule naturellement dans cette population et la région, et l'IBR pratiquement a touché toutes les tranches d'âges des bovins, elle touche tous les types de productions et les deux systèmes d'élevage intensif et semi intensifs. Le sexe ne s'avère pas un facteur de risque important il

n'est pas significatif, les deux sexes sont sensibles à l'IBR. Les résultats montrent que le virus Algérien est très immunogène avec une NC 1/8 à 1/48 une propriété biologique très recherchée en virologie. Ce travail nous a permis de maîtriser la technique de récolter et de conserver des ganglions trijumeaux de deux vaches séropositives, auxquelles nous avons effectué une réactivation du virus, une première en Algérie. En fin ces résultats montrent qu'il est nécessaire de suggérer un programme de contrôle intensif pour réduire les taux d'infection par le BHV-1. Sur la base des résultats actuels, nous recommandons l'utilisation d'un vaccin marqueur et la différenciation sérologique des vaches naturellement infectées des animaux vaccinés pour l'éradication de l'IBR / IPV. Des mesures de biosécurité planifiées sont nécessaires pour contrôler le risque épidémiologique d'infection dû à la présence de porteurs latents de BHV-1.

Ces résultats sont très satisfaisants surtout pour la séroneutralisation virale, même à des dilutions 1/48 on arrive à des agglutinations une première au Laboratoire de Référence Européen et en Algérie, ce qui est très recherché en virologie surtout pour la vaccination. Identifier le virus algérien génétiquement est possible puisque on a les ganglions trijumeaux congelés, et faire sortir le profil génétique des protéines de ce virus, alors l'identification de la protéine responsable de pouvoir immunogène sera étudiée pour des éventuels sérums de références (ajustement de sérums) ce qui nous permettra de créer des kits Elisa et séroneutralisation virale très performants avec des sérums naturellement de qualité. En fin un vaccin avec nos collègues et nos partenaires français sera aussi envisageable, surtout que le pouvoir immunogène de virus européen est très réduit voir absent au fil de temps.

Abstra

Bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) primarily causes upper respiratory tract infection infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and abortions in adult cattle infectious vulvovaginitis (IPV). A bibliographical summary to shed light on the different aspects; the characteristics of the BoHV-1 virus; geographical distribution; clinical manifestations; the methods of transmission; the pathophysiology of the infection; diagnostic methods and prophylactic measures.

A practical part to collect data which will allow a more detailed assessment of the epidemiological situation of IBR in the targeted herds in Algeria.

This practical part is divided into three successive stages:

The first stage: its objective is to look for the circulation of IBR virus BHV-1 in Algerian cattle herds, it consists of a preliminary Elisa gB serological survey on 155 cattle, followed by a comparison study of cattle positive (N=11) with Elisa gE, to eliminate vaccinated positives.

The second stage: the objective is to determine the importance of the seroprevalence of the BoHV-1 virus in the regions of Tizi ousou, Boumerdes, Buir, Bordj Bouareredj; associated with risk factors; region, sex, age, type of production, type of breeding, state of hygiene, introduction of new animals (N=1129) Elisa gB. The third step; its objective is; study the biological characteristics of the BoHV-1 virus; cell culture viral seroneutralization gB, gE, gD, reactivation of the virus in dexamethasone seropositive cattle for 5 days, adjustment of Algerian sera with reference true positives and true reference negatives, and finally isolation and identification of BoHV-1 virus Algerian thanks to PCR.

Surveys of cattle farms experiencing abortions, data are collected during sampling; The factors evaluated are: the breeding system (intensive and semi-intensive), the production system (milk, meat, mixed), new cattle introduced to the farm (no, yes), the age of the cattle (6–36 , 37-72 and > 72 months), sex, state of hygiene of the stable and geographical region (Tizi-Ouzou, Boumerdes, Buir, Bordj Bouareredj).

To estimate seroprevalence the number of animals sampled (n = 1068 valid samples from animals over 6 months), the prevalence in this study was calculated taking into account an expected prevalence of 50%, and a level of 95% confidence and 5% accuracy. All animals included were not vaccinated against BoHV-1. Most of the animals sampled belonged to Montbéliard, Holstein, Charolais type crosses. There were no clinical signs in the animals recorded during sampling; thus the samples are taken from May 2010 to September 2012 (n=136), then another study is carried out May 2014 September 2015 (n=1063). Reactivation of viruses and recovery of samples; blood, nasal and vaginal swabs were taken from October 13, 2016 to November 13, 2016 (n=5) and finally for PCR a sample of the trigeminal nerve ganglia from two cows (n=2) in June 2020.

Analysis of samples with indirect gB ELISA (n=136) IBR European Reference Laboratory of Anses Sophia-Anti police in Nice, France (BoHV-1 IBRgB ELISA kits IDEXX Laboratories Inc., Westbrook; Maine 04092 USA). To differentiate seropositive cattle from the wild virus and vaccinated cattle, a gE Competition ELISA (n=13) was carried out (IDEXX kit). Following confirmation of the results of the gE ELISA, serum neutralization is carried out. Reactivation of the virus with

dexamethasone injections induces changes in the trigeminal ganglion; the dose allowing viral reactivation is 0.1 mg/kg/day for 5 days.

We carried out reactivation on five seropositive cows with injections of 0.1 mg/kg/day for 5 days associated with preventive antibiotic therapy Oxytetracycline and ampicillin.

Nasal and vaginal mucus was then taken with 2 swabs/cow/day, from D5 to D10 with a total of 12 swabs for each cow, then blood was taken in two tubes of 10ml/cow/day on D1, D2, J3, J4, J5. The search for the virus is then carried out by isolation on cell culture and PCR. We recovered; 1 liter (2 blood bags of 500ml) for each sample; on D0, D10, D20 and D30, 5 liters for each cow are taken, 1L on (D0, D10, D20) and 2L on D30. Unfortunately these samples are not analyzed at the IBR European Reference Laboratory of Anses Sophia-Antipolis in Nice in France, following the cancellation of the cooperation agreement and transfer of the theme to the Niort laboratory in France. The sampling of the trigeminal lymph nodes in a bovine is done on the noggin obtained at the end of the slaughter line, that is to say the head from which the mandibles, cheek muscles and tongue have been removed. The noggin then includes the skull and the hyoid apparatus, the lymph nodes are preserved for PCR analysis.

A statistical study for the analysis of risk factors associated with diseases, SAS software version 9.2 (Cary, N.C.) was used to perform the risk factor analyses. Calculations were carried out with a 95% confidence interval. In conclusion, this study confirms the high seroprevalence of BoHV-1. The fact that the animals were not vaccinated and that all age groups had a high seroprevalence indicates that BoHV-1 is naturally circulating in this population and the region, and IBR practically affected all age groups of animals. cattle, it affects all types of production and both intensive and semi-intensive breeding systems. Sex does not prove to be an important risk factor; it is not significant; both sexes are sensitive to IBER. The results show that the Algerian virus is very immunogenic with a NC 1/8 to 1/48, a biological property highly sought after in virology. This work allowed us to master the technique of harvesting and preserving trigeminal lymph nodes from two seropositive cows, to which we carried out reactivation of the virus, a first in Algeria. Ultimately, these results show that it is necessary to suggest an intensive control program to reduce BHV-1 infection rates. Based on the current results, we recommend the use of a marker vaccine and serological differentiation of naturally infected cows from vaccinated animals for the eradication of IBR/IPV. Planned biosecurity measures are necessary to control the epidemiological risk of infection due to the presence of latent BHV-1 carriers.

These results are very satisfactory especially for viral seroneutralization, even at dilutions 1/48 we arrive at agglutinations a first at the European Reference Laboratory and in Algeria, which is very sought after in virology especially for vaccination. Identifying the Algerian virus genetically is possible since we have the trigeminal ganglia frozen, and bringing out the genetic profile of the proteins of this virus, then the identification of the protein responsible for immunogenicity will be studied for possible reference sera (adjustment of sera) which will allow us to create high-performance Elisa and viral serum neutralization kits with naturally high-quality serums. Ultimately, a vaccine with our French colleagues and partners will also be

possible, especially since the immunogenic power of the European virus is very reduced or even absent over time.

ملخص

يسبب فيروس الهربس البقري من النوع 1 (BoHV-1) في المقام الأول عدوى الجهاز التنفسي العلوي والتهاب القصبة الهوائية المعدي البقري (IBR) والإجهاض في الماشية البالغة والتهاب الفرج والمهبل المعدي (IPV).

ملخص ببلوغرافي لتسليط الضوء على الجوانب المختلفة؛ خصائص فيروس BoHV-1؛ توزيع جغرافي؛ الاعراض المتلازمة؛ طرق انتقال العدوى؛ الفيزيولوجيا المرضية للعدوى. طرق التشخيص والتدابير الوقائية.

جزء عملي لجمع البيانات التي ستسمح بإجراء تقييم أكثر تفصيلاً للوضع الوبائي لمرض IBR في القطعان المستهدفة في الجزائر. وينقسم هذا الجزء العملي إلى ثلاث مراحل متتالية:

المرحلة الأولى: هدفها البحث عن انتشار فيروس IBR BHV-1 في قطعان الأبقار الجزائرية، وتتكون من مسح مصلي أولي لـ Elisa gB على 155 رأس ماشية، تليها دراسة مقارنة للأبقار الإيجابية (العدد = 11) مع إيسا جي إي، للقضاء على إيجابيات التطعيم.

المرحلة الثانية: الهدف هو تحديد أهمية الانتشار المصلي لفيروس BoHV-1 بمناطق تيزي وزو وبومرداس وبويرة وبرج بوعريريج؛ المرتبطة بعوامل الخطر. المنطقة، الجنس، العمر، نوع الإنتاج، نوع التربية، الحالة الصحية، إدخال حيوانات جديدة (العدد = 1129) إيسا جي بي.

الخطوة الثالثة؛ هدفها هو؛ دراسة الخصائص البيولوجية لفيروس BoHV-1؛ زراعة الخلايا تحييد المصل الفيروسي gB، gE، gD، إعادة تنشيط الفيروس في الأبقار إيجابية المصل للديكساميثازون لمدة 5 أيام، تعديل الأمصال الجزائرية مع الإيجابيات الحقيقية المرجعية والسلبية المرجعية الحقيقية، وأخيراً عزل وتحديد فيروس BoHV-1 الجزائري بفضل PCR.

الدراسات الاستقصائية لمزارع الماشية التي تعاني من حالات الإجهاض، ويتم جمع البيانات أثناء أخذ العينات؛ العوامل التي تم تقييمها هي: نظام التربية (المكثف وشبه المكثف)، نظام الإنتاج (الحليب، اللحم، المختلط)، الماشية الجديدة المدخلة إلى المزرعة (لا، نعم)، عمر الماشية (6-36، 37). -72 (< 72 شهرا)، الجنس، الحالة الصحية للمنطقة المستقرة والجغرافية (تيزي وزو، بومرداس، بويرة، برج بوعريريج). لتقدير الانتشار المصلي لعدد الحيوانات التي تم أخذ عينات منها (ن = 1068 عينة صالحة من الحيوانات على مدى 6 أشهر)، تم حساب معدل الانتشار في هذه الدراسة مع الأخذ في الاعتبار معدل انتشار متوقع قدره 50%، ومستوى ثقة 95% ودقة 5%. لم يتم تطعيم جميع الحيوانات المشمولة بالفحص ضد فيروس BoHV-1. تنتمي معظم الحيوانات التي تم أخذ عينات منها إلى صلبان من نوع مونتبيليه وهولشتاين وشاروليه. لم تكن هناك علامات سريرية في الحيوانات المسجلة أثناء أخذ العينات؛ وبالتالي تم أخذ العينات من مايو 2010 إلى سبتمبر 2012 (العدد = 136)، ثم أجريت دراسة أخرى مايو 2014 سبتمبر 2015 (العدد = 1063). إعادة تنشيط الفيروسات واستعادة العينات؛ تم أخذ مسحات من الدم والأنف والمهبل في الفترة من 13 أكتوبر 2016 إلى 13 نوفمبر 2016 (العدد = 5) وأخيراً من أجل PCR عينة من العقد العصبية الثلاثية التوائم من بقرتين (العدد = 2) في يونيو 2020.

تحليل العينات باستخدام gB ELISA غير المباشر (ن = 136) مختبر IBR الأوروبي المرجعي لشرطة Anses Sophia-Anti في نيس، فرنسا (BoHV-1 IBRgB ELISA kits IDEXX). (Maine 04092 USA) للتمييز بين الماشية إيجابية المصل وبين الفيروس البري والماشية المحصنة، تم إجراء مسابقة (ELISA العدد = 13) (مجموعة

(IDEXX) بعد تأكيد نتائج اختبار ELISA، يتم إجراء تحييد المصل. إعادة تنشيط الفيروس بحقن الديكساميثازون يؤدي إلى تغييرات في العقدة الثلاثية التوائم. الجرعة التي تسمح بإعادة تنشيط الفيروس هي 0.1 ملغم/كغم/يوم لمدة 5 أيام. قمنا بإعادة التنشيط على خمس أبقار إيجابية المصل بحقن 0.1 ملغم/كغم/يوم لمدة 5 أيام مرتبطة بالعلاج الوقائي بالمضادات الحيوية أوكسي تتراسيكلين والأمبيسيلين. تم بعد ذلك أخذ مخاط الأنف والمهبل بمسحتين / بقرة / يوم، من D5 إلى D10 بإجمالي 12 مسحة لكل بقرة، ثم تم أخذ الدم في أنبوبين سعة 10 مل / بقرة / يوم في D1، D2، J3، J4، ج5. يتم بعد ذلك البحث عن الفيروس عن طريق العزل على مزرعة الخلايا وتفاعل البوليميراز المتسلسل. غطيت؛ 1 لتر (2 كيس دم سعة 500 مل) لكل عينة؛ في D0 و D10 و D20 و D30، يتم أخذ 5 لترات لكل بقرة، و 1 لتر في (D0، D10، D20 و 2 لتر في D30).

ولسوء الحظ، لا يتم تحليل هذه العينات في المختبر المرجعي الأوروبي IBR التابع لشرطة Anses Sophia-Anti في نيس في فرنسا، بعد إلغاء اتفاقية التعاون ونقل الموضوع إلى مختبر Niort في فرنسا. يتم أخذ عينات من الغدد الليمفاوية الثلاثية التوائم في الأبقار على الرأس الذي يتم الحصول عليه في نهاية خط الذبح، أي الرأس الذي تم إزالة الفك السفلي وعضلات الخد واللسان منه. يتضمن الرأس بعد ذلك الجمجمة والجهاز اللامي، ويتم الحفاظ على العقد الليمفاوية لتحليل PCR.

دراسة إحصائية لتحليل عوامل الخطر المرتبطة بالأمراض، تم استخدام الإصدار 9.2 من برنامج SAS (Cary)، (N.C.) لإجراء تحليلات عوامل الخطر. تم إجراء الحسابات بفواصل ثقة 95%. في الختام، تؤكد هذه الدراسة ارتفاع معدل الانتشار المصلي لفيروس 1-BoHV-1 تشير حقيقة عدم تطعيم الحيوانات وأن جميع الفئات العمرية لديها معدل انتشار مصلي مرتفع إلى أن فيروس 1-BoHV-1 ينتشر بشكل طبيعي في هذه الفئة من السكان وفي المنطقة، وأن IBR أثر عملياً على جميع الفئات العمرية للحيوانات. ويؤثر المرض على جميع أنواع الإنتاج وأنظمة التربية المكثفة وشبه المكثفة. لا يثبت أن الجنس عامل خطر مهم؛ أنها ليست كبيرة. كلا الجنسين حساسان لـ IBER. أظهرت النتائج أن الفيروس الجزائري مناعي للغاية مع NC 1/8 إلى 48/1، وهي خاصية بيولوجية مطلوبة بشدة في علم الفيروسات. وقد سمح لنا هذا العمل بإتقان تقنية حصاد العقد الليمفاوية ثلاثية التوائم والحفاظ عليها من بقرتين إيجابيتي المصل، حيث قمنا بإعادة تنشيط الفيروس، وهي الأولى من نوعها في الجزائر. في نهاية المطاف، تظهر هذه النتائج أنه من الضروري اقتراح برنامج مكافحة مكثف لتقليل معدلات الإصابة بـ 1-BHV-1 استناداً إلى النتائج الحالية، نوصي باستخدام لقاح علامة والتمايز المصلي للأبقار المصابة طبيعياً من الحيوانات المحصنة للقضاء على IBR/IPV. تعتبر تدابير الأمن البيولوجي المخطط لها ضرورية للسيطرة على المخاطر الوبائية للعدوى بسبب وجود حاملات 1-BHV-1 الكامنة.

هذه النتائج مرضية للغاية خاصة فيما يتعلق بالتحديد المصلي الفيروسي، حتى في الغسلات 48/1 وصلنا إلى التراص لأول مرة في المختبر المرجعي الأوروبي وفي الجزائر، وهو أمر مطلوب بشدة في علم الفيروسات وخاصة بالنسبة للتطعيم. تحديد الفيروس الجزائري وراثياً ممكن حيث أن لدينا العقد الثلاثية التوائم مجمدة، وإبراز الصورة الجينية لبروتينات هذا الفيروس، ثم سيتم دراسة تحديد البروتين المسؤول عن المناعة من أجل الأمصال المرجعية المحتملة (تعديل الأمصال) والتي سيسمح لنا بإنشاء أداء عالي. مجموعة إيلسا وإبطال مفعول المصل الفيروسي مع أمصال طبيعية عالية الجودة. في نهاية المطاف، سيكون من الممكن أيضاً التوصل إلى لقاح مع زملائنا وشركائنا الفرنسيين، خاصة وأن القوة المناعية للفيروس الأوروبي منخفضة للغاية أو حتى غائبة بمرور الوقت.

Introduction :

Les pathologies de la reproduction des bovins sont nombreuses et variées, allant des métrites, infertilités jusqu'aux avortements. Ces pathologies ont un impact économique important. Un virus qui est largement distribué dans la population des bovins est susceptible de toucher une entreprise lorsqu'elle s'y en attend le moins. En effet, l'herpèsvirus bovin de type1 (BoHV-1) provoque principalement une infection des voies respiratoires supérieures la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR), caractérisée par une dyspnée, une hyperpyrexie, une nasite et une conjonctivite [1]. Le BoHV-1 peut également agir comme facteur prédisposant à la vaginite et aux avortements chez les bovins adultes la vulvovaginite infectieuse (IPV), ainsi qu'à l'encéphalite et à la dystaxie chez les veaux [2]. L'organisation mondiale de la santé animale a classé le BoHV-1 dans la catégorie B des maladies infectieuses en raison de sa prévalence mondiale et de son impact significatif sur les industries de l'élevage du bétail [3]. Suite à une infection aiguë par BoHV-1, une latence permanente est établie, générant des bovins porteurs latents. La réactivation de BoHV-1 chez ces porteurs latents provoque l'élimination de BoHV-1 et sa propagation rapide dans tout le troupeau, ce qui peut inclure une infection d'animaux naïfs [4, 5]. Pour rompre ce cycle de transmission, il est nécessaire d'éliminer les porteurs latents infectés par BoHV-1 des troupeaux de bovins à l'aide d'outils de diagnostic offrant une grande spécificité et une grande sensibilité. La vaccination est la méthode de contrôle du BoHV-1 la plus utilisée, elle est efficace pour réduire les symptômes cliniques et limiter l'excrétion du virus, mais ne fournit pas une protection complète contre la transmission de BoHV-1 dans les troupeaux de bovins [6]. Cela est dû en grande partie à la capacité du virus à échapper au système immunitaire de l'hôte et à établir une infection latente [6, 7]

Les recherches ponctuelles en Algérie réalisées jusqu'à présent sur cette pathologie ont montré la circulation de cet agent dans les élevages sans toutefois parvenir à estimer convenablement la prévalence de cette infection ni à caractériser les souches impliquées[8], très peu d'études ont été réalisées et se sont essentiellement limitées aux enquêtes sérologiques de certaines régions à cela, s'ajoute l'absence d'un système de surveillance spécifique à cette maladie, ce qui rend l'évaluation objective de son importance est très difficile.

Notre travail commence par une synthèse bibliographique pour éclairer les différents aspects ; les caractéristiques du virus BoHV-1; la répartition géographique ; les

manifestations cliniques ; les modalités de transmission ; la physiopathologie de l'infection ; les méthodes de diagnostic et les mesures de prophylaxie. Une partie pratique pour recueillir des données qui permettront d'apprécier plus finement la situation épidémiologique de l'IBR dans les cheptels ciblés en Algérie ; elle prend deux volets à savoir :

Épidémiologie descriptive : par le biais des enquêtes sur le terrain auprès des éleveurs, relatives aux avortements, elles sont associées à une étude des facteurs de risque liés à la maladie (âge, sexe, introduction des nouveaux animaux, hygiène des étables, région).

Biotechnologies : une étude de la séroprévalence par la technique ELISA pour déterminer le statut sérologique des animaux et des élevages vis-à-vis de cette maladie. Le recours à la culture cellulaire est une nécessité afin de déterminer les caractéristiques biologiques du virus et de le différencier des souches existantes.

Une réactivation du virus chez les séropositifs avec traitement à la dexaméthasone, puis isolement du virus algérien, suivi de titrage et ajustement des sérums positifs.

Suivi des séropositif à l'abattoir pour récupérer les ganglions trijumeaux afin d'isoler le virus.

Ces objectifs nous permettent certainement de contribuer à l'établissement d'un plan de lutte adapté à la situation épidémiologique de cette maladie en Algérie.

Historique :

Le BoHV-1 a été identifié pour la première fois en Allemagne au 19ème siècle, C'est en 1889 que Luc et, en France décrivait pour la première fois la forme génital ou vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse (IPV). En 1928, Kendrick<redécouvert> l'IPV aux États-Unis.

La forme respiratoire fut mise en évidence aux États-Unis dès 1954 par Schroder et Coll., au sein d'élevages intensifs du Colorado [3].

Appelée Nez rouge (Rhinite), rhinite nécrotique MILLER a défini la rhinite infectieuse chronique bovine en 1955 (Laboratoire PFIZER (1955) les vaccins antiviraux, virus IBR/IPV ou BHV1).

En 1956, Nadin isole le virus qui en est l'agent et met en évidence son unicité avec celui de l'IPV.

En 1961, Amstrong classe ce virus responsable de l'IBR-IPV comme appartenant à la famille des Herpesviridae [9].

La Chine a enregistré sa première infection à BoHV-1 chez des vaches laitières en 1980 et continue d'être menacée dans de nombreuses fermes, avec des taux de séropositivité chez les bovins atteignant 35 à 55% [1].

CHAPITRE I

EPIDEMIOLOGIE

2. Epidémiologie de l'IBR

2.1. Situation actuelle

BoHV-1 est un produit diffusé dans le monde entier, un pathogène présentant des différences significatives dans l'incidence et la prévalence régionales, avec en ce qui concerne les positions géographiques et les conduites d'élevage, ses espèces considérées comme régions [10].

2.1.1. En Algérie

En Algérie il n'existe aucune étude crédible sur l'IBR, Les recherches ponctuelles réalisées jusqu'à présent sur cette pathologie ont montré la circulation de cet agent dans les élevages [8] ; sans toutefois parvenir à estimer convenablement la prévalence de cette infection ni à caractériser les souches impliquées. A l'échelle nationale, très peu d'études ont été réalisées et se sont essentiellement limitées aux enquêtes sérologiques de certaines régions à cela, s'ajoute l'absence d'un système de surveillance spécifique à cette maladie, ce qui rend l'évaluation objective de son importance est très difficile.

2.1.2. Au Maroc :

la rhinotrachéite infectieuse bovine – vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse (IBR/IPV) est une maladie réputée légalement contagieuse en vertu du Dahir portant loi n°1-75-292 du 19 septembre 1977. Cette maladie peut avoir des répercussions économiques non négligeables au niveau des élevages infectés notamment par la baisse des performances zootechniques. [11]. La prévalence elle est **de 68.2%** [12].

2.1.3. En Tunisie : des études ponctuelles et limitées, El kef **9 %** et Sfax **2.7%** [13].

2.1.4. En France

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

Au 31 mai 2009, la prévalence nationale moyenne d'ateliers infectés était de 10,3% (sur 80 GDS ayant répondu, pour lesquels 93,4% des ateliers avaient été testés). Toutefois, cette prévalence varie fortement en fonction des départements, entre **0,06 % et 85,2% (Figure 1)**.

En tenant compte de l'orientation zootechnique des ateliers, les taux de prévalence au niveau national étaient au 31 mai 2009 : [14]

- De 4,2% en atelier laitier (de 0,03 % à 70% selon le département ;
- De 13,6 % en atelier allaitant (de 0,11 % à 85,8 % selon le département).

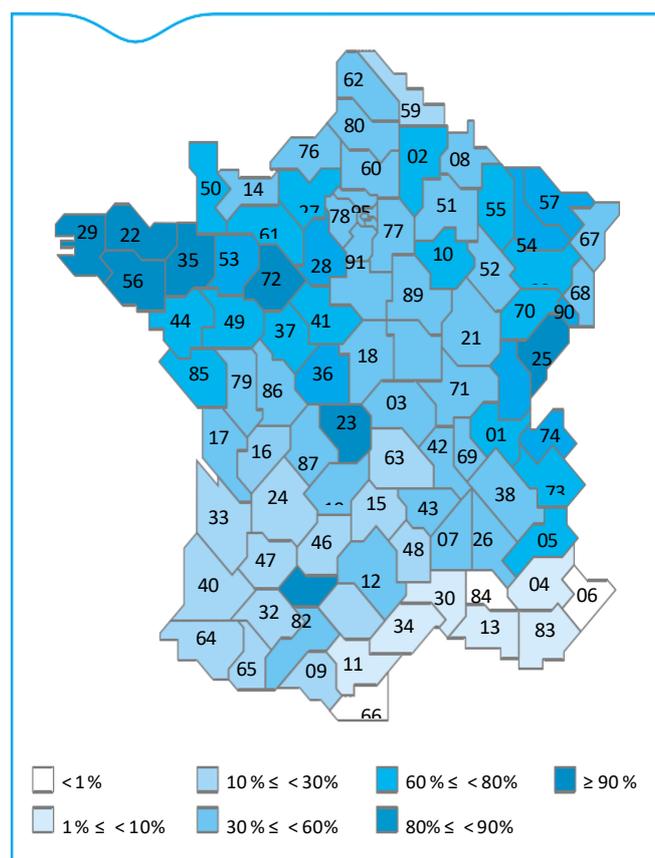


Figure 1 : Répartition des exploitations qualifiées « indemnes d'IBR » au 31 mai 2009 (données Acersa).

2.1.5. En Europe [15]

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

Au 1^{er} septembre 2007 on recensait 7 états officiellement indemnes d'IBR : l'Autriche, le Danemark, la Suède, la Finlande, la Norvège, la région de Bolzano en Italie et hors UE la Suisse. D'autres pays présentent une prévalence en IBR faible à moyenne : l'Allemagne, la France et le reste de l'Italie. Enfin certains états ont une prévalence élevée en IBR : la Belgique et les Pays-Bas [16].

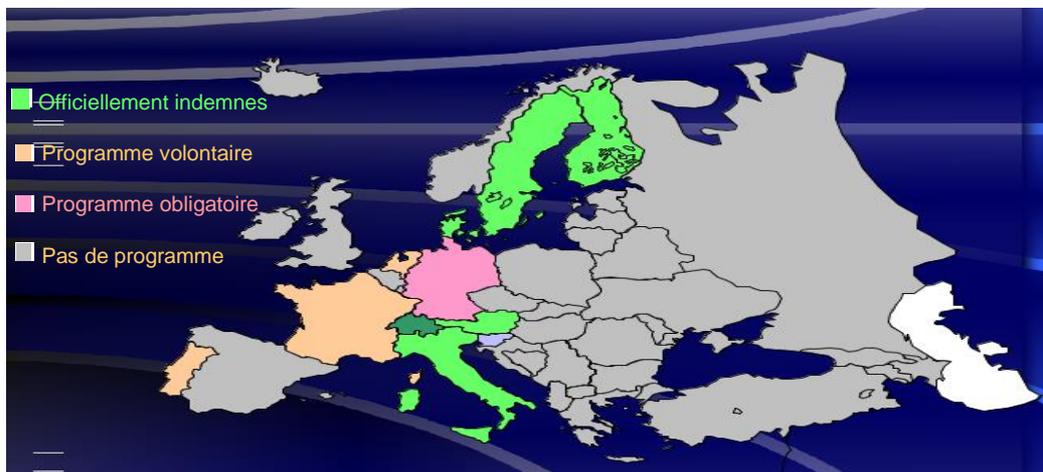


Figure 2 : Statuts des différents pays européens de l'IBR [17]

La Suisse est déclarée indemne de rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) depuis 1994 [18]. Le 22 juin 2009, un cas d'IBR a été diagnostiqué dans une exploitation bovine de production mixte dans le district de Porrentruy/JU (ferme « A »). L'infection due à l'herpèsvirus bovin 1 (BoHV-1) a été découverte lors d'un examen d'IBR effectué en laboratoire, suite à un avortement dans le troupeau de vaches mères. L'exploitation affectée par le virus consistait en un troupeau de vaches laitières et de veaux, un troupeau de vaches mères et d'animaux d'engrais et un groupe de génisses et comportait en tout 248 bovins. Sur les 248 animaux détenus à la ferme, 221 ont par la suite été confirmés positifs, lors de l'échantillonnage complet du cheptel. Dans le cadre de l'enquête épidémiologique, un deuxième foyer d'IBR a été découvert le 2 juillet 2009, dans le district de Porrentruy (ferme « B »). Il s'agissait d'une exploitation de vaches laitières, de laquelle un veau avait été vendu à la ferme

« A » en mars 2009. Ce deuxième troupeau touché par la maladie comportait 68 bovins, parmi lesquelles 11 vaches et 8 veaux identifiés positifs à l'IBR. Le 8 juillet 2009, un troisième cas de rhinotrachéite infectieuse bovine a été identifié dans une exploitation d'engraissement neuchâteloise, dans le district du Val-de-Ruz (ferme « C »). Dans ce troisième et dernier cas, il s'agissait d'un veau positif solitaire, provenant de l'exploitation « B ». Chez les 80 bovins détenus dans cette ferme, aucune contagion entre les animaux n'a été observée [19].

La Suisse, comme certains autres pays européens, a réussi à éradiquer cette épizootie durant les années 1980 et possède donc le statut « indemne d'IBR » [18,20]

Afin que ce statut puisse être maintenu en Suisse, les enquêtes épidémiologiques en cas de réapparition de la maladie, ainsi que l'échantillonnage par sondage annuel pour l'IBR se révèlent être nécessaires. Il existe des vaccins capables de réduire la gravité des symptômes de l'IBR, mais sans empêcher l'établissement d'une infection latente. En posant des problèmes pour le contrôle sérologique, la vaccination contre l'IBR n'est pas autorisée en Suisse, tandis que certains pays membres de la Communauté Européenne permettent l'usage de vaccins marqueurs [18].

2.2. Epidémiologie analytique

2.2.1.Sources de BHV1

Tous les bovins rencontrant le virus BHV1 deviennent une source de transmission du virus. En effet, même sous immunité colostrale ou vaccination anti-BHV1 le virus peut s'établir à l'état latent dans les ganglions nerveux des bovins. En cas de réactivation (liée à un stress) le virus est excrété et l'animal devient une source de contamination pour ses congénères. La vaccination limite cette excrétion virale mais son efficacité n'est pas totale [15].

La contamination par BHV1 d'un veau sous immunité colostrale pose problème [18,19], le virus entre en latence, peut être réactivé et ré excrété, mais l'animal ne produit pas d'anticorps spécifiques. Il s'agit de bovins porteurs latents séronégatifs(SNLC), indétectables par les méthodes classiques de sérologie [20]. Ces animaux représentent un risque majeur de transmission de BHV1. Cependant il est difficile d'évaluer leur importance puisqu'on ne peut les détecter sérologiquement.

D'autre part, nous avons vu précédemment que BHV1 peut infecter des ruminants autres que les bovins, établir une latence et être ensuite excrété. Ces espèces représentent donc des sources de transmission de BHV1. Il s'agit principalement des caprins et des ovins ce pendant ces derniers ne jouent pas un rôle dans la contamination des bovins [21]. Les cerfs et les chevreuils présentent également un risque faible de transmission de BHV1, cependant chez ces derniers l'excrétion virale n'a lieu qu'au moment de la primo-infection puisqu'il n'y a pas d'établissement d'une latence [21, 23]. D'autres espèces sont sensibles au BHV1 expérimentalement lapin intraconjonctivale [24].

Le buffle est un potentiel réservoir de BoHV-1. Mais l'infection du buffle par le BoHV1 reste à étudier, surtout pour connaître son niveau d'excrétion ou si une réexcrétion est possible et ainsi savoir si le buffle constitue une source majeure de transmission de BoHV-1.

L'environnement est également une source de transmission du virus. En effet il peut persister dans la litière ou sur du matériel souillé (abreuvoirs, mangeoires, matériel de contention...) pendant plusieurs jours [15].

La transmission du virus d'un bovin infecté à un bovin non infecté peut se faire soit de manière directe, soit par l'intermédiaire d'un vecteur. Ainsi tout élément circulant d'une ferme à une autre après avoir été contaminé peut disséminer l'infection : vétérinaire, inséminateur, matériel d'élevage (tracteurs, cages de contention, auges,) [25].

Enfin les paillettes d'insémination artificielle ou les embryons utilisés pour le transfert peuvent être contaminés par le BHV1 et constituer une source de transmission du virus [20].

La dose infectante chez les bovins est d'environ 3,2 DICCC50 (Dose Infectante en Culture Cellulaire à 50%) [26]. Lors d'insémination artificielle, la dose infectante est de 200 DICCC50 [27].

Suivant le lieu de la primo-infection, les particules virales néoformées peuvent être excrétées dans [28] :

Les sécrétions nasales et oculaires : le virus y est excrété de façon massive lors de la primo-infection : jusqu'à 10^{10} DICCC50/g [29]. La transmission virale peut donc

se faire par contacts nez-a-nez ou sous forme d'aérosols lors d'éternuements, de toux, voire de respiration.

Le mucus vaginal ou prénuptial : l'excrétion y est également très forte lors de primo-infection : jusqu'à 10^{11} DICC₅₀/g [30]. Ainsi un accouplement peut être responsable de la transmission virale.

La semence de taureau : le virus y est présent jusqu'à 10^4 DICC₅₀/g [31]. En plus de jouer lors de l'accouplement, la présence de virus dans le sperme a un rôle important.

Or la dose infectante est de 3,2 DICC₅₀ environ [31], ce qui est très bas par rapport à l'excrétion. La dose infectante par Insémination Artificielle est de 200 DICC₅₀ [20].

2.2.2. Transmission directe :

La transmission directe de BHV1 peut se faire de deux façons :

Elle peut se faire par voie respiratoire, par contact direct de nez à nez. Les animaux malades excrètent le virus dans leurs sécrétions nasales. La toux, les éternuements, voire la respiration, sont alors des sources de contaminations pour les autres animaux, sous forme d'aérosols. Les conditions environnementales (humidité de l'air, température) influent sur ce mode de transmission [32, 33].

L'infection peut également être transmise par inoculation de l'épithélium de la conjonctive. Direct nez à nez le contact est le mode de transmission privilégié du BoHV-1. Cependant, les transmissions aériennes par voie aérosol ont été démontrés sur de courtes distances [35]

Le passage du virus d'un bovin à l'autre peut également se faire par voie génitale. Après infection du tractus génital d'un animal, le virus se multiplie puis est excrété dans le mucus vaginal ou prénuptiale, dans le sperme ou les ovocytes. De cette façon un taureau infecté au niveau génital pourra transmettre le virus au moment de l'accouplement [36].

Il existe enfin une transmission directe de la mère au fœtus lorsque celle-ci est infectée par BHV1 pendant la gestation, lors de la phase de virémie transitoire suivant une primo-infection [20].

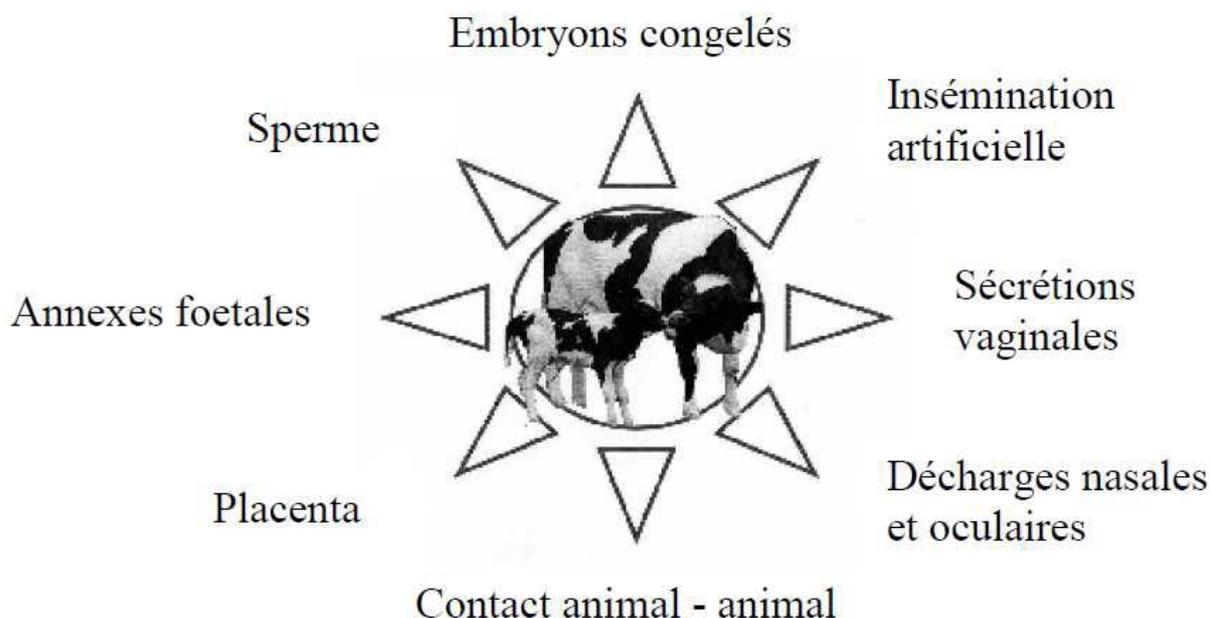


Figure 2 : les sources et les modalités de contamination de BHV1 [34].

2.2.3. Transmission indirecte

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

Enfin l'insémination artificielle et le transfert embryonnaire sont des vecteurs de transmission du virus, lorsque sperme et embryons sont prélevés chez des animaux infectés. [20]

2.2.4. Facteurs de risque de transmission

2.2.4.1. Intervention de vecteurs du virus :

Le facteur de risque le plus important dans la transmission de l'IBR est l'intervention d'extérieurs ; (vétérinaires, inséminateurs, techniciens...) qui ne portent pas de vêtements de protection et passent d'une ferme à l'autre, véhiculent ainsi le virus. Ce facteur représenterait la cause de la moitié des nouveaux foyers d'IBR [37].

Les bovins échappés et mélangés à d'autres troupeaux constituent également un facteur de risque important, de même que la participation à des concours agricoles, des foires. L'achat d'animaux et leur introduction dans le troupeau sans précautions particulières conduit aussi à des transmissions virales, tout comme le transport en camion d'animaux de différentes provenances [38, 39]. Enfin la présence sur l'exploitation de rongeurs, chiens, chats ou autres pourrait également être un facteur de risque de la transmission de l'IBR, ainsi que les véhicules circulants entre des fermes [37].

Des études ont mis en évidence la capacité de BHV1 à être transmis entre animaux par l'air, que ce soit à l'étable ou dans les prés [33]. Des animaux porteurs du virus de l'IBR au pâturage constituent donc un risque pour les animaux des pâtures voisines par le contact au travers des barrières. Dans une étable la transmission de BHV1 par l'air peut être rapide (environ trois jours), jusqu'à une distance d'environ 4 mètres [32].

2.2.4.2. Insémination artificielle

L'insémination artificielle constitue un facteur de risque de transmission de l'IBR. En effet, un taureau infecté par le BHV1, par voie intranasale ou génitale, excrète des particules virales dans sa semence. On peut mettre en évidence la présence de virions dans le prépuce de ces taureaux infectés [36].

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

Le pouvoir infectieux de BHV1 est conservé malgré le passage de la semence dans l'azote liquide. Les paillettes fabriquées sont donc contaminées et infectieuses pour les vaches qui les reçoivent. Les paillettes sont contaminées en partie ou en totalité selon le titre infectieux de la semence de départ. De plus le pouvoir infectieux par voie génitale varie selon les souches virales [27]. L'infection d'une vache par BH V1 après insémination artificielle dépend donc du titre viral de la paillette et de la souche présente [36]. La transmission à d'autres animaux est ensuite possible par simple contact. De plus l'utilisation de paillettes contaminées par

BHV1 affecte la fertilité des animaux, raccourcit le cycle œstral et provoque des endométrites.

Depuis la découverte de cette transmission par le sperme, des techniques de décontamination ont été mises en place. Le sperme peut être traité par un ajout d'un immun sérum contenant des anticorps anti-BoHV-1 ou par un traitement à la trypsine, enzyme qui inactive le virus [42].

2.2.4.3. Mise en estive

La mise en estive constitue un facteur de risque de transmission de l'IBR. En effet, elle regroupe un ensemble d'éléments favorables [20] :

- Des facteurs favorisant l'excrétion virale : transport, vêlages et/ou avortements, stress dû au changement d'habitudes des animaux (alimentation, lieu, climat), parasitisme...
- Des facteurs favorisant la contamination virale : rassemblement d'animaux sur une surface réduite, mélange de différents troupeaux, variation des cheptels pendant la même saison d'estive, contacts entre animaux lors du transport en camion, promiscuité sur l'estive (regroupement des animaux pour la traite, l'abreuvement, la surveillance la nuit, les contacts avec les autres estives...)
- Des facteurs favorisant l'amplification de la circulation virale : mélange de troupeaux de statuts différents, animaux de classes d'âges différentes [27]. Éventuellement présence d'animaux porteurs latents séronégatifs.

2.2.4.4. Sevrage des veaux

L'isolement social au moment du sevrage, de veaux initialement en groupe, augmente le niveau de facteurs neuroendocriniens associés au stress, tel que le cortisol. Cet effet se traduit chez les veaux par une hyperthermie associée à une diminution des signes cliniques. Le cortisol agit sur l'organisme en créant une immunodépression favorable au développement viral [40].

CHAPITRE II

VIROLOGIE

1. Classification :

1.1. Taxonomie :

1.1.1. Famille des herpesviridae [25, 43]:

Le virus responsable de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR) est l'Herpesvirus Bovin de type 1 (BoHV-1). Il appartient à la famille des herpesviridae, qui se décomposent en trois sous-familles : alpha, beta et gamma herpesvirinaes. Les herpesviridae sont des virus enveloppés à ADN, avec une capsidie icosaédrique. Le core, la capsidie, le tégument et l'enveloppe forment le virion.

Les herpesvirus ont tous la capacité de se maintenir à l'état latent chez leur hôte naturel. Les trois sous-familles ont été créées suivant des critères biologiques tels que le site de latence dans l'organisme, la vitesse de multiplication ou le spectre d'hôtes. L'arrivée de la biologie moléculaire a parfois bouleversé cette classification, comme le BoHV-5 qui était autrefois un sous-type du BoHV-1.

Les β -herpesvirinaes constituent une sous-famille avec une étroite spécificité d'hôte, aucune espèce des ruminants n'est affectée par les représentants de cette sous-famille.

La famille des γ -herpesvirinaes regroupe des virus infectants des ruminants mais, ils sont assez éloignés d'un point de vue antigénique des α -herpesvirinaes pour pouvoir les distinguer facilement.

1.1.1.1 Sous-famille des betahepesvirinaes est constituées des genres *Cytomegalovirus*, *Muromegalovirus* et *Roseolovirus*. Elle a très peu d'importance en médecine vétérinaire, ils ont une étroite spécificité d'hôtes [44]. Aucune espèce de ruminants n'est affectée par les représentants de cette sous-famille [45].

Tableau 1: sous-famille des betahepesvirinaes :[46]

Genre	Virus de l'homme	Virus des animaux
Cytomegalovirus	Human cytomegalovirus	Porcine cytomegalovirus Cercopithecine herpesvirus 5 et 8
Muromegalovirus		Murid herpesvirus 1 Guinea pig cytomegalovirus
Roseolovirus	Human herpesvirus 6 Human herpesvirus 7	

1.1.1. La sous-famille des gammaherpesvirinaes

Contient le genre lymphocryptovirus dont les cibles sont des poissons d'eau douce et d'eau salée et le genre *Rhadinovirus* ayant pour cibles des singes dont les ouistitis [47]. Et chez les ruminants est représenté par l'herpesvirus bovin type 4 (BoHV-4) et les virus impliqués dans les différentes formes de coryza gangreneux [48].

Tableau 2 : sous-famille des gammaherpesvirinaes [48]

Nom du virus	Espèces sensibles	Maladie
Herpesvirus bovin de type 4	Bovin, accessoirement autres ruminants	Vulvovaginite, métrite post partum, avortement, infections subcliniques
Herpesvirus ovin type 2 (OvHV-2)	Ovin, bovins, cervidés	Coryza gangreneux, forme européenne
Herpesvirus des alcelaphine (AlcHV-1)	Gnou bleu (<i>connochaetes taurinus</i>), bovins	Coryza gangreneux, forme africaine
Herpesvirus des alcelaphine (AlcHV-2)	Bubale (alcelaphus buselaphus), bovins	Coryza gangreneux atypique, infection non fatale chez bovin

1.1.1.2. La sous-famille des alphaherpesvirinae on peut distinguer deux genres : Le genre *simplexvirus* (herpesvirus bovin de type 2) et le genre *varicellovirus* (herpesvirus bovin de type 1, herpesvirus bovin de type 5, herpesvirus porcin de type 1, virus responsable de la maladie de Marek chez les volailles, virus responsable de la laryngo-trachéite infectieuse chez les volailles) [44].

Ils sont caractérisés par un cycle de réplication court *in vitro* (moins de 24h), un spectre d'hôte large, ainsi qu'une dispersion rapide en culture de cellules et une lyse efficace des cellules infectées.

Certains virus des alphaherpesvirinae, l'Herpesvirus bovin de type 5 (BoHV-5), l'Herpesvirus caprin de type 1 (CpHV-1), l'Herpesvirus du Cerf de type 1 (CvHV-1), l'Herpesvirus du Renne de type 1 (CvHV-2), l'Herpesvirus de l'Elan (ElkHV-1) et l'Herpesvirus du Buffle de type 1 (BuHV-1) sont étroitement reliés génétiquement au BoHV-1. [55, 56].

Tableau 3 : sous famille des alphaherpesvirinae [48]

Nom du virus	Espèces sensibles	Maladie
Herpesvirus bovin type 1 (BHV-1)	Bovin, ovin, (caprin)	Rhinotrachéite infectieuse bovine
Herpesvirus bovin type 2 (BHV-2)	Bovin, autre ruminant africain	Maladie d'Alertons, théillite infectieuse bovine
Herpesvirus bovin type 5 (BHV-5)	Bovin	Encéphalite bovine
Virus de la maladie d'Aujesky (SHV-1)	Porc, accessoirement ruminants, carnivores	Encéphalite mortelle
Herpesvirus du cerf (CerHV-1)	Cerf élaphe (<i>cervuselaphus</i>)	Maladie oculaire
Herpesvirus du renne (RanHV-1)	Renne (<i>rangifertarandus</i>) (bovin)	Infection génitale subclinique
Herpesvirus caprin (CapHV-1)	Caprins (ovin, bovins)	Vulvo-vaginite néonatale mortelle
Herpesvirus du buffle	Buffle d'Asie (<i>bubalusbubalis</i>)	Infection subclinique
Herpesvirus ovin de type 1 (OvHV-1)	Ovin	Adenomatose pulmonaire ovine (agent causal primitif est un rétrovirus)

Tous ces virus présentent un cycle de latence, réactivation et réexcrétion. Le site de latence, quel que soit l'herpesvirus, est toujours un ganglion nerveux. Soit le ganglion trigéminal dans le cas d'une infection par voie respiratoire, soit les ganglions sacrés dans le cas d'une infection par voie génitale.

1.1.1.2.1. Herpèsvirus bovin type1 (BHV-1) :

Le BHV-1 est à l'origine du complexe rhinotrachéite infectieuse bovine / vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse bovine (IBR/IPV). Il possède un tropisme pour les cellules épithéliales les cellules mononuclées sanguines et neurones [49], selon [44,48] il existe deux sous-types de BoHV-1 :

1.1.1.2.1.1. Le BoHV-1.1

Est principalement implique dans la forme clinique respiratoire (IBR) [43].

1.1.1.2.1.2. Le BHV-1.2

Est responsable principalement de la forme clinique génitale (Vulvo-vaginite infectieuse pustuleuse (IPV), balanoposthite infectieuse pustuleuse (IPB), et est lui-même divisé en sous-types BoHV1.2a et BoHV1.2b, ce dernier ne présente pas la capacité de provoquer des avortements [44].

1.1.1.2.1.3. Un troisième sous-type de BoHV-1(BoHV-1.3)

Était auparavant décrit. Ce virus appartient désormais à une nouvelle espèce virale, l'herpèsvirus bovin de type 5 (BoHV-5), responsable d'encéphalite chez les bovins [48]. D'autres espèces peuvent être affectées par le BoHV-1 qui est prouvé soit par isolement, soit par la présence des anticorps spécifiques. Certaines espèces sont présentées dans le tableau suivant

Tableau 4: infection des ruminants par BHV-1: [44]

Espèces	Infection primaire	Excrétion virale	Réponse sérologique	Latence	Réactivation - réexcrétion
Chèvre	+	++	++	+	++
Cerf	+/-	+	+/-	-	-
Renne	+/-	+	-	-	-
Mouton	+	++	++	+	++

Mais la présence d'anticorps anti-BoHV-1 dans une espèce peut être due à l'infection par un autre herpèsvirus. Donc seul l'isolement viral du virus et la caractérisation du virus comme BoHV-1 est la preuve de l'entière réceptivité d'une espèce de ruminant [48].

1.1.1.3. Souches et mutants :

Dans un sous-type, existent de nombreuses souches. Elles varient par leur tropisme, leur virulence ou leur répartition géographique. Elles sont utilisées pour faire des sérums de référence pour les tests diagnostiques ou pour faire des vaccins. Dans le sous-type BoHV-1.1, on peut nommer les souches : Iowa, Cooper, Jura, Malaysia... . Certaines souches comportent des mutations, comme la souche Salwa qui est naturellement délétée pour la protéine gE [50].

2. Structure du virion

Le virus possède une taille allant de 150 à 200 nm [44]. Les herpes virus sont des virus enveloppés selon [48] il possède :

- **Génome** est composé d'un ADN bicaténaire de 120 à 160 kilo paires de bases.
- **La capsid** (nucléocapsid) est un icosaèdre, composé de 162 capsomère, dont 12 sont pentamériques, et 150 sont hexamériques.
- **Le tégment** est une structure protéique amorphe située entre la capsid et l'enveloppe.
- **L'enveloppe** est issue de membrane cellulaire, constituée d'une bicouche phospholipidique, hérissée de spicule glycoprotéique.
- **Glycoprotéines** on dénombre dix glycoprotéines d'enveloppe connues : **gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL et gM**. Ils sont ancrés dans l'enveloppe virale et jouent des rôles essentiels dans l'attachement et la pénétration du virus dans la cellule [48].

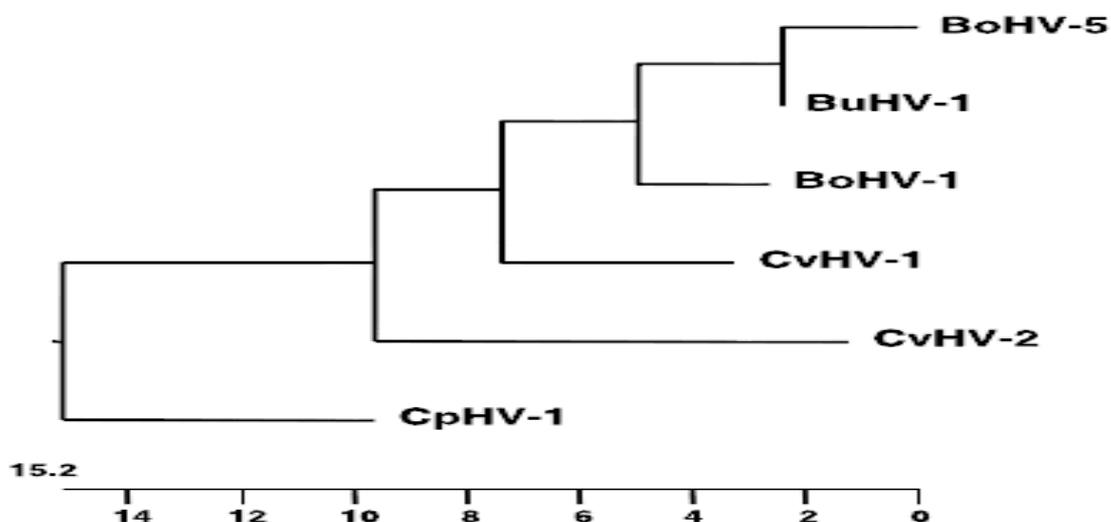


Figure 3 : Arbre phylogénétique des α -herpesvirus des ruminants gB. [54]

Structure

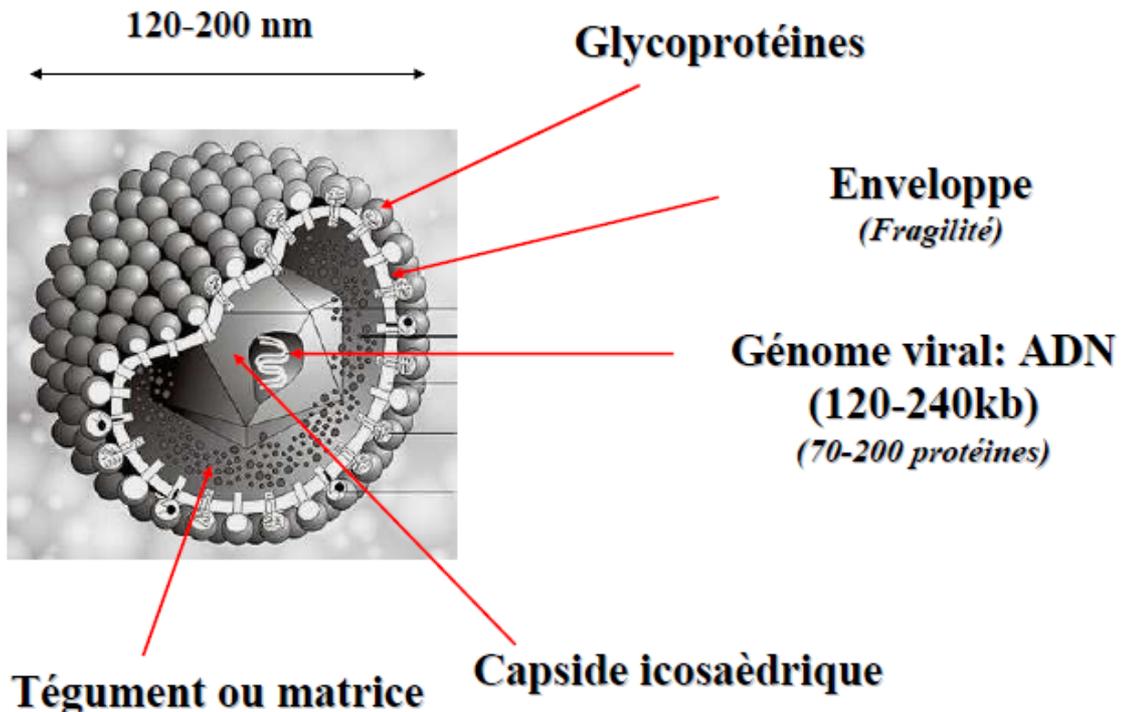


Figure 4 : Structure du virion BHV-1 : [51]

3. Génome

Le matériel génétique des herpes virus est constitué d'un double brin d'ADN linéaire, qui se circularise immédiatement après sa séparation de la capside et la pénétration dans le noyau de la cellule infectée [52, 53].

La composition en bases (G+C) varie de 31 à 75%, cette proportion étant particulièrement élevée chez les alphaherpèsvirus, Le poids moléculaire de cet ADN varie entre 120 et 230 kpb [52, 53].

Selon l'organisation des séquences nucléotides constituant l'ADN, Le génome des herpesvirus est classé en six groupes désignés par les lettres A à F [52, 53].

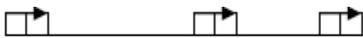
A : une séquence longue unique avec à chaque extrémité une séquence terminale de même orientation.



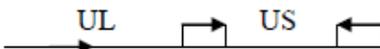
B : les séquences terminales ont des motifs répétés de part et d'autre de la séquence unique avec une même orientation. Le nombre de ces séquences répétées peut varier d'une extrémité à l'autre.



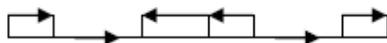
C : le nombre de motifs répétés dans les séquences terminales est faible, la séquence unique contient une séquence répétée en tandem.



D : une seule séquence unique courte à une extrémité avec une orientation inverse que la séquence unique, et une séquence répétée dans la séquence unique avec une même orientation que la séquence unique. Il y a alors deux séquences uniques, une longue UL et une courte US.

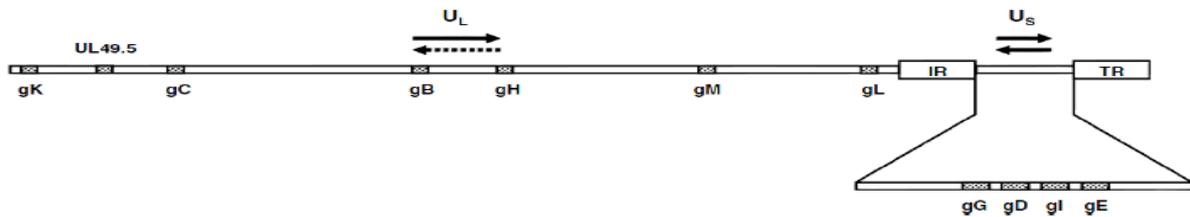


E : deux séquences terminales de même orientation que la séquence unique, deux séquences de taille différente au sein de la séquence unique de sens inverse.



F : une seule séquence unique.

Les génomes du BHV-1 et de tous les alphaherpesvirus qui lui sont apparentés appartiennent au groupe D. ils sont composés d'une unité longue (UL) et d'une unité courte (US) flanquée de deux séquences répétées inverses IR (séquence répétée interne) et TR (séquence répétée terminale) [52].



(UL : unité longue ; Us : unité courte ; IR et TR : séquences répétées terminales et internes)

Figure 05 : Organisation du génome des alphaherpesvirus. [57]

Un projet de collaboration internationale a permis le séquençage complet du génome du BoHV-1, principalement à partir de la souche Cooper. Celui-ci est composé de 67 gènes uniques répartis entre l'unité longue et l'unité courte, et de 2 gènes dupliqués dans les régions IR et TR [58].

Le génome de BHV-1 code un grand nombre de protéines impliquées dans la synthèse de l'ADN, le métabolisme des acides nucléiques... Les gènes codant ces protéines peuvent être classés en quatre catégories [59] :

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

4. Cycle de multiplication virale :

Les herpèsvirus sont capables de suivre un cycle de multiplication en fonction des conditions de l'infection : appelé le cycle lytique qui assure la multiplication virale.

Le programme lytique correspond à l'expression séquentielle et ordonnée de l'ensemble des gènes viraux. Le cycle de multiplication aboutit à la formation d'une nouvelle génération de particules infectieuses et à la lyse cellulaire qui est objectivable via l'effet cytopathogène du virus (altération dans l'apparence microscopique des cellules en culture faisant suite à l'infection virale) [60].

Les virus vont pénétrer dans les cellules hôtes grâce à plusieurs molécules, ou récepteurs, qui sont situées sur un nombre limité de cellules hôtes. L'absence ou la

présence de ces récepteurs influence sur la réceptivité de l'espèce, le tropisme tissulaire et les symptômes de la maladie engendrée [61, 62].

Une fois que le virus du BoHV-1 pénètre dans les cellules cibles, le cycle viral de réplication commence, il comprend cinq étapes : [63]

4.1. Adsorption ou attachement :

Attachement du virus à la cellule cible par les glycoprotéines d'enveloppes (gB et gC) [66, 67, 68, 69, 70]. Cette fixation faible est suivie par une fixation solide par l'interaction entre gD et des récepteurs cellulaires spécifiques [63].

4.2. Pénétration dans la cellule hôte :

Cette étape implique la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique [71,72].

Par l'intermédiaire de quatre glycoprotéines : B, D, H et L (leur rôle est l'expansion de la fusion) [73], libérant ainsi la nucléocapside et le tégument dans le cytoplasme [74].

4.3. Transcription et réplication de l'ADN :

4.3.1. La décapsidation :

S'effectue au niveau d'un pore nucléaire (il s'agit de l'éclipse) [64, 65]. L'acheminement des particules virales jusqu'aux pores du noyau, par des microtubules, en étant fixée à la dynéine par le biais de la protéine virale UL 34 La protéine VP8 est la plus abondante protéine tégumentaire de BoHV-1 [75, 76]. Il se localise dans le noyau immédiatement après infection grâce à une localisation nucléaire signal [77]. Cependant, le rôle exact de VP8 dans l'infection virale n'est pas encore clair. La protéine du tégument codée par UL41 est connue sous le nom d'arrêt de l'hôte virion (vhs) protéine de BoHV-1.

Dès qu'il y est libération de l'ADN viral dans le noyau, cet ADN viral se circularise lors immédiatement ou débute la transcription des gènes viraux qui requiert la participation de l'ARN polymérase II cellulaire, sous le contrôle de facteurs viraux. [64]

4.3.2. La synthèse des protéines : [64, 65]

Certaines protéines du tégment interagissent avec des composants transcriptionnels de l'hôte de façon à stimuler la transcription des gènes α . La synthèse s'effectue en cascade, on distingue trois types de protéines en fonction de leur ordre d'apparition dans la cellule infectée :

- *Protéine précoce immédiate (IE ou α)* : protéine de régulation, non structurale, induit la synthèse des protéines E et L en exerçant un rétrocontrôle négatif sur leur propre synthèse.

- *Protéines précoces (E ou β)* : elles sont impliquées dans le métabolisme nucléotidique et les événements liés à la réplication de l'ADN viral et induisent la transcription des gènes L. Ces protéines atteignent leur pic d'expression au bout de 4 à 8 heures suivant l'infection.

- *Protéines tardives (L ou γ)* : protéines structurales (capside, tégment, enveloppe), glycoprotéines ou protéines régulatrices, ces dernières sont synthétisées alors que la réplication de l'ADN a déjà débuté alors que la traduction des IE et E commence avant la réplication de l'ADN.

Au total, plus de 70 protéines ont été synthétisées.

4.3.3. Réplication de l'ADN et encapsidation : [64, 65]

L'ADN viral se réplique par un mécanisme de cercle roulant « rolling-circle ». Ceci génère des concatémères, structures complexes composées d'unités génomiques se suivant en tête à queue. Ces intermédiaires de réplifications sont clivés en unités génomiques par une activité endonucléasique puis intégrées à l'intérieur des capsides.

4.4. Maturation : [64, 65]

Après maturation des protéines de la nucléocapside dans le cytoplasme de la cellule infectée celles-ci reviennent vers le noyau où se produit l'assemblage du noyau viral. Cette nucléocapside sort du noyau par bourgeonnement à travers le feuillet interne de la membrane nucléaire ce qui leur permet d'acquérir une enveloppe transitoire, cette dernière fusionne avec le feuillet externe libérant ainsi la nucléocapside dans le cytoplasme.

4.5. Libération du virus :

L'enveloppe virale définitive peut provenir de la membrane interne du noyau de la cellule infectée ou bien des vésicules golgiennes [78].

La sortie du virus s'effectue soit par bourgeonnement, le virus ainsi enveloppé subit une exocytose après fusion des membranes ou par lyse cellulaire suite à l'induction de l'apoptose. (L'apoptose est considérée comme une fonction cellulaire physiologique et s'inscrit dans le cycle cellulaire) [65].

Le cycle de multiplication virale des alphaherpèsvirus se déroule généralement en moins de vingt heures. Ainsi, in vitro, l'expression d'antigènes viraux à la surface des cellules infectées par le BHV-1 a lieu dès la troisième heure post infection et l'on peut mettre en évidence la présence de particules virales néoformés dans les milieux intra et extracellulaire dès la septième et huitième heure post infection respectivement [79].

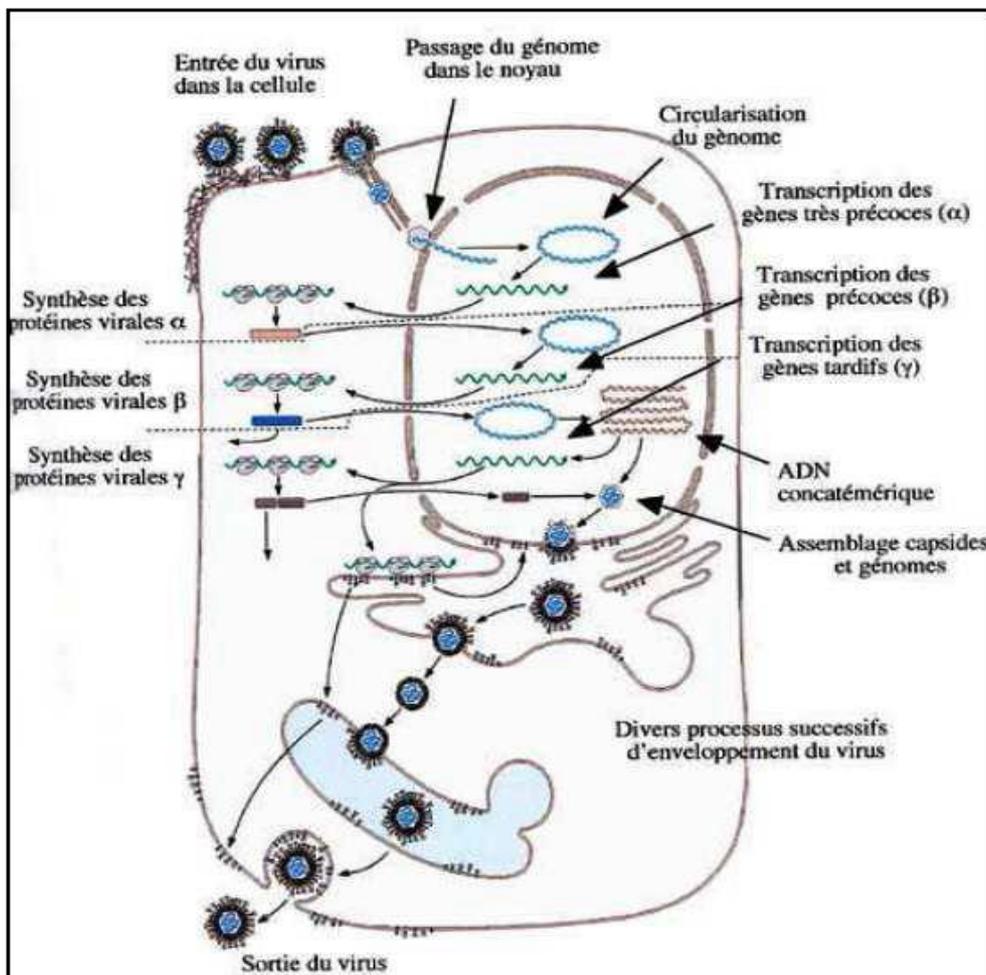


Figure 06 : Cycle de réplication des alphaherpèsvirus [80]

5. Glycoprotéines virales

Le BoHV-1 est un virus enveloppé est possède donc des glycoprotéines qui jouent un rôle primordial dans les interactions avec les cellules hôtes, et des cibles importantes pour la réponse immunitaire [48]. On dénombre 10 glycoprotéines d'enveloppe connues six d'entre elles sont localisées sur le segment UL (gK, gC, gB, gH, gM, gL) et quatre sur le segment US (gG, gD, gI, gE), certaines glycoprotéines semblent être indispensable à la réalisation du cycle de multiplication virale c'est les glycoprotéines essentielles qui sont : gB gD gH gK et gL et les autres glycoprotéines sont non essentielle leurs délétions dans un gène codant n'affecte que d'une façon mineur leur multiplication virale [45].

Les glycoprotéines gB gC gD sont très immunogènes et sont qualifiées de majeur et les autres glycoprotéines gE gH gI gK gL gG sont qualifiées de mineur. Cette distinction est importante pour réaliser des vaccins dirigés contre le BHV-1 [81].

Tableau (5) : classification et fonction des glycoprotéines de BHV-1 [82,83]

Nom	Gene	Propriété	Fonction	Interaction
gB	UL	Hautement Immunogène	Essentielle Attachement, entrée dans la cellule, passage de cellule à cellule, fusion	Récepteur héparine-like
gC	UL	Hautement Immunogène	Non essentielle Attachement, virulence (hémagglutinine)	Récepteur héparine-like complément (C3b)
gD	US	Hautement Immunogène	Essentielle Entrée dans la cellule, passage de cellule à cellule.	Associée à gH
gE	US	Faiblement Immunogène	Non essentielle Passage de cellule à cellule	gI
gG	US	Faiblement Immunogène	Non essentielle Maintien les jonctions intercellulaires	
gH	UL	Faiblement Immunogène	Essentielle Entrée dans la cellule, passage de cellule à cellule, sortie	Forme un complexe avec gL qui permet l'ancrage de gL dans la membrane cellulaire
gI	US	Faiblement Immunogène	Non essentielle Passage de cellule à cellule	Associée à gE, permet la fusion cellulaire
gK	UL	Faiblement Immunogène	Essentielle Transport intracellulaire vers la surface de la cellule des composants viraux contrôlant la fusion des cellules	
gL	UL	Faiblement Immunogène	Essentielle Entrée dans la cellule	Complexe avec gH
gM	UL	Faiblement Immunogène	Non essentielle Influence la fluidité membranaire favorise l'entrée et la sortie du virus de la cellule hôte	

CHAPITRE III

PATHOGENIE

10. Généralités

Le virus BoHV-1 possède une spécificité cellulaire. Il infecte les cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur et de la muqueuse génitale, ainsi que les lymphocytes TCD4+, les monocytes, les macrophages, les amygdales, les conjonctives et les neurones [64].

Comme tout virus, BoHV-1 est dépendant de la machinerie cellulaire pour se répliquer. Il provoque l'arrêt de la synthèse des protéines cellulaires de l'hôte par l'intermédiaire de la protéine Virion Host Stutthof (VHS) [84]. Cette protéine codée par le gène tardif UL41, provoque la destruction des ARN messagers de la cellule dès les premières heures suivant l'infection. L'arrêt de la synthèse des protéines cellulaires de l'hôte provoque une nécrose [63].

Ensuite, la multiplication intensive du virus dans les cellules épithéliales respiratoires ou génitales conduit à une lyse des cellules par induction de l'apoptose [50], qui se traduit cliniquement par l'apparition d'ulcères. Le virus BoHV-1 induit également l'apoptose des autres cellules infectées, hormis les neurones [63].

10.1. Primo-infection

10.1.1.1. Pénétration dans l'organisme

10.1.1.1.1. Contamination

Dans les conditions naturelles, les herpès virus des ruminants se transmettent principalement par contact direct entre individus ou par l'intermédiaire d'aérosols sur des courtes distances, par contre l'infection génitale requiert un contact direct, soit de façon directe au cours de la saillie, soit par les paillettes d'insémination artificielle ou le transfert d'embryons. Il existe d'autres sources d'infection mais peu courantes, comme l'alimentation, l'eau, ou du matériel contaminé comme les manchons trayeurs de la machine à traire [64].

Les voies d'entrée naturelles du BoHV-1 sont les tractus respiratoires supérieur et génital [63].

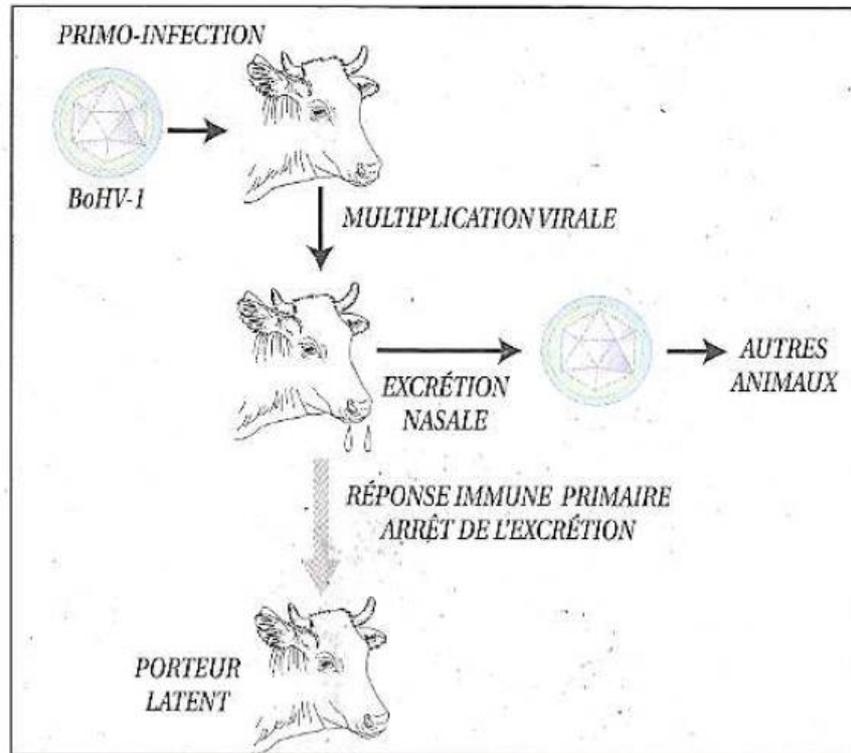


Figure 07 : Description d'une primo-infection par le BoHV-1 [85].

10.1.1.2. Réplication et excrétion virale

Suite à l'interaction entre le virus et la cellule hôte, il y'a une rapide pénétration et la réplication virale à lieu dans les cellules épithéliales de la muqueuse ayant servi de porte d'entrée, Le site de réplication primaire dépend donc du site d'inoculation virale soit : [65]

a-Inoculation oculo-nasale : BoHV-1 : multiplication dans les épithéliums de la muqueuse nasale, du pharynx et des amygdales [86].

Il s'ensuit une perturbation des mécanismes broncho-dilatateurs, ce qui prédispose à une invasion bactérienne secondaire. Les lésions de nécrose consécutives à la multiplication virale et à la forte réaction inflammatoire engendrée conduisent à une maladie pulmonaire obstructive avec une augmentation de la résistance au passage de l'air, une rétention de gaz carbonique et une perte du volume pulmonaire utile [87].

b- Inoculation génitale : BoHV-1 [88;89]: multiplication dans les muqueuses vaginales et prénuptiale.

Suite à cette réplication intense, des nouveaux virions sont assemblés et excrétés à des titres élevés dans le mucus nasal jusqu'à 10^{10} DIC50 (Dose

Infectante en Culture Cellulaire) par gramme de mucus. L'excrétion débute entre 7 et 8 heures post-infection.

La période d'excrétion primaire correspond à une forte dissémination du virus dans le milieu extérieur. Elle dure entre 10 et 16 jours, avec un pic d'excrétion entre le quatrième et le sixième jour après l'infection [63].

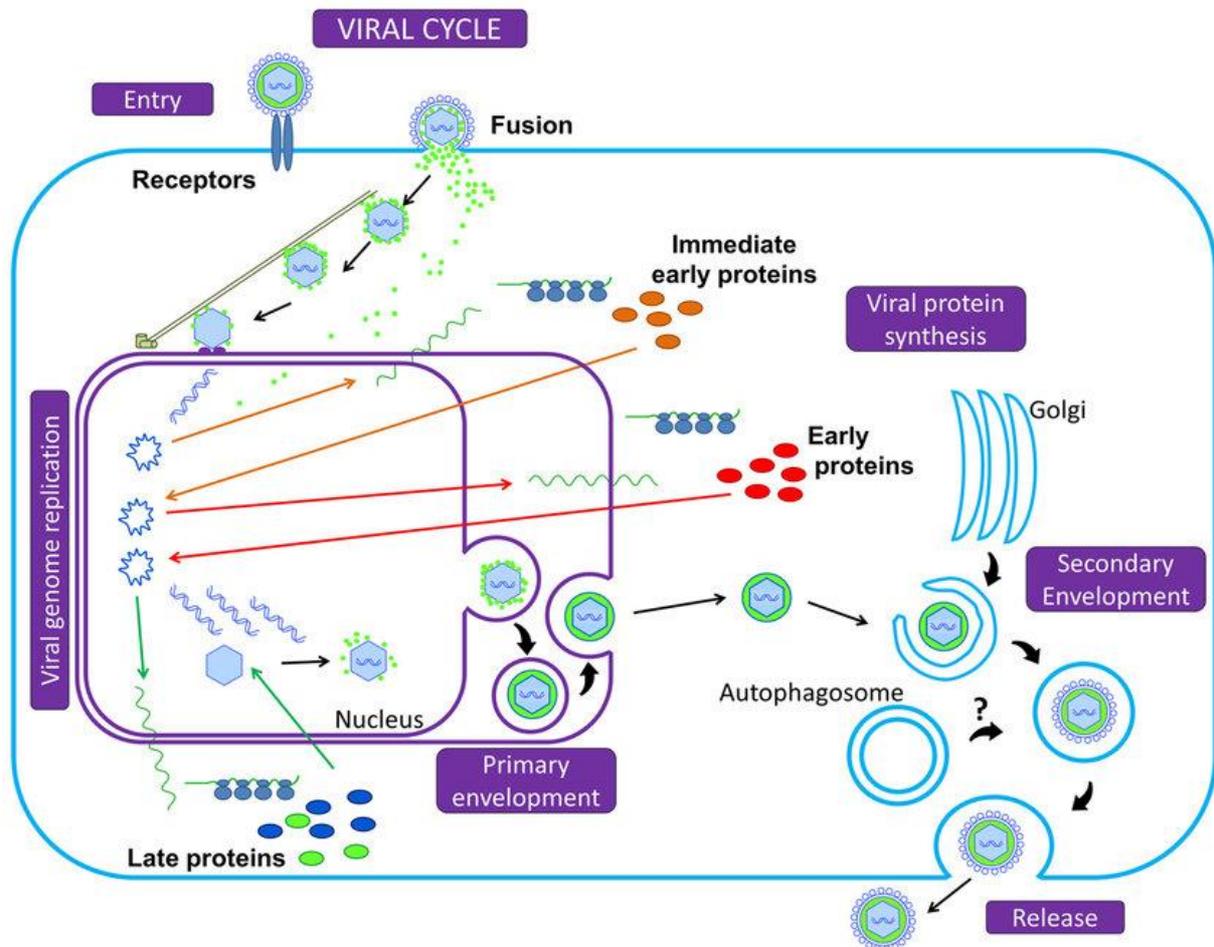


Figure 08 : Réplication et excrétion de l'herpès virus [90].

10.1.1.3. Dissémination dans l'organisme

La dissémination de l'infection par les herpès virus emprunte trois voies différentes : le sang ; le système nerveux et la transmission de cellule à cellule (transmission locale) [91].

10.1.1.3.1. Virémie

L'infection primaire provoque une virémie transitoire avant l'apparition des anticorps spécifiques, le virus est associé aux cellules mononuclées sanguines qui peut entraîner chez l'adulte des localisations secondaires du virus au niveau d'organes cibles provoquant ainsi une grande variété de symptômes [64].

C'est le cas du BVH-1 où le virus peut être responsable d'avortements, d'entérites, et d'infections généralisés mortelles chez les nouveau-nés non protégés par l'immunité colostrale [92].

Après une inoculation intra nasale par une souche hyper virulente de BoHV-1, on peut isoler le virus du BoHV-1 dans le sérum de veaux infectés pendant plusieurs jours [58]. Il semblerait que le passage du virus dans le sang est permis par les lymphocytes et les monocytes. De plus il a été montré in vitro que les leucocytes peuvent être un support au virus du BoHV-1, ainsi qu'un lieu de réplication limitée [94, 95]. Ainsi les lymphocytes permettent de transporter les virions, adsorbés à leur surface, alors que les monocytes permettent une réplication limitée du virus avant de le relâcher [96].

10.1.1.3.2. Voie neurale : neuroprobasié

Lors de la phase de multiplication, le virus du BoHV-1 atteint la terminaison des nerfs périphériques innervant le site initial d'infection et remontent par voie axonale rétrograde jusqu'aux ganglions nerveux régional, siège de latence [97]. Les premiers neurones à être infectés sont les cellules du ganglion trijumeau, et les cellules olfactives de la muqueuse nasale lors d'une inoculation intra nasale, les cellules du ganglion sacral lors de contamination vénérienne [88,98].

10.1.1.3.3. Transmission de cellule en cellule :

Les virions du BoHV-1 sont capables de se propager d'une cellule infectée à une autre non infectée, sans passer par le milieu extracellulaire, donc à l'abri des anticorps spécifiques [64]. La majorité des glycoprotéines d'enveloppe joue un rôle dans cette dissémination de cellule à cellule et en particulier gE et gG [99]. Et cette voie est importante lors de la réactivation du virus à l'état latent chez un individu immunisé [88, 98].

Les cellules peuvent communiquer de différentes façons, allant de la sécrétion de facteurs solubles dans l'environnement aux contacts directs et aux projections cellulaires reliant les cellules individuelles. La diversité de ces connexions intercellulaires rend leur classification difficile, et la nomenclature des différentes protubérances impliquées dans la communication ou la migration cellulaire peut être parfois déroutante, bien que ces protrusions diffèrent par leurs caractéristiques morphologiques, structurelles et fonctionnelles [100, 101, 102]. Des techniques d'imagerie avancées ont récemment permis de visualiser un nouveau type de connexions intercellulaires : des structures fragiles et allongées pouvant relier de manière transitoire des cellules distantes, parfois pendant une très courte période. De telles saillies membranaires, appelées nanotubes à effet tunnel (TNT), ont été décrites pour la première fois dans le cas de cellules de phéochromocytome PC12 en culture [103]. Ils étaient initialement caractérisés comme minces (50 à 200 nm de diamètre), de longs canaux membraneux composés de filaments d'actine et ne contenant pas de tubuline. Plus tard, on a observé la formation de connexions membranaires similaires dans d'autres cellules en culture, telles que des cellules rénales embryonnaires humaines (HEK-293) [104], des cellules rénales de rein de rat normal (NRK) [103, 105]. Des cellules HeLa [106]. Des neurones et des astrocytes [107, 108], et de nombreux autres [102, 109]. De nombreuses observations ont démontré que les nanotubes peuvent relier des cellules immunitaires, des macrophages, des monocytes, des cellules tueuses naturelles (NK) ou des cellules B humaines transformées avec le virus d'Epstein-Barr (EBV) [110]. Ces « tubes » relient le cytoplasme des cellules et permettent l'échange de signaux, de matériaux et d'organelles (lysosomes et mitochondries) entre des cellules non adjacentes. Des études récentes ont montré que les morphologies et les compositions de TNT formés par diverses cellules peuvent différer. Par exemple,

deux types distincts de nanotubes à effet tunnel reliant les macrophages humains ont été décrits : des nanotubes minces ne contenant que de l'actine et des ponts plus épais (diamètre supérieur à 0,7 μm) contenant à la fois de l'actine et des microtubules [111]. Les TNT ne sont pas clairement identifiés et leur longueur peut varier de 10 à plus de 100 μm . Observations de TNT *in vitro* et *in vivo* sont techniquement difficiles car ces structures sont sensibles à la lumière, aux contraintes mécaniques et à la fixation chimique. Chacune de celles-ci peut provoquer des vibrations visibles de la connexion tubulaire et une rupture. La recherche de TNT dans les tissus vivants est donc une tâche ardue. La plupart des études sur les TNT ont été effectuées *in vitro* à l'aide de cellules en culture, alors que les observations de TNT *in vivo* ont rarement été publiées : par exemple, les embryons d'oursins [112], les cellules myéloïdes de la cornée de souris [113, 114] et la région située entre les deux crêtes neurales chez l'embryon de poulet [115]. Cependant, de nombreuses preuves indiquent que la communication et le transport sont médiés par le TNT sont essentiels au fonctionnement cellulaire normal dans des conditions physiologiques [116]. Le mécanisme moléculaire de la formation de nanotubes membranaires n'est pas complètement compris, mais il a été démontré que des conditions stressantes, telles que l'inflammation ou toute lésion cellulaire, stimulaient les cellules pour qu'elles produisent des TNT [117].

Un nombre croissant de rapports ont démontré le rôle important des TNT dans la pathogenèse des maladies neurodégénératives et du cancer [118] et le domaine de la recherche sur les TNT se développe rapidement. L'interaction de la cellule avec l'agent pathogène est un facteur important pouvant contribuer à la formation de TNT. Des nanotubes de tunnel de différentes dimensions se sont révélés être impliqués dans la transmission de bactéries [111] de prions [119, 120]. et de virus. Le premier rapport sur la transmission virale dans les TNT a été décrit pour la propagation du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) de lymphocytes T infectés à un autre non infecté à l'aide des connexions nanotubulaires [121, 122].

La Rhinotrachéite Infectieuse Bovine - IBR

Les étapes de l'infection

MULTIPLICATION VIRALE

Dans la muqueuse nasale et la conjonctivite :

Contamination d'autres bovins avec ou sans signes critiques.

Dans la muqueuse génitale :

Infertilité, avortements.

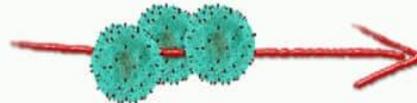
DISPARITION DE LA VIREMIE

Portage «latent»

Chute progressive du taux d'anticorps.

10 à 15 jours

REPOSE IMMUNITAIRE



Arrêt de l'excrétion

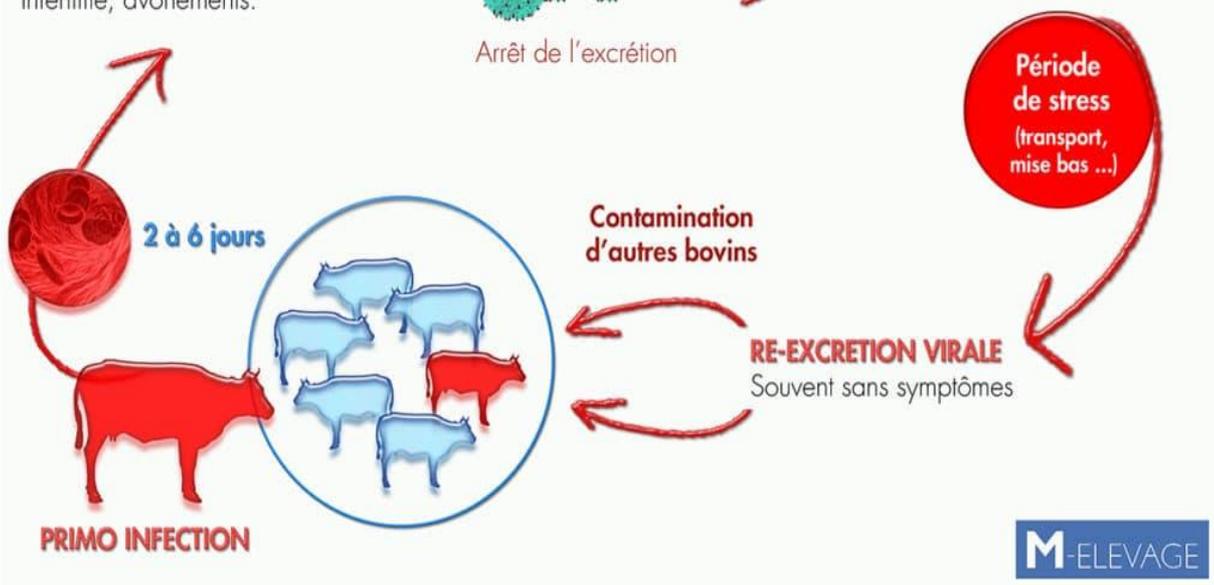


Figure (09) les étapes de l'infection de l'IBR [128].

CHAPITRE IV

CLINIQUES

Herpèsvirus bovin 1 (BHV-1), qui infecte les bovins domestiques est associé à plusieurs conditions cliniques y compris la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR), vulvovaginite pustuleuse infectieuse, balanoposthitis, conjonctivite, et maladie généralisée chez les veaux nouveau-nés. BHV-1 a été classés en sous-types 1.1, 1.2a et 1.2b en utilisant l'analyse par des enzymes de restriction. 1.1 Sous-type est associé à une maladie respiratoire. Les sous-types 1.2a et 1.2b sont impliqués dans la vulvovaginite pustuleuse infectieuse syndrome/balanoposthitis et il peut causer aussi une maladie respiratoire.

Le BoHV-1 responsable de la forme la rhinotrachéite infectieuse bovine a de multiples signes cliniques, suite à la virémie [88,98] et le BoHV-1.2 responsable de la forme IPV, vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse bovine avec une forme respiratoire discrète [124].

La sévérité des symptômes varie en fonction de la virulence des souches et du statut immunitaire de l'animal [125]. Les formes les plus fréquentes sont les formes subcliniques et l'IBR.

1. Forme clinique de l'IPV vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse et balanoposthite [126, 127] :

1.1. Femelle : Vulvo-vestibulo-vaginite ulcéro-pustuleuse infectieuse bovine

- Incubation de 4 à 5 jours

-Les signes généraux sont discrets, l'infection restant localisée dans les dernières portions du tractus génital.

-Les symptômes associés sont une pollakiurie liée à l'inflammation vulvaire, la queue étant par ailleurs constamment levée.

En liaison avec la douleur et les efforts de pousser, il peut se produire un prolapsus vaginal voire utérin.



Figure n°(10) vulvovaginite [129].

1.2. Mâle : balanoposthite

Tableau clinique :

Une hyperthermie (41,5°C) ainsi qu'une inflammation du pénis et du fourreau.

Les complications bactériennes peuvent conduire à des inflammations (une funiculite ; une orchite).



Figure n° (11) Balanite chez un taureau [129].

2. Forme IBR : rhinotrachéite infectieuse bovine : [125, 126, 127]

Les dommages causés par une infection virale sont une inflammation, des changements vasculaires, un œdème, une exsudation de fibrine et de cellules inflammatoires

Tableau clinique :

Le veau est sensible à partir de l'âge de 3-4 mois, avant il était protégé par les anticorps colostrums de la maladie mais pas de l'infection.

L'incubation dure de 2 à 7 jours, le virus est présent dans le mucus nasal dès 24 heures après infection. Les bovins infectés présentent ensuite de l'hyperthermie (parfois jusqu'à 42°C), deviennent anorexiques et toussent.

Chez les vaches laitières, la production chute brutalement. Fréquemment, on observe du jetage +nasal, séreux les premiers jours puis muco-purulent par la suite. Le mufler est sévèrement congestionné.

Présence de foyers nécrotiques sur la muqueuse nasale. D'autres symptômes sont parfois rencontrés : hyperexcitabilités, conjonctivite, dyspnée, détresse respiratoire (due à l'obstruction des voies aériennes supérieures par des débris fibrino-purulents), hypersalivation. En l'absence de surinfection bactérienne, la mortalité est faible et les animaux récupèrent en quelques jours.

A l'autopsie, la muqueuse des voies respiratoires supérieures comporte des lésions nécrotico-hémorragiques : dépôts fibrino-purulents, fausses membranes nécrotico-diphthéroïdes recouvrant une muqueuse ulcérée ou fortement congestivo-hémorragiques.

Des lésions de broncho-pneumonie peuvent être associées à ce tableau lésionnel, notamment en cas de surinfection par *Mannheimia Haemolytica* [130].



Figure n°(12) Atteinte IBR museau de bivin (nez rouge) [135]



Figure n°(13) Atteinte IBR museau et espace inter digital [136]

3. Avortement: [131, 132]

L'avortement se produit dans tous les stades de gestation mais on note une prédominance lors du dernier tiers de la gestation (entre 4 et 7 mois de gestation), quel que soit l'âge de la vache.



Figure n°(14) avortement [133]

4. Mammite:

Une inoculation intra-mammaire provoque une mammite [134].



Figure n°(15) Thélite ulcéralive herpétique[137]

5. Symptômes digestifs :

Tableau clinique :

L'animal présente une stomatite associée à une laryngo-trachéite, La gastro-entérite se traduit par une diarrhée profuse incoercible, chargée de mucus et de fausses membranes [65].

Une infection double IBR/BVD intensifie les signes cliniques de chaque une d'elles.



Figure n°(16) lésion ulcéreuse de la langue en carte géographique [138]

6. Mortalité néonatale : [139]

La contamination du veau s'effectue pendant le dernier tiers de la gestation (transmission verticale) ou bien dans les premiers jours de vie. Les signes cliniques débutent 3 ou 4 jours après la naissance et la mort survient 3 à 4 jours après l'apparition des signes cliniques.

7. Infection subclinique :

L'animal peut être infecté et excréter du virus sans aucun signe clinique. C'est notamment le cas lors de la réexcrétion virale suite à une levée de latence ainsi que lors de réinfection.

Ces animaux représentent un danger épidémiologique puisqu'ils peuvent contaminer le reste du troupeau en étant asymptomatiques donc non détectables cliniquement. Cette forme reste la plus fréquente [65].

8. La latence :

Le phénomène de latence correspond à la persistance du virus dans l'organisme en l'absence de détection possible de celui-ci. Le virus peut persister ainsi de nombreuses années, donc après une infection primaire ou une vaccination par un virus vivant atténué ou délité, le virus du BHV-1 rentre en latence dans les noyaux des neurones de certains ganglions [140]. Si l'infection primaire est respiratoire, le lieu de latence est le ganglion trigéminal [141]. Si l'infection primaire est génitale, le lieu de latence est le ganglion sacré [142, 143].

Dans les conditions naturelles la latence virale fait systématiquement à une primo infection, donc un animal infecté sera à vie porteur.

Après contamination et réplication locale, BHV-1 pénètre les terminaisons nerveuses des nerfs sensitifs de l'épithélium infecté, migre par voie axonale vers le corps cellulaire, dans le noyau de ce dernier le génome se circularise sous forme d'épisome et persiste sans réplication virale, le virus rentre alors en latence [46]. Pendant la latence, l'animal ne présente aucun signe clinique. Seuls des tests sérologiques peuvent mettre en évidence le passage du virus [44].

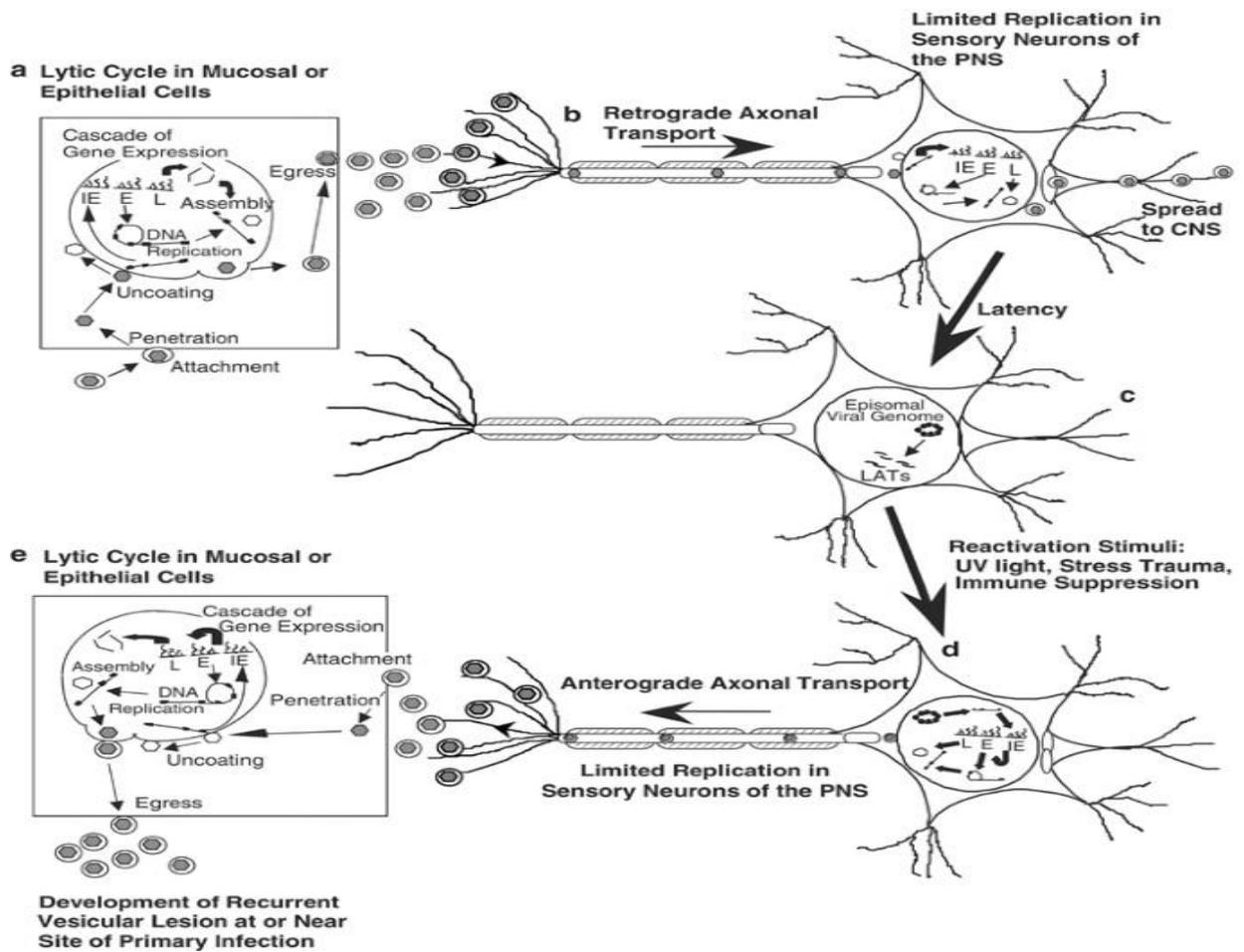


Figure 17 la forme latence et sa réactivation [144]

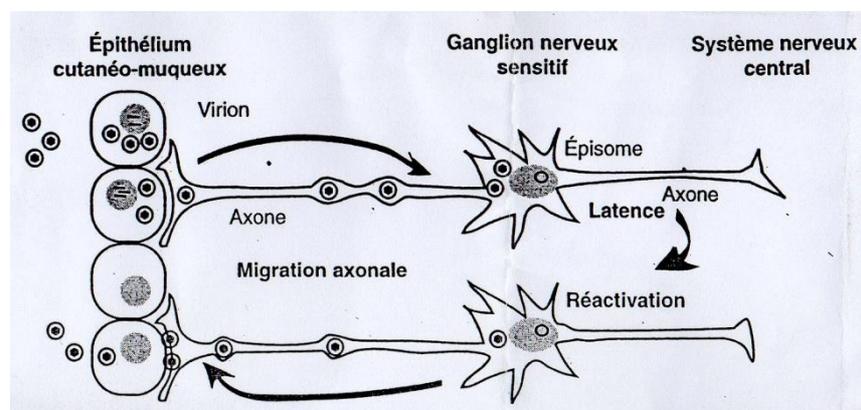


Figure 18 : la latence et de la réactivation virale de BoHV-1 [46]

9. Réactivation et réexcrétion :

Le virus BHV1 peut sortir de sa latence jusqu'à plusieurs années après l'infection primaire, suite à divers stimuli. Après la réactivation il y a synthèse de nouveaux virions dans le site de latence [45].

Il existe différents stimuli déclenchant la réactivation du virus, comme la mise-bas, le transport la surinfection par le virus parainfluenza [145], la bronchite vermineuse *Dictyocaulus viviparus* [146].

Des injections de dexaméthasone a raison 0.1mg/kg de poids vif /j par voie intraveineuse pendant 3 à 5 jours provoquant une réactivation mais l'immunodépression qui pourrait découler de l'injection répétée de glucocorticoïdes n'est pas en cause. La dexaméthasone aurait une action directe sur le neurone hébergeant le BHV-1 [147].

Une injection de 3-Methylindole, qui est un produit de la transformation du tryptophane qui peut engendrer des lésions pulmonaires aux ruminants qui en l'ingérant [148].

Tous ces évènements induisent une augmentation de la concentration de cortisol circulant dans le sang.

La réexcrétion virale est faite après réactivation dans les neurones du ganglion trigéminal, BHV-1 débute un cycle de réplication lytique qui peut conduire à la mort du neurone [149]. Les nouvelles particules virales migrent par voie axonale jusqu'à leur porte d'entrée initiale : la muqueuse respiratoire. Le virus est capable de passer des axones aux cellules gliales accolées au neurone mais ensuite, il ne peut pas passer de la cellule gliale à une cellule non nerveuse sans sortir des cellules nerveuses [150].

Le niveau de l'immunité de l'animal infecté influe sur le degré de ré-excrétions. En effet des bovins ont été immunisés avec une souche virale thermosensible contre BHV-1 puis inoculé avec une souche sauvage virulente, ont développé une immunité forte et il a été impossible de mettre en évidence une réexcrétion, même après un traitement avec dexaméthasone. Donc la réactivation virale ne s'accompagne de la réexcrétion [44].

CHAPITRE V

REPONSE IMMUNITAIRE

La réponse immunitaire selon [151] induit trois sortes de réponses immunitaires :

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

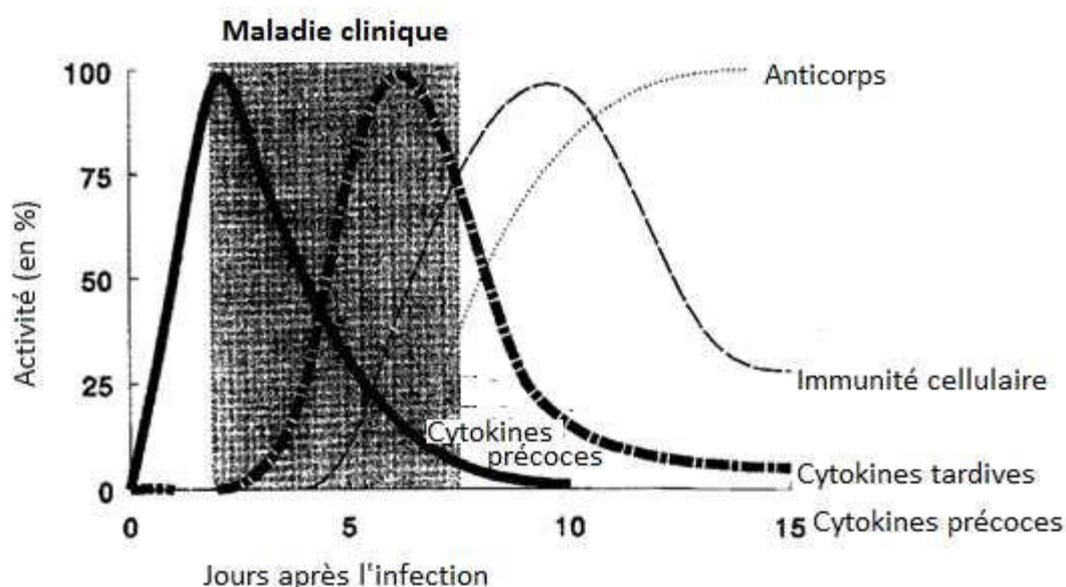


Figure 19 : Réponse immunitaire à l'infection par le BoHV-1[152].

3. Réponse immunitaire non spécifique

La réponse immunitaire non spécifique est réalisée par les Polynucléaires Neutrophiles

(PNN), les macrophages, les cellules Natural Killers (NK), les fibroblastes, le complément, les interférons et d'autres facteurs qui limitent l'attachement du virus aux cellules de l'épithélium respiratoire [153]. Suite à une infection, les interférons α et β sont présents dès la cinquième heure post-infection, qui sont produits par les fibroblastes et les macrophages, et ils sont retrouvés dans les sécrétions nasales et

dans, leurs concentrations atteints un pic dans 36 à 72 heures et elle reste élevée jusqu'à l'arrêt de la multiplication virale [44, 154, 81].

Les cytokines qui initient la réponse inflammatoire, ils sont libérés par les cellules qui interviennent dans le site de l'infection (macrophage, les polynucléaire neutrophile, les cellules NK) puis sont relayés par l'immunité spécifique [155]. Les cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine (IL)-1 β et le *tumor necrosis factor* (TNF)- α , sont responsables du syndrome fébrile observé rapidement après l'infection, une réaction inflammatoire ainsi qu'une infiltration parenchymateuse pulmonaire par les polynucléaires neutrophiles 24 à 48 heures après infection par le BoHV-1. Ces cytokines sont produites par les cellules alvéolaires et les Pneumocytes [49, 81].

Les cytokines chimiotactiques, les chémokines, induisent l'expression de molécules d'adhésion (ICAM 1) sur les cellules endothéliales, ce qui favorise l'adhésion des leucocytes. Leur synthèse est stimulée par les cytokines pro-inflammatoires.

3.2. Réponse cellulaire :

Après la mise en place précoce de la réponse immunitaire non spécifique, la réponse immunitaire à médiation cellulaire s'établit, 7 à 10 jours après l'infection. Les glycoprotéines virales gB, gC et gD, qui sont les glycoprotéines majeures d'enveloppe, déclenchent la réponse immunitaire spécifique et en sont les cibles [44]. La glycoprotéine gC agit notamment en stimulant les lymphocytes TCD4 [152]. gC et gD constituent également des cibles pour les lymphocytes TCD8+ cytotoxiques [156]. Les autres acteurs de cette réponse sont les macrophages, les cellules NK, les polynucléaires neutrophiles, les lymphocytes Th1 et Th2. Ils produisent des interférons γ qui sont dirigés contre les antigènes viraux. Ces éléments de la réponse immunitaire détectent et détruisent les cellules de l'hôte qui sont infectées [44]. Lors d'une seconde infection ou de la réactivation d'une phase de latence les polynucléaires neutrophiles détruisent les cellules infectées par cytotoxicité dépendante des anticorps [81].

3.3. Immunité humorale :

La réponse humorale faisant intervenir les anticorps intervient surtout pour prévenir une nouvelle infection par BoHV-1, plus que pour la guérir. Lors d'une primo-infection les anticorps ont un rôle moins important que l'immunité à médiation cellulaire [157]. Par contre, en cas de seconde infection, la réponse de type humorale avec production d'anticorps est plus efficace que la réponse cellulaire [44].

Ces anticorps produits par les lymphocytes B, cette synthèse ne commence qu'entre 7 et 12 jours après l'infection, avec un taux maximal au bout de 20 jours. Il y a d'abord production d'IgM puis d'IgG. Localement, au niveau des muqueuses, il peut y avoir sécrétion d'IgA (dans les sécrétions bronchiques et nasales), qui apparaissent au bout de 2 à 3 jours et disparaissent au bout de 7 à 14 jours [158].

Les anticorps n'empêchent pas le passage du virus de cellule à cellule. Les anticorps agissent en neutralisant les particules virales extracellulaires et en limitant la diffusion extracellulaire de l'infection. Un taux élevé d'anticorps anti-BoHV-1 dans la muqueuse nasale va permettre, même en cas de réactivation virale, de neutraliser le virus et d'empêcher sa transmission à d'autres animaux.

Les anticorps persistent deux à trois ans chez l'animal, et on peut les détecter plus de 5 ans après la première infection [49, 81]. En particulier les anticorps anti-gB [157], comme lors de la réponse spécifique à médiation cellulaire, les glycoprotéines gB, gC et gD sont la principale cible des anticorps [45].

La cinétique de la réponse humorale par anticorps après exposition au virus BoHV-1 par voie intra-nasale est représentée sur la Figure [159].

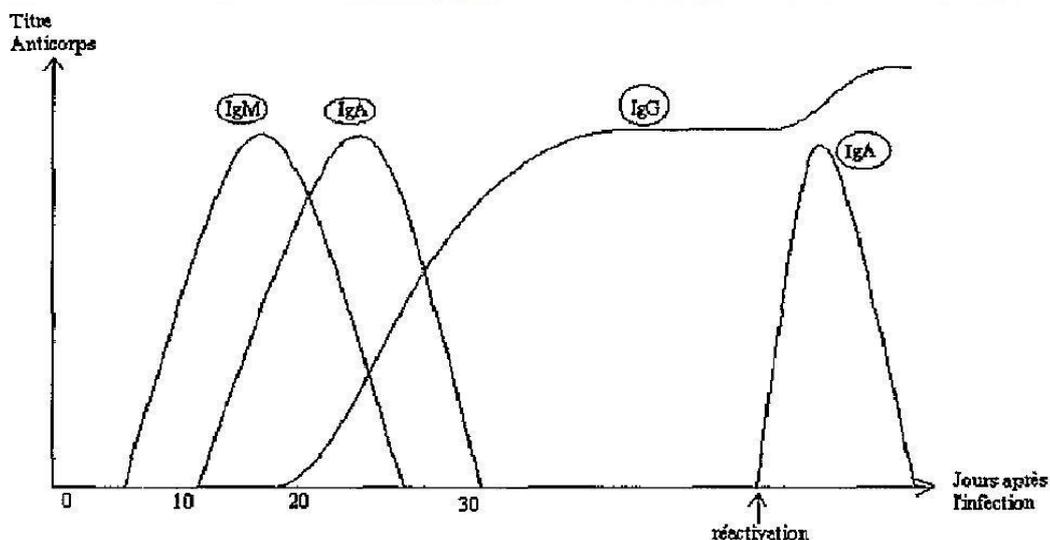


Figure20 : Cinétique de production d'anticorps en cas d'infection ou de réactivation [159]

Partie expérimentale

1. INTRODUCTION

L'herpèsvirus bovin 1 (BoHV-1) est un virus de bétail qui peut entraîner des pertes économiques en raison d'échecs de reproduction, de mortalité des veaux, de maladies entériques et respiratoires. BoHV-1 est un virus de la famille des Herpesviridae, de la sous-famille Alphaherpesvirinae, agent responsable de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Muylkens, Thiry et al. 2007), une maladie infectieuse hautement contagieuse [2, 4]. Une maladie respiratoire avec un signe clinique typique associé à l'infection à BoHV-1, mais le virus peut également être associé à une conjonctivite, une vulvovaginite, des avortements, une encéphalite et une balanoposthite. Le passage des manifestations primaires de l'infection à un stade de persistance latent est souvent la source de la propagation après la réactivation du virus [5]. Cette maladie est très morbide mais entraîne une faible mortalité chez les animaux infectés [185]. L'infection des vaches gravides peut entraîner une infection fœtale transplacentaire. Les fœtus peuvent être avortés, momifiés, mort-nés ou nés avec des anomalies graves. Dans de nombreux cas, des veaux immunotolérants naissent (infectés de façon persistante). En outre, l'utilisation de vaccins peut réduire les pertes économiques causées par une maladie clinique, mais ne semble pas réduire la prévalence des infections par le BoHV-1. Il est difficile d'estimer avec précision l'impact économique réel dû aux animaux infectés qui ne présentent souvent aucun signe clinique de ces infections. Le BoHV-1 est largement répandu en Europe, Asie et en Amérique de sud (Mexique), comme l'ont indiqué des études antérieures. Toutefois, des différences d'état peuvent exister au sein d'un même pays et entre régions. Les effets des facteurs de risque peuvent également varier **d'une région ou d'une ferme à l'autre en raison des changements microclimatiques, des différences de gestion, de la densité**. Le virus Le BoHV-1 se transmet principalement entre les troupeaux par les mouvements de bétail,

l'utilisation de vaccins vivants, le sperme et les embryons, les visiteurs, y compris les vétérinaires et les techniciens en insémination artificielle. Certaines études européennes font état de plusieurs facteurs de risque associés à l'infection à BoHV-1, tels que **l'âge des animaux, le statut vaccinal, la taille du troupeau, le système de production (lait ou viande), la saison et l'introduction d'animaux à la ferme (Boelaert et al. 2005 ; González -Garcia et al. 2009)**. Plusieurs rapports ont associé un facteur de risque à l'infection par le virus Le BoHV-1, tels que la densité des élevages, l'altitude, l'achat d'animaux (Saa et al. 2012 ; Fernandes et al., 2016). Par conséquent, il est important de disposer d'informations sur l'épidémiologie de BoHV-1, des programmes de prévention et de contrôle adaptés sont nécessaires pour des régions spécifiques

Notre travail est divisé en trois étapes successives :

La première étape : elle a comme objectif de chercher la circulation de virus de l'IBR le BHV-1 dans les cheptels bovins algériens, elle consiste à une enquête sérologique préliminaire Elisa gB sur 155 bovins, suivie d'une étude de comparaison des bovins positifs (N=11) avec Elisa gE, pour éliminer les positifs vaccinés.

La deuxième étape : l'objectif est de déterminer l'importance de la séoprévalence de du virus Le BoHV-1 dans les régions de Tizi ouzou, Boumerdes, Buir, Bordj Bouareredj ; associée à des facteurs de risques ; région, sexe, âge, type de production, type d'élevage, état d'hygiène, introduction des nouveaux animaux (N=1129) Elisa gB.

La troisième étape ; son objectif est ; étudier les caractéristiques biologiques du virus Le BoHV-1 ; culture cellulaire séroneutralisation virale gB, gE, gD, réactivation du virus chez les bovins séropositifs à la dexaméthasone pendant 5 jours, ajustement des sérums algérien avec des vrais positifs de référence et des vrais **négatifs** de référence, et enfin isolement et identification BoHV-1 virus Algérien grâce à la PCR.

4. Matériels et Méthode :

4.5. Matériels non Biologique :

Pour le prélèvement sanguin : aiguilles, port aiguilles, gants, tubes sec, Glacière, poches de sang de 500ml, boites de prélèvements stériles, écouvillons, eau physiologique, dexaméthasone, seringues 10cc, antibiotiques large spectre oxy-tétracycline + pénicillines, centrifugeuse.

Pour les tests Elisa et culture cellulaire ; séroneutralisation virale gB, gE, gD la liste du matériel est citée aux annexe 1 et 2.

4.5.1. Matériel Biologique

Les bovins qui présentent des problèmes d'avortements.

Le sang et sérums.

Les cellules de culture.

Le virus BHV-1

Le sérum de référence N46

Les têtes de bovins après l'abattage, pour récupérer les ganglions trijumeaux

5. Méthode :

5.1. Recensement des élevages rencontrant des avortements :

Suite à une enquête auprès des élevages bovins grâce à des vétérinaires praticiens de la rurale sur les élevages rencontrant des avortements.

Un formulaire est rempli lors des prélèvements, ainsi les données sont récupérées sur :

- Le type de production des élevages : laitiers, viandes ou mixte.
- Le type d'élevage : intensif, semi intensif.
- Introduction des nouveaux animaux.
- Hygiène.
- Age.
- Sexe.
- Région.

Pour estimer la séroprévalence :

Le nombre d'animaux échantillonnés (n = 1068 prélèvements valables de plus de 6 mois), la prévalence dans cette étude a été calculé en tenant compte d'une prévalence attendue de 50%, et d'un niveau de confiance de 95% et d'une précision de 5% (Segura et Honhold, 2000).

Les fermes et les animaux dans les fermes ont été sélectionnés au hasard. La plus petite ferme échantillonnée comptait au moins 1 animal.

Un à 20 animaux ont été échantillonnés par ferme. Des échantillons de sang ont été prélevés sur des bovins en âge de procréer plus de six mois (les deux sexes).

Tous les animaux inclus n'étaient pas vaccinés contre BoHV-1.

5.2. Etude des facteurs de risque :

Pour identifier les facteurs de risque possibles associés à IBR, des enquêtes sont effectuées dans les exploitations afin de recueillir des informations sur les facteurs de risque potentiels ; au niveau du troupeau et de l'animal.

Les facteurs évalués sont : le système élevage (intensif et semi-intensif), le système de production (lait, viande, mixte), les nouveaux bovins introduits à la ferme (non, oui), l'âge des bovins (6–36, 37-72 et > 72 mois), sexe, état d'hygiène de l'étable et la région géographique (Tizi-Ouzou, Boumerdes, Buir, Bordj Bouareredj).

La plupart des animaux échantillonnés appartenaient à des croisements de type Montbéliard, Holstein, charolais, Il n'y avait aucun signe clinique chez les animaux enregistrés lors de l'échantillonnage.

5.3. Période d'étude

Notre étude s'étend de Mai 2010 au mois de juin 2020 ; ainsi les prélèvements sont effectués de Mai 2010 au septembre 2012 (n=136), ensuite une autre étude est réalisée mai 2014 septembre 2015 (n=1063).

La réactivation de virus et récupération des prélèvements ; sang, écouvillons nasaux et vaginaux sont réaliser de 13 octobre 2016 au 13 novembre 2016 (n=5x5x3) et enfin pour la PCR un prélèvement des ganglions nerveux trijumeau chez deux vaches (n=2) en juin 2020.

5.4. Réalisation des prélèvements sanguins

Des échantillons de sang (10 ml) sont prélevés dans la veine coccygienne de chaque animal, à l'aide d'aiguilles jetables (21 mm 1,5 mm) et de tubes marque Vacutainer. Les échantillons sont identifiés puis conservés et transportés sous froids aux **Laboratoire Européen de Référence de l'IBR de l'Anses Sophia-Anti police de Nice en France et Laboratoire de Diagnostic de la Faculté de Médecine Vétérinaire du logo de l'Université de Saint-Jacques-de-Compostelle en Espagne.**

Les échantillons de sang sont centrifugés à 1500 g à 4 ° C pendant 10 min et le sérum est transféré dans des tubes jetables (Eppendorf®) et conservés à -20 ° C jusqu'aux tests ELISA.

5.5. Préparation et identification des échantillons :

Les prélèvements sanguins réalisés identifiés avec un numéro qui porte le numéro de la wilaya puis le numéro de l'élevage et enfin le numéro de l'animal ; exemple **15 20 05 03** :

Le chiffre **15** est le numéro de la wilaya de Tizi ouzou.

Le chiffre **20** est le numéro d'élevage.

Le chiffre **05** est le numéro de l'animal.

Le chiffre **03** est l'année de naissance de l'animal.

5.6. Domaine d'étude

La zone d'étude est située au nord de l'Afrique en Algérie, exactement au nord-est d'Alger où le climat varie d'humide à semi sec. La production bovine est une activité importante. Le cheptel bovin est passé de 1 560 000 têtes en 2003 à plus de 1 909 000 têtes en 2013 soit une augmentation de plus de 18 %. Le nombre de vaches laitières en 2013 représente plus de 1 million de têtes dont près de 30 % sont des vaches de races exogènes surtout laitières. (Ministère de l'agriculture ; 2013)

Sur le plan géographique le cheptel bovin est concentré essentiellement dans la région de l'Est qui prédomine avec environ 59 % de l'effectif bovin national suivie du Centre et de l'Ouest avec respectivement 22 % et 14 %, et le Sud avec seulement 5%. Nous observons selon la dénomination officielle du Ministère de l'agriculture 3 types d'élevage représenté par le type de races exploitées :

- L'élevage bovin laitier moderne ou BLM constitué de races laitières introduites ou races de haut rendement.
- L'élevage bovin amélioré ou BLA ; constitué de races croisées issues des différents croisements obtenus depuis l'ère coloniale et après l'indépendance.
- L'élevage bovin local ou BLL ; constitué des sujets de races locales ou populations locales.

Notre étude s'étend sur quatre régions, à savoir Tizi ousou, Boumerdes, Bouira et Bordj Bouareredj, ce choix est reposé sur les différences caractéristiques du climat ; Tizi ousou, Boumerdes sont deux régions côtières et humides avec le bassin de Oued Sebaou, Bouira et Bordj Bouareredj sont deux régions semi-arides à secs en Eté avec des variations climatiques et géographiques spécifiques pour chaque région.



Figure n°21 carte des régions étudiées

6. Analyse des prélèvements

6.1. ELISA indirecte gB (n=136) Laboratoire Européen de Référence

de l'IBR de l'Anses Sophia-Anti police de Nice en France:

(Kits ELISA BoHV-1 IBRgB IDEXX Laboratories Inc., Westbrook; Maine 04092 USA)

la technique est détaillée à l'annexe 1

Elle est effectuée selon les instructions du fabricant. Un test ELISA indirect pour la détection d'anticorps anti BoHV-1 à l'aide d'anticorps monoclonaux. Les résultats sont lus dans un photomètre microplaque, où la densité optique (DO) est mesurée à 450 nm. La DO de coupure est calculée comme suit : $A = DO$ (contrôle négatif corrigé) 3,50. Tous les échantillons avec une DO supérieure ou égale à 0,35 sont considérés comme positifs. La sensibilité et la spécificité de ces tests sont respectivement de 100% et 99,5%.

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

La première étude préliminaire sur 136 échantillons, pour détecter la circulation du virus en ALGERIE.

6.2. ELISA de Compétition gE (n=13) (kit IDEXX) Laboratoire Européen

de Référence de l'IBR de l'Anses Sophia-Anti police de Nice en France:

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

Dans cette seconde technique on doit différencier les bovins séropositifs du virus sauvage et des bovins vaccinés.

6.3. Séroneutralisation : la technique est détaillée à l'annexe 2

(Laboratoire Européen de Référence de l'IBR de l'Anses Sophia-Anti police de Nice en France)

Le principe : La détection d'anticorps neutralisants contre le BoHV-1 dans un sérum est réalisée en microplaque par la technique de neutralisation virale, selon protocole décrit dans la norme NF U 47-030.

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

Dans notre travail elle consiste à évaluer le pouvoir immunigène de virus algérien, par la quantité des anticorps produite.

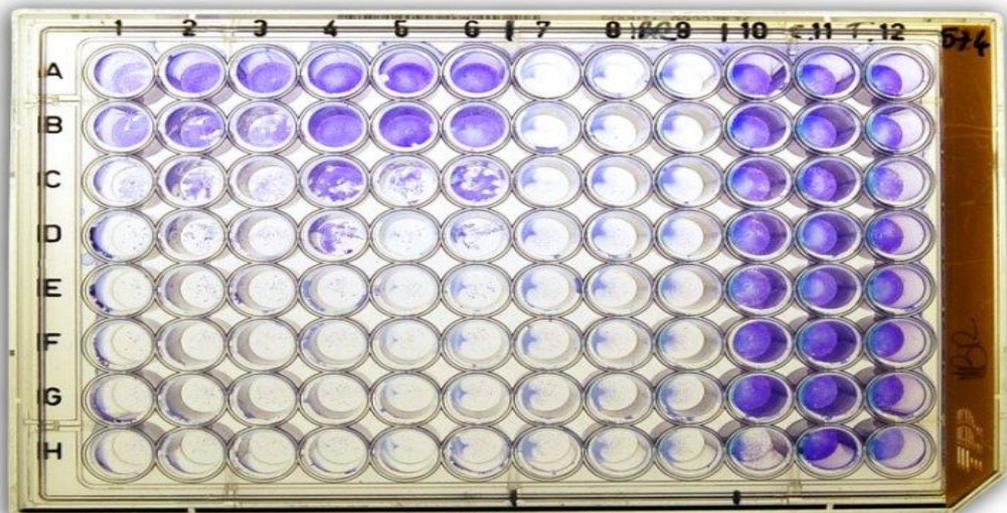


Photo n°1 plaque 1 de séroneutralisation virale

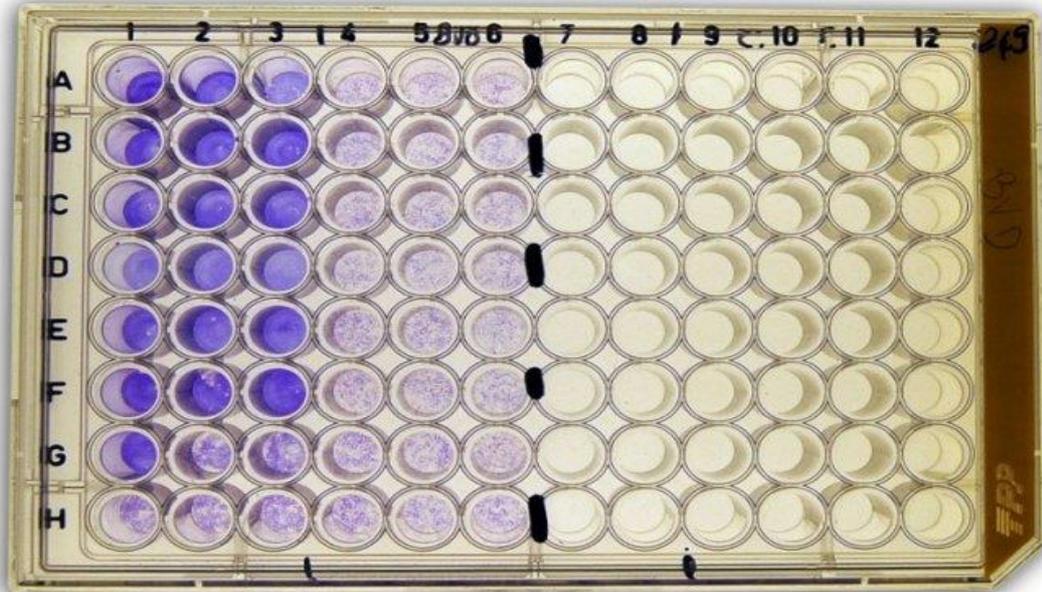


Photo n°2 plaque 2 de séroneutralisation virale

4.4. Isolement du virus :

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

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

4.4.1.Réactivation virale à la dexaméthasone (Boumerdes Algérie) (selon Stephen VALAS expert Anses Niort) :

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

La première possibilité de confirmation d'une sérologie positive est la réactivation virale par administration répétée au bovin de la dexaméthasone associée à l'antibiotique l'oxytétracycline et pénicilline afin de protéger le bovin de surinfection bactérienne, l'administration se fait par voie intra musculaire, pendant 5 jours.

Le traitement à la dexaméthasone correspond à une réactivation induite par un stress dans la nature qui entraîne une augmentation des glucocorticoïdes endogènes. Les glucocorticoïdes sont des régulateurs de l'expression des gènes cellulaires et viraux. Ce sont également des agents immunosuppresseurs.

L'injection de dexaméthasone a des effets rapides sur les interactions virus/neurones, elle induit des changements dans le ganglion trigéminal, La dose permettant la réactivation virale est de 0,1 mg/kg/jour pendant 5 jours [186].

Nous avons réalisé la réactivation sur cinq vaches séropositives avec des injections de 0,1 mg/kg/jour pendant 5 jours associés à une antibiothérapie préventive Oxytétracycline et ampicilline.

On a prélevé ensuite du mucus nasal et vaginal avec 2 écouvillons/ vache/ jour, de J5 à J10 avec un total de 12 écouvillons pour chaque vache, ensuite on a prélevé du sang deux 3 tubes de 10ml/vache/ jour à J1, J2, J3, J4, J5. La recherche du virus se fait ensuite par isolement sur culture cellulaire et PCR.

Malheureusement ces échantillons ne sont pas analysés, au Laboratoire Européen de Référence de l'IBR de l'Anses Sophia-Anti police de Nice en France, suite à l'annulation de la convention de coopération et transfère de la thématique au laboratoire de Niort en France. Faute de moyen de conservation, les échantillons sont décongelés et détériorés à cause d'une panne de congélateur au laboratoire.

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



Photo n° (3) flaquant de la dexaméthasone 5mg de 100ml de laboratoire *Vetoquinol*



Photo (4) flaquant de l'oxytétracycline 20% de 250ml de laboratoire Zoetis

4.4.2. Ajustement des sérums :

Dans notre travail on a prélevé du sang des vaches séropositives, où quelles on a pratiqué une réactivation du virus à la dexaméthasone pendant 5 jours.

On a récupéré ; 1 litre (2 poches de sang de 500ml) pour chaque prélèvement ; à **J0, J10, J20 et J30** ainsi **5 litre pour chaque vache** sont prélevées, **1L à (J0, J10, J20) et 2L à J30.**

Malheureusement ces analyses ne sont pas réalisées au **Laboratoire Européen de Référence de l'IBR de l'Anses Sophia-Anti police de Nice en France**, faute de moyen suite à la décongélation et détérioration des échantillons.

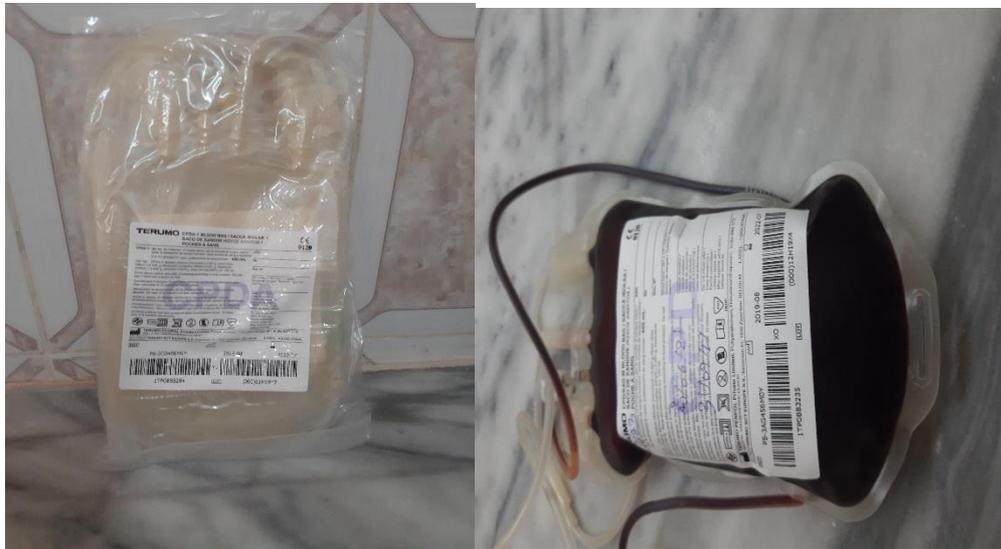


Photo 6 récupérations de sang des bovins

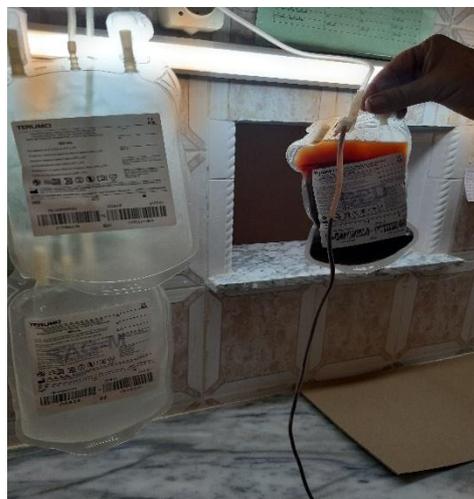


Photo 7 : Triple pochette de sang

5. Recherche virale dans les ganglions nerveux trijumeaux :

5.2. Description de la méthode selon le professeur Geneviève BENARD.

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

1^{ère} Phase : préparation du site de découpe

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

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

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

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



Photo 8 : Ganglion trijumeau



Photo 09 : Préparation du site de découpe des ganglions trijumeaux

2^{ème}Phase : découpe

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

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

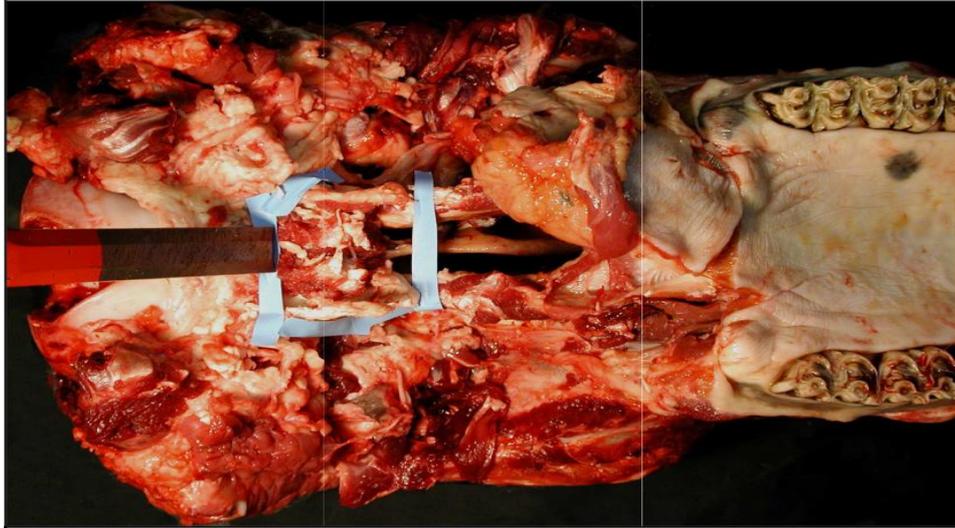
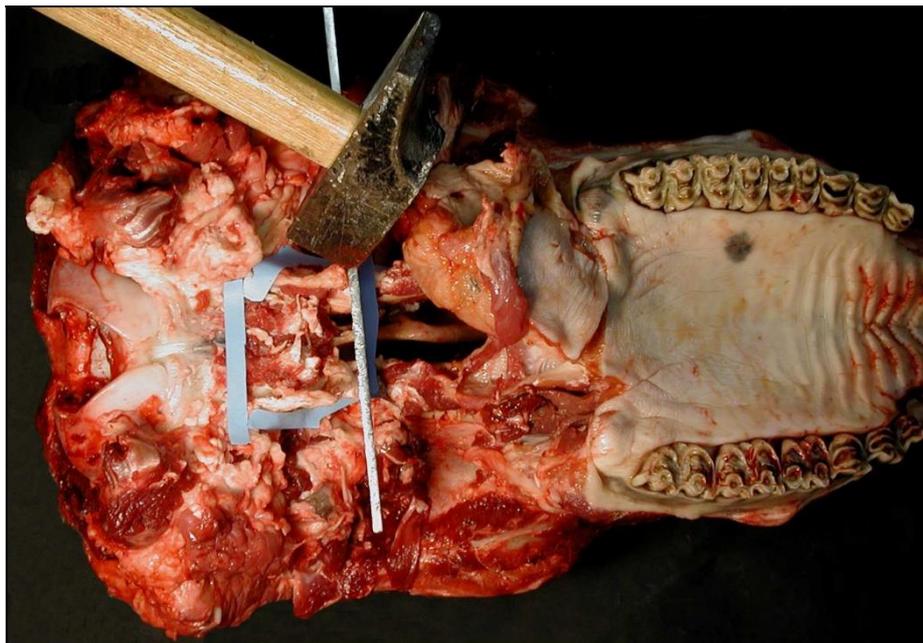


Photo 10 : Première étape de découpe ganglions trijumeaux

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



Photos 11 : 2^{ème} et 3^{ème} phases de découpe ganglions trijumeaux



Photos 12 : 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème}, 4^{ème} et phases de découpe ganglions trijumeaux

3^{ème} phase : prélèvement des ganglions trijumeaux

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

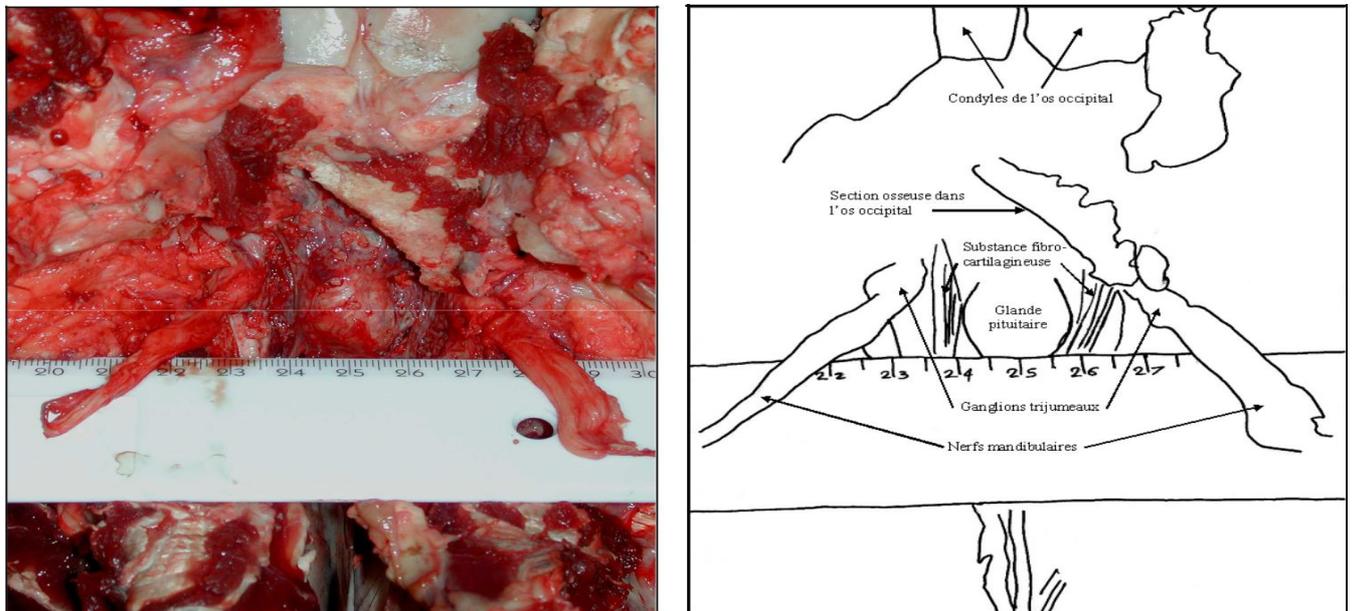


Figure 13 : Mise en évidence des ganglions trijumeaux



Figure 14: ganglions trijumeaux dans la boîte crânienne



Photo 15 : ganglion trijumeau



Figure 16: ganglions trijumeaux



Photo 17 : ganglion trijumeau dans des boites pour congélation

La recherche du virus au niveau de son site de latence, le ganglion trijumeau grâce à une analyse PCR permettant d'identifier BHV1 avec certitude. Cela permet également de contrôler l'hypothèse d'une réaction croisée avec un autre herpesvirus et de l'identifier. L'inconvénient est que cette méthode implique l'abattage de l'animal. Cependant dans un contexte où l'animal provient d'un élevage indemne, la réglementation prévoit qu'il soit abattu ou refoulé. Il est plutôt conseillé d'abattre le bovin. La récupération des ganglions et leur analyse sont alors envisageables.

6. Analyse statistique :

Des statistiques descriptives sont utilisées pour calculer la fréquence des animaux séropositifs pour les anticorps contre le BoHV-1. Un test de dépistage primaire pour identifier les facteurs de risque significativement liés à la séropositivité BoHV-1 est réalisé à l'aide de tests R. Seuls les facteurs associés ($P < 0,05$) à la variable de réponse ont été proposés aux modèles de régression binomiale logistique.

Pour la rhinotrachéite infectieuse bovine, un troupeau était considéré positif si au moins un animal était séropositif dans le troupeau.

Analyse des facteurs de risques associés aux maladies

Le logiciel SAS version 9.2 (Cary, N.C.) a été utilisé pour effectuer les analyses des facteurs de risques. Les calculs ont été effectués avec un intervalle de confiance de 95%.

Sept variables ; la région, le sexe, l'âge, type de production, type d'élevage, état d'hygiène, introduction des nouveaux animaux ont été analysées dans cette étude. Ces variables sont considérées comme des facteurs de risque de IBR dans plusieurs études (Jakobsen, Alban et al. 2000 ; Mockeliuniene, Salomskas et al. 2004 ; Corbellini, Smith et al. 2006 ; Vanleeuwen, Haddad et al. 2010). **Ces variables ont été choisies parmi les autres car nous pensions qu'elles pourraient refléter plus les caractéristiques des biologiques de notre virus BHV1.**

Un modèle de régression logistique mixte a été utilisé pour étudier les effets de chacune des sept variables, avec l'élevage et l'animal comme effet aléatoire et chacune des sept variables comme facteur fixe, pour tenir compte de la non-indépendance des données à l'intérieur du même troupeau.

La variable a un effet statistiquement significatif sur la séroprévalence de troupeau de chacune des maladies si $p < 0.05$.

Résultats

4. La séroprévalence de l'IBR (tests ELISA gB).

4.1. La séroprévalence de l'IBR selon les régions :

Tableau 06 : la séroprévalence de l'IBR selon les régions :

Région	Nombre BV	Nombre BV(+)	Fréquence BV+	Nombre d'élev	Nombre d'élev(+)	Fréquence elev(+)
Tizi ousou	250	36	14,40%	29	16	55,17%
Boumerdes	278	54	19,42%	27	20	74,07%
Bouira	255	33	12,94%	31	21	67,74%
Bordj b	283	28	9,89%	30	13	43,33%

Selon nos enquêtes la prévalence de l'IBR est de 74,07% dans les élevages de à Boumerdes, suivi de 67,74% à Bouira et 55,17% à Tizi ousou et 43,33% à Bordj Bouareredj.

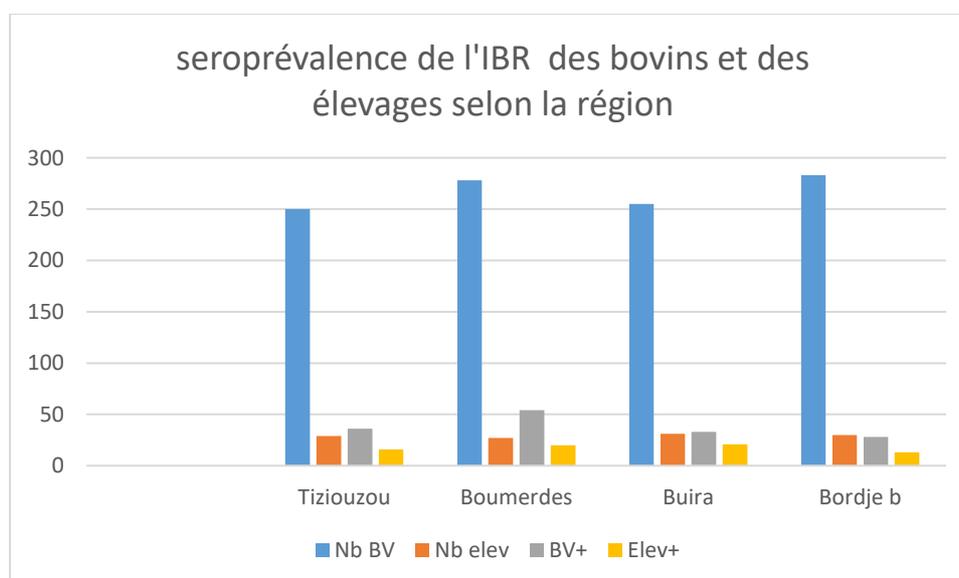


Figure (22) la séroprévalence de l'IBR selon la région

4.2. La séroprévalence de l'IBR selon le type de production :

Tableau 07 : la séroprévalence de l'IBR selon le type de production

Région	Nombre des elev+	Elev Lait A+	Fréquence (+)	Elev viande	Fréquence (+)	Elev mixte	Fréquence (+)
Tizi ousou	16	5	42,86%	4	25,00%	7	43,75%
Boumerdes	20	7	35,00%	5	25,00%	8	40,00%
Bouira	22	8	36,36%	7	31,82%	7	31,82%
Bordj b	14	5	35,71%	3	21,42%	6	42,86%

Selon nos résultats, la séroprévalence de l'IBR est plus importante dans les élevages mixtes (43,75%, 40,00%, 42,86%) puis les élevages laitiers (42,86%, 35,00%, 35,71%) et enfin les élevages de production de viande (25,00%, 25,00%, 21,42%). Ce pendent, dans la wilaya de Buirra il n'y a pas de déférence significative (31,82%, 36,36%, 31,82%).

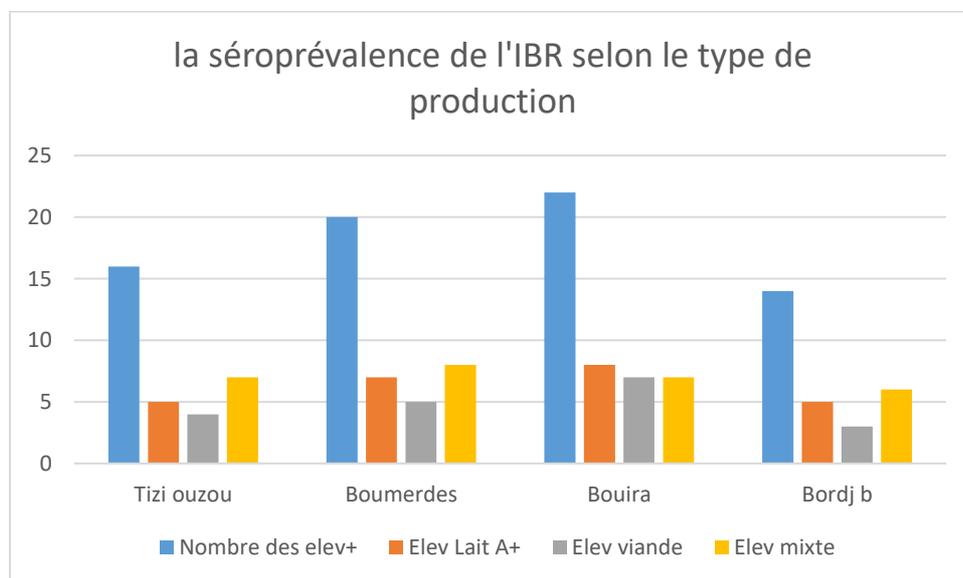


Figure (23) la séroprévalence de l'IBR selon le type de production.

4.3. La séroprévalence de l'IBR selon le type d'élevage

Tableau 08 : La séroprévalence de l'IBR selon le type d'élevage

Région	Nombre des elev +	elev intensifs +	Fréquence intensif +	Elev semi Intensifs +	Fréquence Semi intensif +
Tizi ousou	16	07	38,90%	09	61,10%
Boumerdes	20	07	40,74%	13	59,26%
Bouira	22	10	45,45%	12	54,55%
Bordj b	14	05	39,29%	09	60,71%

Les résultats montrent que l'élevage semi intensif est l'élevage le plus atteint par le virus de l'IBR (61,10%, 59,26%, 54,55%, 60,71%).

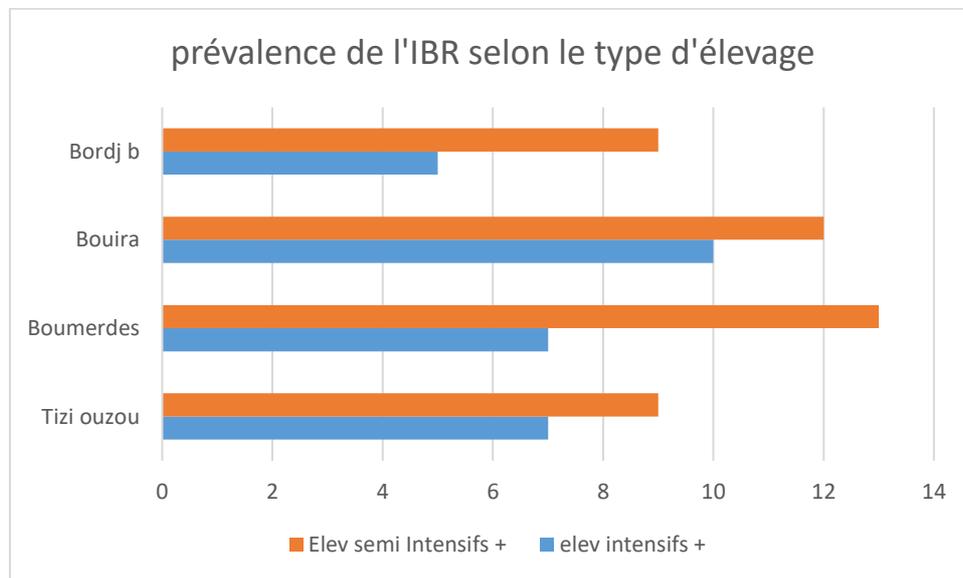


Figure (24) La séroprévalence de l'IBR selon le type d'élevage

4.4. La séroprévalence de l'IBR selon l'état d'hygiène

Tableau 09 : La séroprévalence de l'IBR selon l'état d'hygiène

Région	Nombre des elev +	Elev + hygiène -	Elev+ Hygiène(+)
Tizi ousou	16	13	3
Boumerdes	20	13	7
Bouira	22	11	11
Bordj b	14	11	3

Les résultats montrent que la séroprévalence de l'IBR est plus importante dans les élevages mâles gérés sur le plan hygiénique. On note que l'état d'hygiène est moyen dans la majorité de nos élevages.

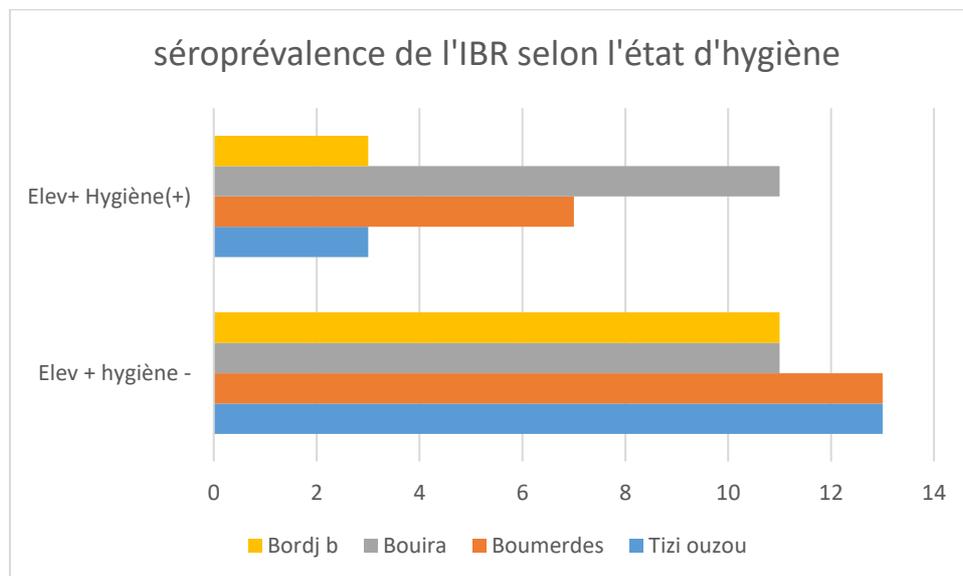


Figure (25) La séroprévalence de l'IBR selon l'état d'hygiène

4.5. La séroprévalence de l'IBR selon l'introduction des nouveaux animaux.

Tableau 010 Séroprévalence de l'IBR selon l'introduction des nouveaux animaux :

Région	Nombre des elev +	Elev+ avec into	Fré elev+ avec intro	Elve+ avec non intro
Tizi ousou	16	11	68,75%	5
Boumerdes	20	15	75,00%	5
Bouira	22	16	72,72%	6
Bordj b	14	12	85,71%	2

L'introduction des nouveaux animaux est un facteur de risque majeur pour l'IBR dans les élevages bovins, **68,75%, 75,00%, 72,72%, 85,71%**.

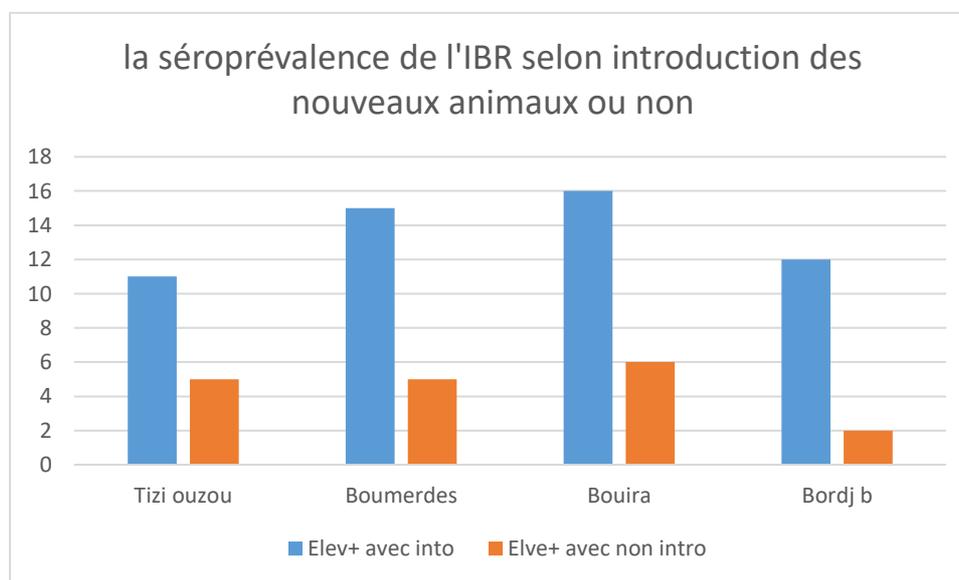


Figure (26) la séroprévalence selon l'introduction des nouveaux animaux.

4.6. La séroprévalence de l'IBR selon l'âge.

Tableau 11 : La séroprévalence de l'IBR selon l'âge.

Région	Nombre animaux +	Age (1-3)+	Fréquence (1-3) +	Age (4-6)+	Age (4-6) +	Age (7-14) +	Age (7-14) +
Tizi ousou	36	9	25,00%	14	38,88%	13	36,11%
Boumerdes	54	12	22,22%	25	46,29%	17	31,48%
Bouira	33	6	18,18%	16	48,48%	11	33,33%
Bordj b	28	6	21,42%	10	35,71%	12	42,85%

On note que la tranche âge la plus touché par la maladie de l'IBR est comprise entre 4 et 6 ans (38,88%, 46,29%, 48,48%, 35,71%).

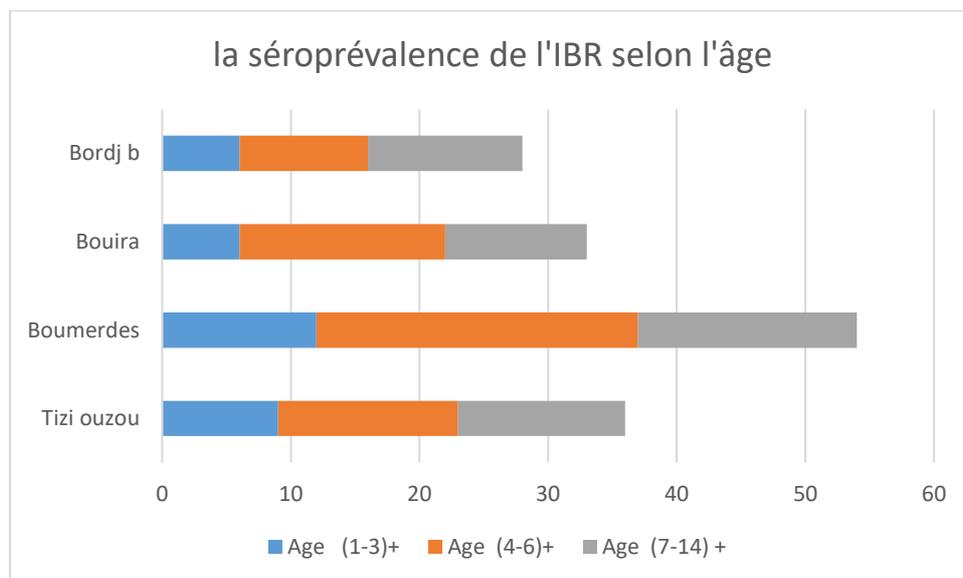


Figure (27) La séroprévalence de l'IBR selon l'âge

4.7. Séroprévalence de l'IBR selon le sexe

Tableau n°12 : La séroprévalence de l'IBR selon le sexe

Région	Nombre des vaches +	Nombre des male +
Tizi ouzou	30	6
Boumerdes	46	8
Bouira	31	2
Bordj b	26	2

On conclut que les vaches sont plus touchées par l'IBR.

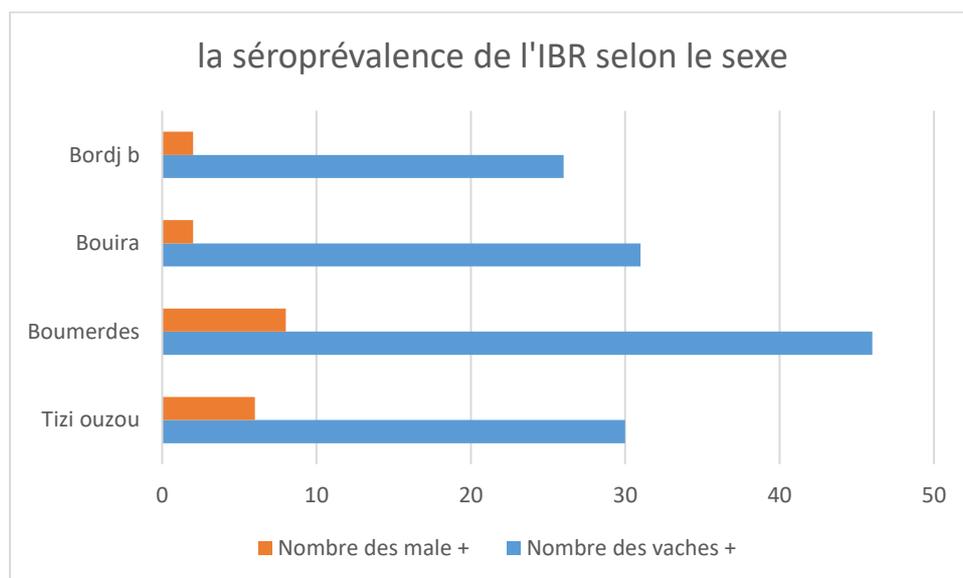


Figure (28) La séroprévalence de l'IBR selon le sexe

5. La séroneutralisation virale

Tableau 13: Résultats de la séroneutralisation virale

sérum	v2	v7	v9	v11	v14	v16	v17	v24	v44	v75	v9	v92	v99	v112
Résultats	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	- 1	+	+	+

13 séropositifs l'Elisa (gB et gE) sur 14 de étaient très positifs même à des dilution **1/8** à **1/32**. Selon nos résultats les virus BHV1 Algérien est très immunogène d'où l'intérêt de **fabriqué un vaccin et des sérums de références pour les tests diagnostic.**

COPIE CONFORME
A L'ORIGINAL

	ENREGISTREMENT LABORATOIRE DE SOPHIA ANTIPOLIS	
	Fiche de Paillasse : FDP	
	2-RUM	
	SERONEUTRALISATION IBR (IS 380 selon NF U 47 - 030)	
	Codification : ANA-E2.FDP.02.	Révision : 01
		Page 1 / 3

Décomplémentation des échantillons testés : fait le 11/04/12 ou se reporter au dossier N° :

Virus / n° lot : BOHV-1 n° 5

Cellules : Type : MDBK "n° lot : n = Concentration / ml :

Date et heure de neutralisation : 12/04/12 11:55 Epreuve de neutralisation : 4 h / 6 h (24 h)

Date et heure d'ajout des cellules : 13/04/12 à 10h10.

Titre et dilution de la suspension virale : 1/2800

Date de lecture : 16.04.12 (9h30) 17.04.12 (18h30)

Identification des échantillons :

	p 1/2 1/4 1/8 1/16 1/32						p 1/2 1/4 1/8 1/16 1/32						Titre :
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1/2 Ref46	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	A = N1 >> 48
<1 9355	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	B = N2 >> 48
	⊗	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C = N3 >> 48
	⊗	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
395 DECP50 VIRUS / 50µl	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
OK Tr	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1/3						12.4.2012						

+ = ECP ⊗ effet cytotoxique
Titre viral en DECP50/50µl
Titre sérique en DN50/50µl

Opérateur : KADOUR ABDENOUR Lecture E.D
Observations : Sous supervision E.D

Document ne pouvant être reproduit sans l'accord l'Anses laboratoire de Sophia Antipolis
Tél : 04-92-94-37-00 Fax : 04-92-94-37-01

Photo (15): résultats 1/3 de la séroneutralisation virale

COPIE CONFORME
A L'ORIGINAL

	ENREGISTREMENT LABORATOIRE DE SOPHIA ANTIPOLIS Fiche de Paillasse : FDP	
	2-RUM	
SERONEUTRALISATION IBR (IS 380 selon NF U 47 - 030)		
Codification : ANA-E2.FDP.02.	Révision : 01	Page 2 / 3

Virus / n° lot : *BoHV-1 lot n° 5*

Identification des échantillons :

*1/4 Ref46
OK TQ*

	P 1/2 1/4 1/8 1/16 1/32						P 1/2 1/4 1/8 1/16 1/32					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+
B	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
F	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
G	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N°	<i>2/3</i>						DATE					

Titre :

D = N₄ 8
 E = N₅ 32
 F = N₆ > 48
 G = N₇ > 48
 H = N₈ > 48
 I = N₉ 16

J : N₁₀ > 48
 K : N₁₁ < 1
 L : N₁₂ > 48
 M : N₁₃ > 48
 N : N₁₄ > 48

	P 1/2 1/4 1/8 1/16 1/32						P 1/2 1/4 1/8 1/16 1/32					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
B	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
C	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N°	<i>3/3</i>						DATE					

Ref46 1/2

TQ OK

+ = ECP
 Titre viral en DECP50/50µl
 Titre sérique en DN50/50µl

Opérateur : *KA + E.D.*
 Observations :

Document ne pouvant être reproduit sans l'accord l'Anses laboratoire de Sophia Antipolis
 Tél. : 04-92-94-37-00 Fax. : 04-92-94-37-01

Photo (16): résultats 2/3 de la séroneutralisation virale

	ENREGISTREMENT LABORATOIRE DE SOPHIA ANTIPOLIS Fiche de Paillasse : FDP 2-RUM	
	SERONEUTRALISATION IBR (IS 380 selon NF U 47 -- 030)	
	Codification : ANA-E2.FDP.02.	Révision : 01
	Page 3 / 3	

**COPIE CONFORME
A L'ORIGINAL**

Virus / n° lot :

Identification des échantillons :

Titre :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<input type="checkbox"/>											
B	<input type="checkbox"/>											
C	<input type="checkbox"/>											
D	<input type="checkbox"/>											
E	<input type="checkbox"/>											
F	<input type="checkbox"/>											
G	<input type="checkbox"/>											
H	<input type="checkbox"/>											
N°				DATE								

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<input type="checkbox"/>											
B	<input type="checkbox"/>											
C	<input type="checkbox"/>											
D	<input type="checkbox"/>											
E	<input type="checkbox"/>											
F	<input type="checkbox"/>											
G	<input type="checkbox"/>											
H	<input type="checkbox"/>											
N°				DATE								

+ = ECP
 Titre viral en DECP50/50µl
 Titre sérique en DN50/50µl

Opérateur :
 Observations :

Document ne pouvant être reproduit sans l'accord l'Anses laboratoire de Sophia Antipolis
 Tél. : 04-92-94-37-00 Fax. : 04-92-94-37-01

Photo (17):résultats 3/3 de la séroneutralisation virale

6. Résultats de l'analyse statistique

Tableau 14. Séroprévalence de l'IBR et les facteurs de risque associés dans les élevages (n =120 élevages).

Facteurs de risques	Nombre des élevages	Elevages positifs(+)	Fréquence Elevage + %	P
Regions	120	70	58.33%	0.01135 *
Tizi ousou	29	16	55.17%	
Boumerdes	27	20	74.07%	
Bordj Bouareredj	31	14	45.16%	
Buira	33	20	60.60%	
Type de production	120	70	58.33%	0.62028
laitiers	40	27	38,57%	
mixte	45	28	40,00%	
viande	35	15	21,43%	
Introduction des Ax	120	70	58.33%	<2e-16***
oui	58	55	78.57%	
Non	62	15	21.43%	
Type d'élevage	120	70	58.33%	0.96418
Intensif	56	30	42,86%	
Semi extensif	64	40	57,14%	
Hygiène	120	70	58.33%	0.00368**
oui	68	25	35,71%	
Non	52	45	64,29%	

Tableau 15. La séroprévalence de l'IBR et les facteurs de risques associés chez les animaux (individuel) (n =1066).

Facteur de risque	Nombre des bovins	Bovins positifs	Fréquence Positifs%	P
Regions	1066	151	14.16%	0.222928
Tizi ousou	250	36	23.84%	
Boumerdes	278	54	35.76%	
Buira	255	33	21.85%	
Bordj bouareredj	283	28	18.55%	
Type de production	1066	151	14.16%	0.556883
Laitier	488	70	46.36%	
viande	201	22	14.56%	
mixte	377	59	39.08%	
Intro de nouveaux Ax	1066	151	14.16%	0.000159 ***
oui	625	136	21.76%	
Non	441	15	03.40%	
Type d'élevage	1066	151	14.16%	0.474854
Intensif	591	70	46,35%	
Semi extensif	475	81	53,65%	
Hygiène	1066	151	14.16%	0.011846 *
oui	483	28	18,54%	
Non	583	123	81,46%	
Age (mois)	1066	151	14.16%	0.190378
6–36 mois	379	34	22,51%	
36-72 mois	345	64	42,38%	
>72 mois	342	53	35,10%	
Sexe	1066	151	14.16%	0.245372
Vaches	746	135	89,40%	
Mâle	320	16	10,60%	

Un test de dépistage primaire pour identifier les facteurs de risque significativement liés à la séropositivité BoHV-1 est réalisé à l'aide de tests R. Seuls les facteurs associés (P <0,05) à la variable de réponse ont été proposés aux modèles de régression binomiale logistique.

Pour la rhinotrachéite infectieuse bovine, un troupeau était considéré positif si au moins un animal était séropositif dans le troupeau.

Analyse des facteurs de risques associés aux maladies

Le logiciel SAS version 9.2 (Cary, N.C.) a été utilisé pour effectuer les analyses des facteurs de risques. Les calculs ont été effectués avec un intervalle de confiance de 95%. Selon nos résultats, les facteurs sont très significatifs pour **les régions, introduction des nouveaux animaux, état d'hygiène avec un P <0,05.**

DISCUSSION

L'infection à BHV-1 peut avoir des conséquences majeures dans les troupeaux laitiers et de boucherie. Les pertes sont dues aux défauts de production ; la diminution de la production de lait et de gain de poids et les épidémies d'avortements, et donc perte de sujets de remplacement. Il faut aussi ajouter les pertes dues à la réforme des animaux, à la mortalité, à cause de la forme respiratoire de la maladie, et au coût des traitements à cause des infections bactériennes secondaires. (Radostits, Done et al. 2007).

Le BoHV-1 impliqué dans le complexe des maladies respiratoires, peut induire une variété de manifestations cliniques qui peuvent varier d'une infection cliniquement apparente à une maladie sévère aiguë ou chronique [13]. Cependant, la conséquence économique la plus importante de l'infection par BoHV-1 est la perte de reproduction [14]. Les signes cliniques de BoHV-1 comprennent des symptômes de processus inflammatoires dans les organes respiratoires et génitaux et l'avortement [15].

Une maladie respiratoire est un signe clinique typique associé à l'infection à BoHV-1, mais le virus peut également être associé à une conjonctivite, une vulvovaginite, des avortements, une encéphalite et une balanoposthite. Le passage des manifestations primaires de l'infection à un stade de persistance latent est souvent la source de la propagation après la réactivation du virus (Viu et al. 2014). Une maladie systémique touchant les organes viscéraux peut se développer chez les jeunes veaux [190].

La séroprévalence à BoHV-1 :

Sur 1066 échantillons de sérum analysés, 151 sont positifs (14,16%) et dans 120 exploitations, 70 sont positifs (58,33%). Dans une étude similaire en Iran La séroprévalence de BHV-1 dans les troupeaux testés est **82,93%** et les animaux testés est **58,74%** le taux de la séroprévalence dans cette étude transversale était supérieure aux études précédemment rapportées [191]. Des études sérologiques effectuées sur des bovins laitiers de différentes régions d'Iran ont montré une infection de **22,68%** à Shiraz, de **9 à 30,39%** à Kerman, de **11 à 31,48%** à Ahvaz, de **12 à 46,68%** dans les provinces de Chaharmahal et Bakhtiari 13 à **48,9%** à Urmia [192]. Les zones climatiques et / ou les élevages de vaches laitières dans les régions à prévalence élevée sont presque similaires à ceux de la province de Hamedan [191].

Dans une autre étude au royaume uni en Angleterre à Uttarakhand, dans les premières études, Jain et al. [193] et de Nandi et al. [194] ont rapporté plus bas séroprévalences, **10,39 %** et **22,30 %**, respectivement. Dans une étude indépendante à l'aide d'ELISA, Thakur et al. [195] ont également signalé une prévalence moins

18,15 %, impliquant 200 échantillons, ce pendent une prévalence plus élevée **40,71 %** ont été enregistrées par Kollannur et al. [196].

Une étude au Mexique séroprévalence observée chez BoHV-1 **64,4%** est supérieure à celle des bovins du Yucatan **54,4%** [198] et de Michoacán, Mexique **22%** [199]. Cependant, les prévalences dans cette étude sont inférieures à celles rapportées par Córdova-Izquierdo et al, [200] **90%** dans les tropiques humides du Mexique.

En France (1997) ils ont démontré que 10 à 30% des cheptels étaient infectés par le virus BHV-1 [11]. En Europe, la situation des différents pays vis-à-vis de l'IBR est très variable. En 2007 en recensait 07 états indemne de l'IBR : **Autriche, Danemark, la Suède, la Finlande, la Norvège**, la région de **Bolzano en Italie** et hors Union Européen la **Suisse** et d'autre pays présentent une prévalence faible en moyenne de l'IBR ; Allemagne, la France, le reste de l'Italie et en fin certains états ont une prévalence élevée de l'IBR ; la Belgique et les Pays-Bas [11].

En Iran le taux de prévalence étaient de **84,00%** pour les troupeaux de vaches laitières, et de **35,00%** pour les vaches laitières en Belgique [207], de **15,00%** en Allemagne [208], **16, 80%** pour la Hongrie [209], avant le début de leurs programmes d'éradication, et de **61,00%** pour les troupeaux laitiers non vaccinés en Italie [190] . Des troupeaux non vaccinés dans le sud-ouest de l'Angleterre, la séroprévalence moyenne des animaux et des troupeaux est respectivement **42,50%** et **43,00%** [210].

Les séroprévalences de BoHV-1 dans la littérature vont de **7,5** à **70,89%** [198] ; [201];[202]; [203]; [204]; [205]; [206].

Les séroprévalences élevées trouvées dans cette étude, indiquent que les BoHV-1 sont communs dans toute la région du nord-est d'Alger. Une séroprévalence élevée de BoHV-1 a été rapportée dans d'autres régions d'Algérie [211]. Les animaux ayant des anticorps contre le BoHV-1 peuvent être infectés par voie respiratoire ou par voie reproductrice. Par conséquent, des mesures de contrôle devraient être mises en place pour éviter la contagion entre les animaux de la même région et entre d'autres régions [212].

La séroprévalence constatée dans cette étude pour BoHV-1 indique qu'il s'agit d'une infection largement répandue dans les régions. Compte tenu de la taille des troupeaux et des systèmes de gestion des troupeaux laitiers dans chaque région ou pays, toutes les études mentionnées ont signalé une prévalence modérée à élevée de l'infection. La différence dans les taux de prévalence peut être attribuée à la différence en année

d'étude, ferme/district sélectionné pour la collecte des échantillons, la variation de la taille de l'échantillon et le test d'un emploi [197].

Etudes des facteurs de risques :

Les facteurs qui interviennent dans l'apparition et la propagation de virus BoHV-1 sont très importants ainsi plusieurs études ont associé l'IBR à plusieurs facteurs de risques (Iran Mexique, Canada, Europe).

Dans 107 troupeaux non vaccinés du sud-ouest de l'Angleterre, la séroprévalence moyenne des bovins et des troupeaux a été détectée de 42,50% et 43,00%, respectivement [213]. Les différences de prévalence des anticorps entre les régions et les pays pourraient en partie être expliquées par des facteurs tels que le système de production, la taille du troupeau, les mesures de lutte contre la maladie, le type d'élevage et l'âge et sexe de l'animal, ceci est important car cela indique la permanence dans l'environnement de la maladie de l'IBR [214, 215].

La répartition des virus et l'identification des facteurs de risque sont importantes pour établir des programmes de prévention et de contrôle contre des maladies économiquement importantes telles que l'IBR [216].

Régions :

Selon nos enquêtes la prévalence de l'IBR est de **74,07%** dans les élevages de **Boumerdes**, suivi de **67,74%** à **Buira**, **55,17%** à **Tizi ouzou** et **43,33%** à **Bordj Bouareredj** ; ces résultats sont en accord avec ceux signalés dans les pays qui n'ont pas de programme de lutte contre l'infection par le BHV-1 Mexique (22%) [219, 220]. Cependant, les prévalences dans cette étude sont inférieures à celles rapportées par [221] dans les régions tropicales humides du Mexique (90%). Le BoHV-1 et le BVDV sont largement répandus au Mexique, comme l'ont indiqué des études antérieures [298, 199, 217]. Toutefois, des différences d'état peuvent exister au sein d'un même pays et entre régions [216]. Les effets des facteurs de risque peuvent également varier d'une région ou d'une ferme à l'autre en raison des changements microclimatiques, des différences de gestion, de la densité des stocks, ainsi que d'autres facteurs [218].

Des études sérologiques effectuées sur des bovins laitiers de différentes régions d'Iran ont montré une infection de 22,68% à **Shiraz**, de 9 à 30,39% à **Kerman**, de 11 à 31,48% à **Ahvaz**, de 12 à 46,68% dans les provinces de **Chaharmahal et Bakhtiari** [222] et de 48,9% à **Urmia** [192].

Des taux de prévalence beaucoup plus élevés dans différentes régions de l'Inde et du monde sont signalés par divers travaux [223, 224]. Alors que le taux de séroprévalence

plus faible est observé par Trangadia et al. [225], Das et al. [226], Singh et Sinha [227] et Singh et al. [228] dans d'autres régions de l'Inde.

Toutes les régions dont lesquelles on a effectué notre travail sont touchées par l'IBR surtout les villes côtières.

Les résultats de différentes études sur la séroprévalence de l'IBR montrent que la région est un facteur modéré qui n'influence pas directement sur la prévalence de l'IBR et cela est dû probablement à la propagation rapide et importante du virus BoHV-1 dans le monde toutes les régions peuvent être touchées, ainsi la Suisse est déclarée indemne de rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) depuis 1994 [18]. Le 22 juin 2009, un cas d'IBR a été diagnostiqué dans une exploitation bovine de production mixte dans le district de Porrentruy/JU (ferme «A»). L'infection due à l'herpès-virus bovin 1 (BoHV-1) a été découverte lors d'un examen d'IBR effectué en laboratoire, suite à un avortement dans le troupeau de vaches mères [19]. L'exploitation affectée par le virus consistait en un troupeau de vaches laitières et de veaux, un troupeau de vaches mères et d'animaux d'engrais et un groupe de génisses et comportait en tout 248 bovins. Sur les **248 animaux** détenus à la ferme, **221 ont par la suite été confirmés positifs**, lors de l'échantillonnage complet du cheptel. Dans le cadre de l'enquête épidémiologique, un deuxième foyer d'IBR a été découvert le 2 juillet 2009, dans le district de Porrentruy (ferme «B»). Il s'agissait d'une exploitation de vaches laitières, de laquelle un veau avait été vendu à la ferme «A» en mars 2009. Ce deuxième troupeau touché par la maladie comportait **68 bovins**, parmi lesquelles **11 vaches et 8 veaux identifiés positifs à l'IBR**. Le 8 juillet 2009, un troisième cas de rhinotrachéite infectieuse bovine a été identifié dans une exploitation d'engraissement neuchâteloise, dans le district du Val-de-Ruz (ferme «C»). Dans ce troisième et dernier cas, il s'agissait **d'un veau positif solitaire**, provenant de l'exploitation «B». Chez les 80 bovins détenus dans cette ferme, aucune contagion entre les animaux n'a été observée.

La Suisse, comme certains autres pays européens, a réussi à éradiquer cette épizootie durant les années 1980 et possède donc le statut « indemne d'IBR » [18, 120].

Le taux d'attaque (= nombre de bovins infectés par le virus / nombre de bovins susceptibles d'attraper la maladie) dans l'exploitation «A» s'élève à 0.89 (221/248), signifiant que ~ 90 % du cheptel ont été infectés par l'herpèsvirus bovin 1 et étaient donc positifs à l'IBR. Le taux d'attaque d'IBR dans l'exploitation «B» s'élève à 0.28 (19/68), signifiant que 28 % du cheptel avaient été infectés par l'herpèsvirus bovin 1.

Le taux d'attaque d'IBR dans la ferme «C» est de 0, vu qu'aucune contagion avec le virus n'a été observée chez les bovins détenus dans cette exploitation.

Cette variabilité de propagation et l'attaque des nouvelles régions indemnes par le virus BoHV-1 compliquent d'avantage les moyens de lutte et confirment la menace permanente de BoHV-1.

BoHV-1 est un produit diffusé dans le monde entier, un pathogène présentant des différences significatives dans l'incidence et la prévalence régionales avec en ce qui concerne les positions géographiques [230].

La séroprévalence constatée dans cette étude pour BoHV-1 indique qu'il s'agit d'une infection largement répandue dans la région.

Ceci est important car il indique la permanence dans l'environnement des pays la maladie de l'IBR) [229, 230]. L'infection par l'IBR pourrait être contrôlée dans la région en interdisant l'introduction d'animaux infectés de manière persistante à partir de troupeaux infectés. Par conséquent, il est important de disposer d'informations sur l'épidémiologie de BoHV-1 si des programmes de prévention et de contrôle adaptés sont nécessaires pour des régions spécifiques [216].

Cependant, il est nécessaire d'étudier en détail les autres facteurs tels que la migration des animaux, les pratiques d'élevage et les conditions climatiques et leur effet sur la propagation du virus.

Type de production :

Selon nos résultats, la séroprévalence de l'IBR à **Boumerdes, Tizi ouzou, Bordj Bouareredj** sont plus importantes dans les élevages mixtes (**43,75%, 40,00%, 42,86%**) puis les élevages laitiers (**42,86%, 35,00%, 35,71%**) et enfin les élevages de production de viande (**25,00%, 25,00%, 21,42%**). Ce pendent, dans la wilaya de Buiria il n'y a pas de déférence significative (**31,82%, 36,36%, 31,82%**). La rhino trachéite infectieuse bovine (IBR) est présente dans tous les élevages bien que la prévalence et l'incidence soit variable [231].

En France en tenant compte de l'orientation zootechnique des ateliers, les taux de prévalence au niveau national étaient au 31 mai 2009 de **4,2%** en atelier laitier (de 0,03 % à 70% selon le département, et de **13,6 %** en atelier allaitant (de 0,11 % à 85,8 % selon le département) [14].

Il existait une différence dans la séroprévalence du troupeau BoHV-1 entre les troupeaux laitiers et viande (67,50% vs 42,85% respectivement et dans le troupeau mixte (62,22%) mais ($p \geq 0,05$) insignifiante.

La séroprévalence du troupeau BHV-1 n'est pas significative entre les troupeaux laitiers et viandes [52].

Contrairement à notre observation [232], il existe une différence significative de séroprévalence boHV-1 au niveau des élevages entre les troupeaux laitiers et viandes (74,7% vs 86,5% respectivement ; $p < 0,02$).

Selon une enquête en Suisse [15] ; le taux de séroprévalence dans l'exploitation «A» qui une ferme de production mixte s'élève à 0.89 (221/248), signifiant que ~ 90 % du cheptel ont été infectés par l'herpèsvirus bovin 1 et étaient donc positifs à l'IBR.

Le taux d'attaque d'IBR dans l'exploitation « B » qui une ferme de production laitière s'élève à 0.28 (19/68), signifiant que 28 % du cheptel avaient été infectés par l'herpèsvirus bovin 1. Le taux de séroprévalence de l'IBR dans la ferme de production de viande «C» est de 0, vu qu'aucune contagion avec le virus n'a été observée chez les bovins détenus dans cette exploitation.

Au Canada des facteurs de risques étaient associés à la présence de l'IBR dans les troupeaux laitiers conventionnels ([234], [235], [236], [237],

Type d'élevage :

Les résultats montrent que l'élevages semi intensif est l'élevage le plus atteint par le virus de l'IBR (**62.50%**) que les élevages intensifs (**53.57%**). Cependant l'exposition des bovins en élevage intensif à l'IBR menant à des troubles respiratoires [238]. De plus, la production intensive pourrait rendre les animaux à risque à des maladies infectieuses (Collard, Boettcher et al. 2000).

Semblables à nos observations sur le mode de l'élevage, une plus grande prévalence de l'IBR est observée chez les buffles que les bovins sachant que le mode d'élevages des buffles est semi-intensif en Inde. Dans Uttarakhand, Thakur et al. [195] ont également signalé une prévalence moins élevée chez les bovins (17,44 %) que des buffles (25,00 %) en semi intensif. L'observation de cette étude a également approuvé les rapports de Renukaradhya et al. [239] qui a également observé la séropositivité inférieure chez les bovins (50,9 %) que des buffles (52,5 %) de l'Inde. De même, le taux de prévalence plus faible BHV-1 anticorps chez les bovins à l'égard de buffles a été rapporté par Krishnamoorthy et al. [228], Nandi et al. [241], et Trangadia et al. [242] en Inde.

Ce pendant, Dwivedi [243] et Jain et al. [193] dans des études indépendantes ont signalé une prévalence plus importante chez les bovins intensifs (11,27 % et 10,75 %, respectivement) par rapport à des buffles en semi intensif (10,61% et 8,89%, respectivement) en Uttarakhand. Jain et al. [244] dans l'état du Gujarat ; Sharma et al. [245]. Dans l'Uttar Pradesh. Verma et al. [246] ont également signalé un plus grand taux de prévalence en population du bétail de buffles en semi intensif.

La forme respiratoire de forte prévalence est due à l'introduction fréquente de bovins de diverses régions du pays et à des pratiques de gestion intensive du bétail [247.130].

Hygiène :

Nos résultats montrent que la séroprévalence de l'IBR est plus importante dans les élevages mal gérés sur le plan hygiénique (**86.53%**) que les élevages avec des bonnes conditions d'hygiène (**36.76%**), d'après les tests statistiques l'hygiène est un facteur de risque très significatif et elle est majeure, en général l'hygiène était mauvaise dans les quatre wilayas, bien qu'un suivi sanitaire correcte ; vaccination et dépistage est assuré par nos vétérinaires privés et étatiques. Ainsi que, des problèmes de la reproduction sont signalés dans tous les élevages. Le virus peut causer entre autre, des pertes économiques importantes souvent sous-estimées [248].

Similaire à notre observation Rajesh et al. [249] dans le Kerala a également signalé une plus grande prévalence dans les troupeaux non organisés avec manque d'hygiène (18,75 %) que les troupeaux (13,13 % organisée). Contrairement à nos résultats Singh Yadav [250] a observé significativement plus faible prévalence dans les troupeaux non organisés (13,2 %) par rapport aux troupeaux organisés (43,3 %) avec une note globale de 32,31 % de séropositivité. Singh et al. [228] a également comparé la séroprévalence entre troupeaux organisés et non organisés sur le plan hygiénique il a constaté que ces derniers ont une prévalence plus élevée, Ganguly et al. [240] et Sathiyabama et al. [251] a également rapporté une plus grande prévalence dans les troupeaux laitiers non organisés qu'organisé.

La séroprévalence est plus élevée dans les exploitations non organisées, le manque d'hygiène 86,53% par rapport aux exploitations organisées avec une bonne hygiène de 36,76%. Considérant la taille du troupeau et les systèmes de gestion des troupeaux laitiers comme indicateur d'hygiène [149]. Taille du troupeau, mesures de lutte contre la maladie, type de reproduction, ceci est important car cela indique la permanence dans l'environnement de l'IBR [252, 253]. La prévalence plus élevée des troubles de la

reproduction est probablement due à saie naturelle des taureaux infectés et à l'insémination artificielle avec du sperme infecté [125, 126, 127].

Les animaux introduits et non introduits :

L'introduction des nouveaux animaux est un facteur de risque majeur et très significatif pour l'IBR selon notre étude, **78.57%** des élevages positifs à l'IBR ont introduits des nouveaux animaux seulement **21,43%** des élevages positifs n'ont pas introduits des nouveaux animaux.

Par suite de l'accomplissement de notre recherche nos cheptels ont été atteints par l'IBR avec ou sans introduction des animaux. Toutefois, contrôler les déplacements des animaux, est une bonne méthode de prévention pour permettre d'éliminer la possibilité d'introduction de BHV-1 à l'intérieur d'un troupeau susceptible [254].

D'après [255] un facteur de risque important pour l'état de santé d'un troupeau est l'achat d'animaux, parce que ceux-ci peuvent excréter le pathogène ou être des porteurs latents et infecter les autres bêtes.

L'absence de différences dans la séroprévalence de BoHV-1 entre les animaux introduits ou non introduits dans le troupeau est en accord avec les résultats de Solis-Calderon et al. [198]. Cependant, l'introduction ou non d'animaux était un facteur de risque important du VDBB (OR = 6,21), ce qui suggère l'achat d'animaux infectés de manière persistante. Solis-Calderon et al. [256] ont rapporté que l'achat de vaches (introduction d'animaux dans le troupeau) dans de petits troupeaux augmentait la prévalence et le risque d'infection par l'IBR par rapport aux troupeaux de taille moyenne et grande. Mainar-Jaime et al. [230] chez des vaches laitières en Espagne ont montré que la séroprévalence des vaches achetées était beaucoup plus élevée que celle des vaches dont l'origine était la ferme. Cependant, les animaux séropositifs ne constituent pas le principal risque d'infection par l'IBR, mais aussi la présence d'animaux infectés de façon persistante (séronégatifs) dans le troupeau.

En considérant que les plus grands troupeaux seraient plus susceptibles d'acheter de nouveaux animaux, on pourrait supposer que la plus grande séroprévalence des plus grands troupeaux serait liée aux achats de plus d'animaux infectés [257].

Gonzalez-Garcia et al. [258] ont indiqué le manque d'infrastructures spécifiques pour le bétail et les croisements de bœuf comme facteurs de risque importants associés à l'infection par le BHV-1 en Espagne.

De même, Ganguly et al. [259] et Sathiyabama et al. [60] ont également signalé une prévalence plus élevée dans les troupeaux laitiers non organisés qu'organisés. La raison possible d'une prévalence plus élevée dans les troupeaux laitiers non organisés pourrait être due à la pratique de l'élevage naturel avec des taureaux dont l'état pathologique n'est pas connu. L'élevage naturel avec des taureaux sans connaître leur statut pathologique pourrait être responsable de la propagation rapide de la maladie comme l'ont également estimé Romero-Salas et al. [261].

Contact direct avec les animaux, comme l'achat de bétail et la participation dans les expositions bovines se sont également avérés importants facteurs de risque pour l'introduction de BoHV-1 [262-263].

Une explication à cette observation est que, les bovins qui s'échappent de leur troupeau et se mélangent avec les bovins d'un autre troupeau sont un risque d'introduire le BHV-1 au sein d'un troupeau [236, 273].

Age :

On note que la tranche âge la plus touché par la maladie de l'IBR est comprise entre 3 et 6 ans **42,38%** plus de 6 ans **35,10%** et en fin moins de 3 ans **22,51%**.

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

Sur la base d'enquêtes sérologiques, plusieurs des études ont visé à identifier les facteurs de risque de séropositivité pour le BoHV-1 séropositivité. Certains d'entre eux sont bien caractérisés tels que l'âge, sexe les males sont plus fréquemment positifs que les femelles [264, 265].

D'après [266] tous les groupes d'âge d'un troupeau peuvent être atteints. Cependant, les cas de morbidité et les cas fatals sont plus importants en période néonatales et pour les nourrissons que chez les adultes [267]. L'IBR a une distribution mondiale est près de 50% des cheptels de bovins adultes ont déjà été en contact avec cette maladie [261].

La prévalence de l'infection IBR en fonction de l'âge indique qu'il y a une tendance à la hausse dans la survenue de l'infection IBR à mesure que l'âge avance, et la prévalence est faible chez les jeunes animaux [269, 270, 271]. Dans la présente étude, il est révélé que la prévalence de l'IBR chez les animaux de plus de 3 ans est supérieure à celle des groupes d'âge inférieurs. Le groupe d'âge est un facteur de

risque fréquemment rapporter de séropositivité au BoHV-1. [80.58.84.272] et [81] ont rapporté une séoprévalence plus élevée chez les animaux âgés.

Toutes les races de bovins à tout âge sont sensibles, mais la maladie survient le plus souvent chez les animaux de plus de 6 mois, probablement en raison de leur plus grande exposition (exsudat nasal et gouttelettes crachées, sécrétions génitales, sperme, liquides et tissus foetaux, etc..) à l'agent infectieux et perte de l'immunité maternelle [86]. Il existe une relation positive entre l'âge et la proportion de vaches séropositives dans la présente étude. Des résultats similaires sont également rapportés par Boelaert et al [273], et Solis-Calderon et al [274]. La vaccination contre le BHV-1 n'étant pas pratiquée dans les troupeaux laitiers testés, la séropositivité est probablement due à leur exposition naturellement plus élevée au virus. Ce fait est clairement démontré par une différence significative entre le groupe âge (6 à 36 mois) et les autres groupes d'âge.

Les anticorps contre le BHV-1 persistent tout au long de la vie de l'animal après une infection naturelle [87]. De plus, les animaux plus âgés sont plus susceptibles d'être exposés à des sources naturelles d'infection. Badieli et al [88] n'ont pas trouvé de différence dans le nombre de vaches séropositives entre les groupes d'âge [54]. Ils ont expliqué que leurs découvertes inattendues pourraient être dues à des différences dans la taille du troupeau, les systèmes d'élevage des vaches et les conditions d'élevage des animaux. Les vaches sérologiquement positives, porteuses latentes, jouent un rôle clé dans la réservation et la transmission du BHV-1 aux animaux sensibles [275]. En accord avec Boelaert et al [273] et Solis-Calderon et al [81], un taux de prévalence supérieur à 38,00% peut indiquer la circulation naturelle du BHV-1 chez les animaux. De plus, les plus grands troupeaux et les animaux plus âgés ont la plus forte séropositivité. Cela peut montrer un nombre élevé de porteurs de BHV-1 dans ces troupeaux. La méthode d'isolement et d'abattage des animaux séropositifs basée sur les programmes danois et suédois de lutte contre l'IBR est inefficace pour l'éradication de l'infection dans les pays ayant de grands troupeaux ou une séoprévalence élevée du BHV-1.

Le sexe :

Selon nos résultats **89,40%** des séropositifs **sont** des es vaches, elles sont plus atteintes que les mâles **10,60%** cela est dû probablement à leur durée de production qui peut s'étaler jusqu'à 14 ans alors que les males sont abattus à 2 à 3 ans. Ce facteur n'est pas significatif cela est dû à l'échantillon, ainsi on a prélevé plus de

vaches (746) que des mâles (320). Une étude effectuée en Belgique a montré que les taureaux de troupeaux laitiers et de boucherie étaient plus à risque d'être séropositifs à BHV-1 que les vaches [273].

Les observations de notre étude dans le contexte de la prévalence sont en accord avec l'étude de Thakur et al. [276] qui ont aussi observé une prévalence plus élevée chez les vaches (19,02 %) que les mâles (16,22 %) en Uttarakhand. De même, dans une étude antérieure, Jain et al. [277] En Uttarakhand ont également signalé la plus grande prévalence d'anticorps anti-BHV-1 chez les vaches (12,35 %) que chez les mâles (5,80 %), et de même au niveau de l'espèce pour les bovins et buffles. Saravanajayam et al. [278] a également observé la prévalence plus élevée de l'IBR chez des vaches (67,92 %) que chez les mâles (33,33 %).

Ainsi, Russell et al. [279] ; Krishnamoorthy et al. [224] dans le sud de l'Inde ; Singh et Sinha [227] dans le Bihar et Sharma et al. [245] Dans l'Uttar Pradesh ont également signalés une plus grande prévalence chez les vaches que chez les mâles. La raison possible de la séropositivité chez les femelles plus élevée pourrait être due à l'utilisation de sperme infecté pour l'insémination [273].

La forte prévalence chez les femelles pourrait être attribuée à l'utilisation de taureaux infectés pour les saillies naturelles et de sperme infecté pour l'insémination artificielle [280, 281,61].

Contrairement à notre observation, Verma et al. [246] a observé plusieurs mâles se sont révélées séropositives que les femelles dans une étude dans l'Uttar Pradesh. La séroprévalence de l'IBR est plus élevée chez les adultes et chez les mâles ; [236,256].

Test de l'ELISA :

Selon notre travail, la réaction positive est observée à partir **151** des sérums sur **1067** prélèvements pour toutes analyses ELISA indirect, compétition gB et gE ce qui permet de les distinguer des vaccinés. Ainsi plusieurs méthodes peuvent être mise en place pour prévenir les infections des animaux par la Rhino trachéite Infectieuse Bovine (IBR). Le laboratoire Européen de référence de l'IBR de l'ANSES à Sophia Antipolis Nice en France utilise pour ELISA indirect gB et gE le kit IDEXX Laboratories Inc., Westbrook; Maine 04092 USA), ainsi tous nous analyse sont effectué avec la même marque IDEXX.

En Iran une étude similaire a utilisé les anticorps spécifiques du BHV-1, dans les échantillons de sérum ont été détectés à l'aide du kit de test ELISA pour anticorps anti-gE du virus de la rhinotrachéite bovine (BHV-1) (HerdCheck® IDEXX Laboratories, Inc., Pays-Bas) conformément aux instructions du fabricant.

Au Mexique en 2011, les échantillons de sang ont été testés pour les anticorps anti-BoHV-1 et BVDV en utilisant les kits ELISA HerdCheck IBRgB Ab et HerdCheck BVDV p80 Ab (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook; Maine 04092 USA). Les tests ont été effectués conformément aux instructions du fabricant.

Plusieurs tests ELISA sont utilisés pour détecter les anticorps contre le BHV-1 à partir de sérum d'animaux avec des signes cliniques de la maladie, ou de lait de réservoir. Les tests ELISA sont spécifiques, sensibles et pratiques pour la détection des anticorps contre BHV-1 [282]. Les animaux avec une infection en latence peuvent avoir des résultats négatifs avec ces tests [283]. Si les anticorps contre le BHV-1 sont détectés dans le lait de réservoir, il est très probable que plus d'un animal dans le troupeau est infecté et que l'infection est répandue dans le troupeau [284]. Le test du lait de réservoir pour les anticorps de BHV-1 peut être utile au programme de surveillance et d'éradication car c'est un dépistage rapide et peu coûteux, mais il est moins spécifique par rapport au test de séroneutralisation [285].

Différentes techniques sont utilisées pour mettre en évidence une infection au BHV-1. La confirmation du virus et/ou de l'antigène est possible par des méthodes conventionnelles telles que la culture de cellules, l'immunofluorescence, l'analyse d'immunoperoxydase et l'ELISA [286].

Les nouveaux vaccins sont marqués (vaccin contenant des virus n'exprimant pas la glycoprotéine gE) ce qui permet de les distinguer facilement [287]. De plus, les animaux ayant été vaccinés démontrent un taux plus élevé des anticorps que ceux ayant reçu aucune immunité et ce pour un nombre similaire de jours suivant l'infection [288].

La séroneutralisation virale :

D'après notre étude les anticorps produits par les animaux étaient due à une infection du virus, pas à un vaccin sachant qu'en Algérie on ne pratique aucun vaccin contre l'IBR et elle est considérée comme un pays indemne de l'IBR. Les séroneutralisation virales étaient très positives (13 séropositifs sur 14 de l'ELISA) avec des dilutions **1/8 à 1/48. Nos résultats sont très encourageant car ils montrent que le virus Algérien est très immunogène, ce que nous ouvre des nouveaux horizons pour un éventuel vaccin, et pour des sérums Algériens de références ajustés.**

D'après [286] la confirmation du virus et/ou de l'antigène est possible par des méthodes conventionnelles telles que la culture de cellule (séroneutralisation virale).

Le test de séroneutralisation est utilisé pour le diagnostic de l'infection à BHV-1. La présence d'anticorps contre BHV-1 peut être détectée par SN sur des cultures de

cellules de rein ou de testicule de bovin [289] à partir de sérum d'animaux infectés, avec des signes cliniques de la maladie. L'absence d'effets cytopathiques du virus sur les cultures de cellules montre la présence d'anticorps contre BHV-1 dans les échantillons [290]

L'utilisation de la microscopie électronique pour identifier les particules virales dans des échantillons de différents organes d'animaux infectés est une méthode rapide pour le diagnostic de l'infection à BHV-1. L'utilisation de cette technique a des limites, vu le coût de l'équipement [291].

Donc, une prise de sang peut être effectuée pour mettre en évidence les anticorps et une technique d'immunofluorescence sur des coupes d'organes peut aussi être effectuée sur un cadavre [287]. La recherche d'anticorps se fait au niveau d'échantillon de sérum, mais peut aussi se faire à l'aide d'un échantillon de lait [292].

Isolement de virus :

La réactivation virale (la technique) :

Nous avons réalisé la réactivation sur cinq vaches séropositives avec des injections de 0,1 mg/kg/jour pendant 5 jours associés à une antibiothérapie préventive Oxytétracycline et ampicilline. On a prélevé ensuite du mucus nasal et vaginal avec 2 écouvillons/ vache/ jour, de J5 à J10 avec un total de 12 écouvillons pour chaque vache et on a prélevé du sang 3 tubes de 10ml/vache/ jour à J1, J2, J3, J4, J5. La recherche du virus se fait ensuite par isolement sur culture cellulaire et PCR.

L'injection de Dexaméthasone a un effet rapide sur les interactions virus/neurones, elle induit des changements dans le ganglion trigéminé, La dose permettant la réactivation virale est de 0,1 mg/kg/jour en IV pendant 5 jours [186].

En suisse 2009 une enquête sur deux vaches positives à l'IBR provenant de l'exploitation «A» ont été transférées à l'Institut de virologie et d'immunoprophylaxie (IVI) pour un essai de réactivation du virus. A cette fin, 0.1 mg par kg de poids corporel de Dexaméthasone (Voren Depot, Boehringer Ingelheim GmbH, Basel) ont été injecté i. v. aux bovins pendant 5 jours successifs. Les deux bovins ont excrété le virus dans leur sécrétion nasale à partir du 5ème, respectivement du 6ème jour suivant le début du traitement. Les virus isolés sur culture de cellules MDBK (NBL-1, ATCC No. CCL 22) ont été identifiés comme BoHV-1 à l'aide d'une real-time PCR spécifique au BoHV-1 [293].

Le virus de l'IBR peut être isolé sur des cultures de cellules de reins, de poumons ou de testicules de bovins. Le virus peut être isolé à partir d'écouvillons nasaux ou vaginaux, de placentas, de foie, des poumons, des reins, des muqueuses d'animaux infectés [289]. et d'échantillon de semence [291]. La présence du virus est identifiée par les effets cytopathiques caractéristiques qui apparaissent 3 jours après l'inoculation [291].

Ce mode de vie exige que le virus soit transmis du site de l'infection initiale au site de latence, par exemple des cellules épithéliales aux cellules neuronales (dans le cas des alphaherpèsvirus). De plus, la propagation réussie dans l'hôte infecté est probablement liée à la capacité d'infecter d'autres types de cellules et d'exploiter toutes les voies de communication cellulaire [294].

Cependant, à l'instar d'autres virus enveloppés, les virus de l'herpès peuvent également se transmettre par transmission directe de cellule infectée de cellule infectée à non infectée sans être libérés dans l'environnement extracellulaire. Cette voie permet d'éviter les obstacles à la liaison du récepteur en plusieurs étapes et aide à protéger les virus de la réponse immunitaire de l'hôte [295].

Nous avons observé le transfert de composants cellulaires, notamment de mitochondries et de protéines virales, d'une cellule à l'autre, ce qui concorde avec le rôle bien documenté des TNT dans l'échange de cargaisons variées entre des cellules physiquement séparées [296].

Les inclusions virales intranucléaires de Cowdry peuvent être observées à partir du cerveau des animaux atteints de la forme encéphalique de la maladie, ou du vagin d'animaux infectés. L'utilisation de cette méthode est limitée pour le diagnostic de la maladie puisque ces inclusions sont transitoires [291, 297].

On pense que BoHV-1 pénètre les terminaisons des nerfs sensitifs distribué dans l'épithélium infecté [298]. Il est ensuite transporté le long des microtubules des axones pour atteindre le neurone corps dans le ganglion nerveux. Bien que le site principal de latence soit les neurones ganglionnaires, il est prouvé que la latence et la réactivation se produisent dans les centres germinatifs des amygdales pharyngées [298].

Etude statistique :

Des statistiques descriptives sont utilisées pour calculer la fréquence des animaux séropositifs pour les anticorps contre le BoHV-1. Un test de dépistage primaire pour identifier les facteurs de risque significativement liés à la séropositivité BoHV-1 est réalisé à l'aide de tests R. Seuls les facteurs associés ($P < 0,05$) à la variable de réponse ont été proposés aux modèles de régression binomiale logistique.

Pour la rhinotrachéite infectieuse bovine, un troupeau était considéré positif si au moins un animal était séropositif dans le troupeau.

Analyse des facteurs de risques associés aux maladies :

Le logiciel SAS version 9.2 (Cary, N.C.) a été utilisé pour effectuer les analyses des facteurs de risques. Les calculs ont été effectués avec un intervalle de confiance de 95%.

Sept variables ; la région, le sexe, l'âge, type de production, type d'élevage, état d'hygiène, introduction des nouveaux animaux ont été analysées dans cette étude.

Ces variables ont été choisies parmi les autres car nous pensions qu'elles pourraient refléter plus les caractéristiques biologiques de virus BHV1.

Un modèle de régression logistique mixte a été utilisé pour étudier les effets de chacune des sept variables, avec l'élevage et l'animal comme effet aléatoire et chacune des sept variables comme facteur fixe, pour tenir compte de la non-indépendance des données à l'intérieur du même troupeau.

La variable a un effet statistiquement significatif sur la séroprévalence de troupeau de chacune des maladies si $p < 0.05$.

L'introduction des nouveaux animaux et hygiène et la région sont des facteurs de risque majeurs et très significatifs pour l'IBR.

Facteur sexe, âge, type de production et système d'élevage ne sont pas significatif cela est dû à l'échantillon, ainsi on a prélevé plus de vaches (746) que des males (320) et la complexité de les différencier.

Études transversales :

Les études transversales font partie des études observationnelles, et ont pour but de mesurer la prévalence, mais aussi d'autres facteurs, comme les facteurs de risques associés aux maladies, surtout celles à forte prévalence. Comme dans notre étude,

l'échantillonnage aléatoire des sujets est essentiel [298]. Cependant vu que les études transversales mesurent surtout la prévalence, d'une maladie, **il est difficile de différencier les facteurs qui favorisent la persistance de la maladie des facteurs qui favorisent le développement de la maladie**. Il est ainsi impossible de différencier la cause de l'effet. Comme dans notre étude la corrélation entre le statut de IBR et les facteurs de risques ne permet pas de savoir lequel de ces sept facteurs est la cause ou l'effet de l'autre (effet entre facteurs), Toutefois ce type d'étude a ses avantages par rapport aux autres. Elle est plus facile à effectuer, que ce soit pour les participants que pour les chercheurs, et demande peu de temps. Comme dans notre étude chaque troupeau est visité une seule fois et les échantillons et les informations sont pris lors de ces visites. Elle est moins coûteuse aussi par rapport aux autres types d'études dont la collecte des données peut s'étaler sur une longue période. Cette étude m'a permis de voir la réalité et les caractéristiques des élevages dans plusieurs régions. Chaque élevage est assez distinct de l'élevage conventionnel de par ces normes et ses spécificités. Cette étude m'a aussi permis de réaliser les défis, auxquels il faut s'attendre : refus ou acceptation des éleveurs à participer à l'étude, le choix des tests au laboratoire en fonction des objectifs et des ressources disponibles et les pertes de données qui peuvent se produire tout au long l'étude. Même si notre étude ne permettait pas d'identifier tous les facteurs de risques de cette maladie l'IBR dans les troupeaux, les résultats que nous avons obtenus peuvent être un point de départ pour des futures études.

CONCLUSION GENERALE

Notre recherche a abouti à une détection de la spéculation de *l'Herpesvirus bovin type 1* en Algérie, sans toutes fois prouver sa présence dans le cheptel bovin algérien,

Selon nos recherches bibliographiques cette étude est une première en Algérie, avec un échantillon de 1067 bovins et 120 fermes dans quatre régions différentes. Les études transversales font partie des études observationnelles, et ont pour but de mesurer la prévalence, mais aussi d'autres facteurs, comme les facteurs de risques associés, Il est ainsi impossible de différencier la cause de l'effet. Comme dans notre étude la corrélation entre le statut de IBR et les facteurs de risques est très **significative pour la région, l'introduction des nouveaux animaux, état de l'hygiène avec un $P \leq 0,05$** .

Cette étude a ses avantages par rapport aux autres. Elle est plus facile à effectuer, que ce soit pour les participants que pour les chercheurs, et demande peu de temps. Comme dans notre étude chaque troupeau est visité une seule fois et les échantillons et les informations sont pris lors de ces visites.

En conclusion, cette étude confirme la forte séroprévalence du BoHV-1. Le fait que les animaux ne soient pas vaccinés et que toutes les tranches d'âge aient une séroprévalence élevée indique que le BoHV-1 circule naturellement dans cette population et la région, l'IBR pratiquement a touché toutes les tranches d'âges des bovins, elle touche toutes les types de productions et les deux systèmes d'élevage intensif et semi intensifs.

Le sexe ne s'avère pas un facteur de risque important il n'est pas significatif, les deux sexes sont sensibles à l'IBR.

Nos résultats montrent que le virus Algérien est très immunogène avec une NC 1/8 à **1/48** une propriété biologique très recherché en virologie.

Ce travail nous a permis de maîtriser la technique de récolter et de conserver des ganglions trijumeaux de deux vaches séropositives, auxquelles nous avons effectué une réactivation du virus, une première en Algérie, ce que nous permettra INCHAALAH d'identifier le virus Algérien qui circule dans ces régions et d'établir son profil génétique.

En fin ces résultats montrent qu'il est nécessaire de suggérer un programme de contrôle intensif pour réduire les taux d'infection par le BHV-1. Sur la base des

résultats actuels, nous recommandons l'utilisation d'un vaccin marqueur et la différenciation sérologique des vaches naturellement infectées des animaux vaccinés pour l'éradication de l'IBR / IPV. Des mesures de biosécurité planifiées sont nécessaires pour contrôler le risque épidémiologique d'infection dû à la présence de porteurs latents de BHV-1.

PERSPECTIVES

Les résultats obtenus dans nos enquêtes de la séroprévalence sont très encourageants. Pour proposer un plan de lutte contre l'IBR en Algérie d'autres enquêtes plus larges et nationales doivent être enclenchées, et nous souhaitons de poursuivre ce travail pour proposer un système de surveillance efficace.

Nos résultats sont très satisfaisants surtout pour la séroneutralisation virale, mêmes à des dilutions 1/48 on arrive à des agglutinations une première au Laboratoire de Référence Européen et en Algérie, ce qui très recherché en virologie surtout pour la vaccination.

Identifier le virus algérien génétiquement est possible puisque on a les ganglions trijumeaux congelés, et faire sortir le profile génétiques des protéines de ce virus, alors l'identification de la protéine responsable de pouvoir immunogène sera étudiée pour des éventuels sérums de références (ajustement de sérums) ce qui nous permettra de créer des kits Elisa et séroneutralisation virale très performants avec des sérums de naturellement de qualité.

En fin un vaccin avec nos collègues et nos partenaires français sera aussi envisageable, surtout que le pouvoir immunogène de virus européen est très réduit voir absent au fil de temps.

REFERENCES :

1. **BOSCO COWLEY D.J, CLEGG T.A, DOHERTY M.L, MORE S.J.** Aspects of bovine herpesvirus-1 infection in dairy and beef herds in Republic of Ireland. *Acta Vet. Scand.* 2011;53:40. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
2. **GOULD S, COOPER V, REICHARDT N, O'CONNOR A.** An evaluation of the prevalence of bovine herpesvirus 1 abortions based on diagnostic submissions to five U.S. based veterinary diagnostic laboratories. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2013;25:243–247. [[PubMed](#)]
3. **KING A.M.Q, ADAMS M.J, CARSTENS E.B, LEFKOWITZ E.J.** *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses:Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* San Diego, CA: Elsevier/Academic Press; 2012. p. 1010.
4. **NEWCOMER B.W, GIVENS D.** Diagnosis and control of viral diseases of reproductive importance:Infectious Bovine Rhinotracheitis and Bovine Viral Diarrhea. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2016;34:425–441. [[PubMed](#)]
5. **VIU M.A, DIAS L.R.O, LOPES D.T, VIU A.F.M, FERRAZ H.T.** Infectious bovine rhinotracheitis:review. *Pub.Vet.* 2014;8(4)
6. **XUE W, MATTICK D, SMITH L.** Protection from persistent infection with a bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 1b strain by a modified-live vaccine containing BVDV types 1a and 2, infectious bovine rhinotracheitis virus, parainfluenza 3 virus and bovine respiratory syncytial virus. *Vaccine.* 2011;29:4657–4662. [[PubMed](#)]
7. **ALMEIDA L.L, MIRANDA I.C.S, HEIN E.E, NETO S.W, COSTA E.F, MARKS F.S, RODENBUSH C.R, CANAL C.W, CORBELLINI L.G.** Herd-level risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds from southern Brazil. *Res. Vet. Sci.* 2013;95:901–902. [[PubMed](#)]
8. **DECHICHA, AMINA SAMIA** et al Seroprevalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida 2003 in thèse Magister université de Blida1 institut vétérinaire.
9. **BIELANSKI A., NADIN-DAVIS S., SAPP T., LUTZE-WALLACE C.** Viral contamination of embryos cryopreserved in liquid nitrogen. *Cryobiology*, 2000,**40**(2), 110-116.
10. **GARDEAU f m h, BENARD G** recherche du virus de HBoV1 dans les ganglions trijumeaux des bovins dans le cadre de la gestion nationale de l'IBR thèse 03/ TOU 34107 Docteur école vétérinaire de Toulouse 2007.

- 11. DAHIR PORTANT LOI** n°1-75-292 du 5 chaoual 1397 (19 septembre 1977) édictant des mesures propres à garantir les animaux domestiques contre les maladies contagieuses.(BO. n°3388 du 05/10/1977, BO. n°3500 du 28/11/1979, BO. n°4482 du 15/05/1997, BO n° 4970 du 17/01/2002 et BO n°5400 du 2/03/2006)
- 12. L. Mahin, G. Wellemans, A. Shimi.** PREVALENCE OF ANTIBODIES TO BOVID HERPESVIRUS 1 (IBR-IPV), BOVINE VIRUS DIARRHOEA, BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL PARAINFLUENZA 3, ADENO A AND ADENO B VIRUSES IN INDIGENOUS AND IMPORTED MOROCCAN CATTLE. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1985, 16 (3), pp.279-283. fihal-00901583f
- 13. OIE** Répartition des taux de morbidité et de mortalité de l'IBR en Tunisie selon les gouvernorats (2ème semestre 2012) (Source : OIE)
- 14. ANNE BRONNER (1)** (ANNE.BRONNER@AGRICULTURE.GOUV.FR), MARIE-CLAUDE GUERRIER-CHATELLET (2), JEROME LANGUILLE (3), ÉTIENNE PETIT (4), VERONIQUE DUQUESNE (5), ÉRIC DUBOIS (5) La lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) en France: un dispositif original. **Présentation, bilan et perspectives** in *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* n° 41. 12-15.2010.
- 15. BOLON A.** La certification IBR des cheptels bovins en Europe : situation actuelle et propositions d'harmonisation. Thèse : Med.Vet. : Lyon : 2003, 115, 132 p.
- 16. HOUTAIN J.Y.** (Page consultée le 16 août 2007). Site de l'Association Régionale de Santé et d'Identification Animale en Belgique. [En ligne]. Adresse URL:www.arsia.be/documents/presentations_pps/ibr_pourquoi_comment_version_4.pps
- 17. ACKERMANN M., ENGELS M.:** Pro and contra IBR-eradication. *Vet. Microbiol.* 2006, 113: 293 – 302.
- 18. S.BLICKENSTORFER¹ , M. ENGELS² , C. GUERDAT³ , C. SAUCY³ , M. REIST⁴ , H. SCHWERMER⁴ *, L. Perler⁴** Rhino-trachéite infectieuse bovine (IBR) dans le canton du Jura : enquête épidémiologique décembre 2010 in SAT Schweizer Archiv für Tierheilkunde 152(12)DOI : [10.5167/uzh-41337](https://doi.org/10.5167/uzh-41337).
- 19. ACKERMANN M., WEBER H., WYLER R.:** Aspects of infectious bovine rhinotracheitis eradication programmes in a fattening cattle farm. *Prev. Vet. Med.* 1990b, 1: 121 – 130. Kupferschmied H. U., Kihm U., Bachmann P., Muller K. H., Ackermann M.: Transmission of IBR/IPV virus in bovine semen: A case report. *Theriogenology.* 1986, 25: 439 – 443.
- 20. ACKERMANN M., ENGELS M.,** Pro and contra IBR-eradication, *Vet. Microbiol.* (2006) 113:293–302.

- 21. BRADSHAW B.J., EDWARDS S.**, Antibody isotype responses to experimental infection with bovine herpesvirus 1 in calves with colostrally derived antibody, *Vet. Microbiol.* (1996) 53:143–151.
- 22. LEMAIRE M., MEYER G., BARANOWSKI E., SCHYNTS F., WELLEMANS G., KERKHOF P., THIRY E.**, Production of bovine herpesvirus type 1-seronegative latent carriers by administration of a live-attenuated vaccine in passively immunized calves, *J. Clin. Microbiol.* (2000) 38:4233–4238.
- 23. LEMAIRE M., WEYNANTS V., GODFROID J., SCHYNTS F., MEYER G., LETESSON J.J., THIRY E.**, Effects of bovine herpesvirus type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency, *J. Clin. Microbiol.* (2000) 38:1885–1894.
- 24. HAGE J.J., VELLEMA P., SCHUKKEN Y.H., BARKEMA H.W., RIJSEWIJK F.A., VAN OIRSCHOT J.T., WENTINK G.H.**, Sheep do not have a major role in bovine herpesvirus 1 transmission, *Vet. Microbiol.* (1997) 57:41–54.
- 25. CASSARD H.** Infections croisées à alphaherpesvirus chez les ruminants : application au contrôle de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine. Thèse : Med.Vet : Toulouse : 2003-TOU 159, 111 p.
- 26. THIRY E., LEMAIRE M.** Infection de ruminants par des herpesvirus hétérologues. *Le Point Vétérinaire*, 2001, **32**(217), 20-25.
- 27. MEYER G., LEMAIRE M., LYAKU J., PASTORET P.P., THIRY E.**, Establishment of a rabbit model for bovine herpesvirus type 5 neurological acute infection, *Vet. Microbiol.* (1996) 51:27–40.
- 28. BOSCH JC, VAN LESHOUT JAH, DE WIT JJ, GRAAT EAM, SOMERS MJM.** The serological BHV1 status of dams determines the precolostral status of their calves. *Vet. Q.*, 2000, **22**, 99-102.
- 29. LEMAIRE M, PASTORET PP, THIRY E.** Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Ann. Med. Vet.*, 2004, **138**, 167-180.
- 30. VAN OIRSCHOT JT, KAASHOEK MJ, RIJSEWIJK FAM, RUULS RC, QUAK J, DAVIDSE A et al.** Virulence and genotype of a bovine herpesvirus 1 isolate from semen of a subclinically infected bull. *Vet. Rec.*, 1995, **137**, 235-239.
- 31. BLANC R.** BHV1 et reproduction. Thèse : Med.Vet. : Alfort : 2002-075, 57 p.
- 32. WELLEMANS G, VANOPDENBOSCH E, OUDEWATER J.** Isolement d'un virus BHV1 dans le sperme de deux taureaux séropositifs. *Ann. Med. Vet.*, 1993, **137**, 119-120.

- 33. LEMAIRE M., PASTORET P.P., THIRY E.** Le contrôle de l'infection par le virus de la rhino trachéite infectieuse bovine. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 2004, **138**, 167-180.
- 34. WELLEMANS G., VANOPDENBOSCH E., OUDEWATER J.** Isolement d'un virus BHV1 dans le sperme de deux taureaux séropositifs. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 1993, **137**, 119-120.
- 35. MARS M.H., BRUSCHKE C.J.M., VAN OIRSCHOT J.T.** Airborne transmission of BHV1, BRSV and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Veterinary Microbiology*, 1999, **66**, 197-207.
- 36. MARS M.H., DE JONG M.C., VAN MAANEN C., HAGE J.J., VAN OIRSHOT J.T.** Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions. *Veterinary Microbiology*, 2000, **76**(1), 1-13.
- 37. MUYLKENS B et al** Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis 2007, *Vet. Res.* 38 (2007) 181–209 INRA, EDP Sciences, 2007 DOI: 10.1051/vetres:2006059
- 38. KUPFERSCHMIED H.U., KIHM U., BACHMANN P., MÜLLER K.H., ACKERMANN M.,** Transmission of IBR/IPV virus in bovine semen: A case report, *Theriogenology* (1986) 25:439–443.
- 39. VAN SCHAİK G., SCHUKKEN Y.H., NIELEN M., DIJKHUIZEN A.A., BENEDICTUS G.** Risk factors for introduction of BHV1 into BHV1-free dutch dairy farms: a case-control study. *The Veterinary Quarterly*, 2001, **23**(2), 71-76.
- 40. VERY P., BLONDET M., GUILLOUX P., BATUT V., MASCARON L.** Evaluation comparée d'un test sérologique ELISA IBR(BHV1) gE et d'un test sérologique ELISA IBR (BHV1) gB à partir de sérums d'un essai terrain. *Bulletin des GTV*, 1997, **4**, 45-48.
- 41. WANG C., SPLITTER G.A.** CD4+ Cytotoxic T-Lymphocyte Activity against Macrophages Pulsed with Bovine Herpesvirus 1 Polypeptides. *Journal of Virology*, 1998, **72**(9), 7040-7047.
- 42. VAN OIRSCHOT JT.** Social isolation may influence responsiveness to infection with BHV1 in veal calves. *Vet. Microbiol.*, 2000, **75**, 135-143.
- 43. GUERIN D.** L'assainissement anti-IBR des estives. *Bulletin des GTV*, 2000, **6**, 65-68.
- 44. VANOIRSCHOT JT.** Bovine Herpesvirus 1 in the semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. *The Veterinary Quarterly*, 1995, **17**, 1, 29-33
- 45. ETIENNE THIRY** Maladies virales des ruminants collections virologie clinique Edition: le point vétérinaire, 2000, p17.

- 46.F.M.H. GRADEUX** Recherche de virus BHV-1 dans les ganglions trijumeaux des bovins dans le cadre de la gestion national de reinotrachéite infectieuse bovine Thèse : Med. Vet. : Toulouse: 2007, p 13, 15, 19, 20, 18, 29, 30, 31, 37
- 47.Thomas DELOST** Evolution de la certification IBR en France Thèse : Med. Vet. : Alfort : 2011, p11, 34, 35, 23, 39.
- 48.P.C.LEFEVRE, J.BLANCOU, R.CHERMETTE** Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail en Europe et régions chaudes chp Herpesvirus des ruminants E.THIRYédition : TEC & DOC : 2003, p485, 486, 491, 490, 489.
- 49.AUSTRALIAN GOVERNMENT, DEPARTMENT OF HEALTHAND AGEING, OFFICE OF THE GENE TECHNOLOGY REGULATOR** *The biology of Bovine Herpes Virus 1*, August 2005.www.ogtr.gov.au/rtf/ir/biologybovineherpesvirus.rtf (page consultée le 31/01/07).
- 50.GALAIS-DUHAMEL CHARLENE** LES HERPESVIRUS BOVINS CHEZ LES RUMINANTS These : Med. Vet. : Alfort, p16, 29, 30
- 51.EGYED L, ROS C, BELAK S.***Genomic and pathogenic studies on a glycoprotein E variant field isolate of bovine herpesvirus 1.* Vet. Res. Commun, 24, 423-431.
- 52.THIRY J, KEUSER V, MUYLKENS B, MEURENS F, GOGEV S, VANDERPLASSCHEN A et al.** Ruminant alphaherpesviruses related to bovine Herpesvirus 1, *Vet. Res.*, 2006, 37, 169-190.
- 53.ROIZMANN,B.,DESROSIERS,R.C.,FLECKENSTEIN,B.LOPEZ,C.,MINSON,A.C.AND STUDDERT,M.J.** *The family Herpesviridae : an update.The Herpesvirus Study Group of the International Committee on Taxonomy of viruses. Arch.Virol.*, 1992,123,3-4,425-449.
- 54.ROIZMAN B., BAINES J.** The diversity and unity of herpesviridae; *Comp. Immun. Microbiol. Inf.Dis.*, 1991, 14, 63-79.
- 55.ROS C, BELAK S.***Characterization of the glycoprotein B gene from ruminant alphaherpesviruses.* Virus Genes, 2002, 24, 99-105.
- 56.KEUSER V, THIRY E.** *Conséquences de l'infection des cervidés par des alpha-herpesvirus apparentés au virus de l'IBR.* Point vet. 31, 219-223.
- 57.MUYLKENS B, THIRY J, KIRTEN P, SCHYNTS F, THIRY E.** *Bovine Herpesvirus.infectionand infectious bovine rhinotracheitis.* Veterinary Research, 2007, 38, 181-209.
- 58.THIRY J, KEUSER V, MUYLKENS B, MEURENS F, GOGEV S, VANDERPLASSCHEN Aet al.** Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1, *Vet. Res.*, 2006, 37, 169-190.
- 59.SCHWYZER,M. and ACKERMANN,M.** Molecular virology of ruminant herpesviruses.*Vet.Microbiol.*,1996,53,1-2,17-29.

- 60. GUY JS, POTGIETER L.** *Kinetics of antibody formation after the reactivation of bovineherpesvirus-1 infection in cattle.* Am. J. vet. Res., 1985, 56, 179-192.
- 61. MUYLKENS B., MEURENS F., SCHYNTS F., THIRY E.** Les facteurs de virulence des alphaherpesvirus ; *Virology*, 2003, 7, 401-415.
- 62.61 MEYER G.** *Etude comparative de la neuropathogénicité des herpèsvirus bovins de type 1 et 5 et caractérisation des produits d'expression des gènes codant pour la glycoprotéine gH* ; Thèse med.Vet., Liège, 1999, 258 p.
- 63. MURPHY F.A., FAUQUET C.M., BISHOP D.H.L., GHABRIAL S.A., JARVIS A.W., MARTELLI G.P., MAYO M.A., SUMMERS M.D.** *Virus taxonomy, sixth report of the international committee on taxonomy of viruses*; ed. Springer-Verlag Wien New York, 1995, 114-127.
- 64. THOMAS DELOST.** *Évolution de la certification IBR en France ; École nationale vétérinaire d'ALFORT.* ; Année 2011, 26-27-28-29p
- 65. HERVE, MAX, LOUIS CASSARD** *Infections croisées à alphaherpesvirus chez les ruminants : Application au contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine. École nationale vétérinaire de TOULOUSE.* ; Année 2003. ; These :2003-TOU 3-4159.35-37-39-40p
- 66. GALAIS-DUHAMEL CHARLENE.** ; *Les Herpesvirus bovins chez les ruminants École nationale vétérinaire d'ALFORT.* Année 2006.23-24-25-26-35-41p
- 67. LI Y., VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK S., BABIUK L.A., LIANG X.,** Characterization of cell-binding properties of bovine herpesvirus1 glycoproteins B, C, and D: identification of a dual cell-binding function of gB, *J. Virol.* (1995) 69:4758–4768.
- 68. LIANG X., BABIUK L.A., ZAMB T.J., AN** *in vivo* study of a glycoprotein gIII-negative bovine herpesvirus 1 (BHV-1) mutant expressing beta-galactosidase: evaluation of the role of gIII in virus infectivity and its use as a vector for mucosal immunization, *Virology* (1992) 189:629–639.
- 69. LIANG X.P., BABIUK L.A., VAN DRUNEN LITTELVAN DEN HURK S., FITZPATRICK D.R., ZAMB T.J.,** Bovine herpesvirus 1 attachment to permissive cells is mediated by its major glycoproteins gI, gIII, and gIV, *J. Virol.*(1991) 65:1124–1132
- 70. OKAZAKI K., HONDA E., KONO Y.,** Expression of bovine herpesvirus 1 glycoprotein gIII by a recombinant baculovirus in insect cells, *J. Gen. Virol.* (1994) 75:901–904.
- 71. OKAZAKI K., HONDA E., KONO Y.,** Heparinbinding domain of bovid herpesvirus 1 glycoprotein gIII, *Arch. Virol.* (1994) 134:413–419.
- 72. LIANG X., PYNE C., LI Y., BABIUK L.A., KOWALSKI J.,** Delineation of the essential function of bovine herpesvirus 1 gD: an indication for the modulatory role of gD in virus entry, *Virology* (1995) 207:429–441.

- 73. LIGAS M.W., JOHNSON D.C.**, A herpes simplex virus mutant in which glycoprotein D sequences are replaced by betagalactosidase sequences binds to but is unable to penetrate into cells, *J. Virol.* (1988) 62:1486–1494.
- 74. Gerdts V., Beyer J., Lomniczi B., Mettenleiter T.C.**, Pseudorabies virus expressing bovine herpesvirus 1 glycoprotein B exhibits altered neurotropism and increased neurovirulence, *J. Virol.* (2000) 74:817–827.
- 75. MIKLOSKA Z., CUNNINGHAM A.L.**, Alpha and gamma interferons inhibit herpes simplex virus type 1 infection and spread in epidermal cells after axonal transmission, *J. Virol.* (2001) 75:11821–11826.
- 76. CARPENTER D.E., MISRA V.**, The most abundant protein in bovine herpes 1 virions is a homologue of herpes simplex virus type 1 UL47, *J. Gen. Virol.* (1991) 72:3077–3084.
- 77. VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK S., GARZON S., VAN DEN HURK J.V., BABIUK L.A., TIJSSEN P.**, The role of the major tegument protein VP8 of bovine herpesvirus-1 in infection and immunity, *Virology* (1995) 206:413– 425.
- 78. ZHENG C., BROWNLIE R., BABIUK L.A., VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK S.**, Characterization of nuclear localization and export signals of the major tegument protein VP8 of bovine herpesvirus-1, *Virology* (2004) 324:327–339.
- 79. EGYED L.** Bovine herpesvirus type 4 : a special herpesvirus (review article) ; *Acta Vet. Hungaricae*, 2000, **48** (4), 501-513.
- 80. BABIUK, L.A., VAN DRUEN LITTEL-VAN DEN HURK ,S. and TIKOO,S.K.** *Immunology of bovine herpesvirus 1 infection Vet.Microbiol.*,1996,**53**,1-2,31-42.
- 81. UNIVERSITE DE LIMOGE.** (Page consultée le 14 juin 2011). Adresse URL [en ligne] <http://www.unilim.fr/theses/2003/sciences/2003limo0017/images/image004.jpg>
- 82. LOUIS CASARD** Infections croisées à alphaherpèsvirus chez les ruminants :Application au contrôle de la reinotracheite infectieuse bovine These: Med. Vet : Toulouse : 2003, p44, 47, 48, 38
- 83. BARANOWSKI E., KEIL G., LYAKU J., RIJSEWIJK F.A., VAN OIRSCHOT J.T., PASTORET PP, THIRY E.** Structural and functional analysis of Bovine Herpesvirus 1 minor glycoproteins. *Veterinary Microbiology*, 1996, 53 (1-2), 91-101.
- 84. NAKAMICHI K., MATSUMOTO Y., OTSUKA H.** Bovine herpesvirus 1 glycoprotein G is necessary for maintaining cell-to-cell junctional adherence among infected cells. *Virology*, 2002, 294 (1), 22-30
- 85. MUYLKENS B, MEURENS F, SCHYNTS F, THIRY E.** *Les facteurs de virulence des alphaherpèsvirus.* *Virologie*, 2003, **7**, 401-415.

- 86. THIRY E.** *Virologie clinique des Ruminants*. 2eme ed., Les Editions du Point Veterinaire, 2007, 301p.
- 87. ALLEMAND S.** *Les herpèsvirus bovins encéphalithogènes, cas particulier du BHV5* ; these med. vet., Toulouse, 1998, 89 p.
- 88. COSTE T.** *Le virus herpes bovin de type 1 (BHV1) et sa pathologie* ; Thèse de med. Vet., Lyon, 1991, 121 p.
- 89. THIRY E.** Maladies virales des ruminants, *le point vétérinaire*, collection virologie clinique, 2000.
- 90. THIRY E., LEMAIRE L., SCHYNTS F., VANDERHEIJDEN N., MEYER G., DISPAS M., PASTORET P.P.** La rhinotrachéite infectieuse bovine : caractéristiques du virus, l'infection et ses manifestations cliniques ; *Bull. GTV*, 1997, 4B 559, 7-16.
- 91. REVIEW HERPESVIRUS AND AUTOPHAGY:** Marion Lussignol and Audrey Esclatine in *Viruses* 2017, 9, 372.
- 92. PASTORET, P.P., THIRY, E., BROCHIER, B. and DERBOVEN, G.** *Bovine Herpèsvirus 1 infection of cattle: pathogenesis, latency, consequences of latency.* *Ann. Rech. Vét.*, 1982, **13**, 3, 221-235.
- 93. KOPTOPOULOS, G.** *Goat Herpèsvirus 1 infection: a review.* *Vet. Bull.*, 1992, 62, 2, 79-84.
- 94. KAASHOEK MJ, STRAVER PH, VAN ROOIJ EM, QUAK J, VAN OIRSCHOT JT.** *Virulence, immunogenicity and reactivation of seven bovine herpesvirus 1.1 strains : clinical and virological aspects.* *Vet. Record*, 1996, **139**, 416-421.
- 95. HANON E, VANDERPLASSCHEN A, LYAKU S, KEIL G, DENIS M, PASTORET PP.** *Inactivated bovine herpesvirus 1 induces apoptotic cell death of mitogen-stimulated bovine peripheral blood mononuclear cells.* *J. Virol.*, 1996, **70**, 4116-4120.
- 96. NYAGA PN, McKERCHER DG.** *Pathogenesis of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) infections : interactions of the virus with peripheral bovine blood cellular components.* *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1979, **2**, 587-602.
- 97. ENGELS M, ACKERMANN M.** *Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections.* *Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 3-15.
- 98. ENGELS M, ACKERMANN M.** *Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections.* *Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 1-2, 3-15.
- 99. THIRY E., LEMAIRE L., SCHYNTS F., VANDERHEIJDEN N., MEYER G., DISPAS M., PASTORET P.P.** La rhinotrachéite infectieuse bovine : caractéristiques du virus, l'infection et ses manifestations cliniques *Bull. GTV*, 1997, 4B 559, 7-16.
- 100. TRAPP S, OSTERRIDER N, KEIL GM, BEER M.** *Mutagenesis of a bovine herpesvirus 1 genome cloned as an infectious bacterial artificial chromosome :*

analysis of a glycoprotein E and G double deletion mutants. J. Gen. Virol., 2003, **84**, 301-306.

- 101. ZHU L, ET AL.** Activation des voies p38 MAPK et JNK dans les cellules MDBK infectées par *l'herpèsvirus bovin 1*. Vet.Res. 2016; 47 : 91. doi: 10.1186 / s13567-016-0377-2. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
- 102. ZHU L, WORKMAN A, JONES C.** Un rôle potentiel pour un co-activateur bêta-caténine (protéine du groupe à mobilité élevée, crochet 1) au cours du cycle de latence-réactivation de *l'herpèsvir bovin 1*. J.Virol. 2017; 91 : e02132–16. [[Article gratuit de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- 103. MUYLKENS B et al.** Infection par *l'herpèsvirus bovin 1* et rhinotrachéite infectieuse bovine. Vet.Res. 2007; 38 : 181-209. doi: 10.1051 / vetres:2006059. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
- 104. WORKMAN A, ET AL.** Les facteurs de transcription cellulaire induits dans les ganglions du trijumeau lors de la réactivation de la dexaméthasone induite par la latence stimulent *l'infection productive* par *l'herpèsvirus bovin 1* et certains promoteurs viraux. J.Virol. 2012; 86 : 2459–2473. doi: 10.1128 / JVI.06143-11. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
- 105. WINKLER MT, DOSTER A, JONES C.** Persistance et réactivation de *l'herpèsvirus bovin 1* dans les amygdales de veaux infectés de manière latente. J.Virol. 2000; 74 : 5337-5346. doi: 10.1128 / JVI.74.11.5337-5346.2000. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
- 106. KHATTAR SK, COLLINS PL, SAMAL SK.** L'immunisation des bovins avec le *virus recombinant de la maladie de Newcastle exprimant l'herpèsvirus bovin -1 (BOHV-1)*, glycoprotéine D, induit des réponses en anticorps muqueux et sériques et assure une protection partielle contre BOHV-1. Vaccin. 2010; 28 : 3159-3170. doi: 10.1016 / j.vaccine.2010.02.051. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
- 107. MACKENZIE-DYCK S, ET AL.** L'inclusion de la bêta-défensine 3 des neutrophiles bovins avec la glycoprotéine D de *l'herpèsvirus bovin 1* dans un vaccin à ADN module les réponses immunitaires de souris et de bovins. Clin.Vaccine Immunol. 2014; 21 : 463–477. doi: 10.1128 / CVI.00696-13. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
- 108. QIAN XJ, ET AL.** Inhibiteurs d'entrée: nouvelles avancées dans le traitement du VHC. Emerg. Microbes Infect. 2016; 5 : e3. doi: 10.1038 / emi.2016.3. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

109. **ZARROUK K, J PIRET**, ADN polymérase Boivin G. Herpesvirus: structures, fonctions et inhibiteurs. *Virus Res.* 2017; S0168-1702 (16): 30687–6. [[Google Scholar](#)]
110. **MCCULLERS, JCA**. Prévenir et traiter les infections bactériennes secondaires avec des antiviraux. *Antivir. Ther.* 2011; 16 : 123–135. doi: 10.3851 / IMP1730. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
111. **SHIGLE TL, TORRES HA**. Lettre: les médicaments antiviraux à action directe doivent-ils être utilisés en même temps que les médicaments chimiothérapeutiques chez les patients atteints du cancer infecté par le virus de l' *hépatite C*? *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2017; 45 : 758–759. doi: 10.1111 / apt.13937. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
112. **SHIN JH, ET AL**. Facteurs de risque de déclin fonctionnel rénal chez les patients atteints d' *hépatite B* chronique recevant des antiviraux oraux. *Médecine (Baltimore)* 2016; 95 : e2400. Doi: 10.1097 / MD.0000000000002400. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
113. **ELLINGTON AD, SZOSTAK JW**. Sélection *in vitro* de molécules d'ARN qui se lient à des ligands spécifiques. *La nature.* 1990; 346 : 818–822. doi: 10.1038 / 346818a0. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
114. **WANDTKE T, J WOZNIAK, P. KOPINSKI** APTAMERS dans le diagnostic et le traitement des infections virales. *Virus.* 2015; 7 : 751–780. doi: 10.3390 / v7020751. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
115. **GONZALEZ VM, ET AL**. Utilisation d'aptamères en tant qu'outils de diagnostic et agents antiviraux pour les virus humains. *Médicaments.* 2016; 9 : 78. doi: 10.3390 / ph9040078. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
116. **GOPINATH SC, HAYASHI K, KUMAR PK**. Aptamère qui se lie à la protéine gD du *virus herpès simplex 1* et inhibe efficacement l'entrée virale. *J. Virol.* 2012; 86 : 6732 à 6744. doi: 10.1128 / JVI.00377-12. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
117. **FU P, ET AL**. Dosage aptamère lié à une enzyme: basé sur un format de compétition pour la détection sensible d'anticorps anti- *Mycoplasma bovis* dans le sérum. *Anal. Chem.* 2014; 86 : 1701–1709. doi: 10.1021 / ac4042203. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
118. **ZHANG Y ET AL**. Deux aptamères à l'ADN contre le *virus H9N2* de l' *influenza* aviaire empêchent l'infection virale dans les cellules. *PLoS One.* 2015; 10 : e123060. [[Article gratuit de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

119. **LEE CH, ET AL.** Inhibition de la réplication du *virus* de l' *hépatite C* (VHC) par des aptamères d'ARN spécifiques contre l'ARN réplicase du VHC NS5B. *J.Virol.* 2013; 87 : 7064 à 7074. doi: 10.1128 / JVI.00405-13. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
120. **SHI S, ET AL.** Inhibition de la production du *virus* de l' *hépatite C* par les aptamères contre la protéine centrale. *J.Virol.* 2014; 88 : 1990-1999. doi: 10.1128 / JVI.03312-13 [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
121. **IDE PR.** Utilisation de cellules congelées dans le test de neutralisation du sérum au microtitre pour la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Pouvez. J. Comp. Med.* 1975; 39 : 101-103. [[Article gratuit de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
122. **ROEHRIG JT, HOMBACH J, BARRETT AD.** Lignes directrices pour la neutralisation par réduction de plaque des anticorps humains dirigés contre *les virus* de la *dengue* . *Viral.Immunol.* 2008; 21 : 123-132. doi: 10.1089 / vim.2008.0007. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
123. **FULTON RW ET AL.** *Herpèsvirus bovin -1*: diversité génétique des souches de bovins présentant une maladie respiratoire, des maladies génitales, foétales et néonatales systémiques et leur relation avec les souches vaccinales. *Virus Res.* 2016; 223 : 115-123 doi: 10.1016 / j.virusres.2016.06.017. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
124. **BLANC R.** *BHV-1 et reproduction* ; Thèse med. Vet., Alfort, 2002, 57 p.
125. **CUTLER K.L., HARWOOD D.G.** An outbreak of infectious bovine rhinotracheitis with atypical and severe signs (haemorrhagic tracheobronchitis) in a naïve dairy herd ; *Cattle Pract.*, 2000, **8** (1), 21-23.
126. **CASSARD H.** *Infections croisées à alphaherpèsvirus chez les ruminants : application au contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine* ; Thèse med. Vet., Toulouse, 2003, 111
127. **COOK N.** Bovine herpesvirus 1: clinical manifestations and an outbreak of infections pustular vulvovaginitis in a UK dairy herd; *Cattle Pract.*, 1998, **6** (4), 341-344.
128. <https://www.m-elevage.fr/bovins/sante/pathologies/ibr/> 10/06/2021 16 :10.
129. **HANZEN CH** Pathologies de la reproduction du mâle des ruminants Université de Liège 2015/2016.
130. **STRAUB, O.C** Infectious bovine rhinotracheitis virus *In*:Z. Dinter and B.Morein.Virus infections of ruminants. Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo: Elsevier Science publishers, 1990,71-108.

131. **CAMPERO C.M., MOORE D.P., ODEON A.C., CIPOLLA A.L., ODRIOZOLA E.** Aetiology of bovine abortion in Argentina; *Vet. Res. Commun.*, 2003, **27** (5), 359-369.
132. **ROCHA M.A., BARBOSA E.F., GUEDES R.M.C., LAGE A.P., LEITE R.C., GOUVEIA A.M.G.** Detection of BHV1 in a naturally infected bovine fetus by a nested PCR assay; *Vet. Res. Commun.*, 1998, **23**(2), 133-141.
133. <https://vet-arrouaise.com/autopsie-bovine/> 10/06/2021 16 :53
134. **WELLENBERG G.J., VAN DER POEL W.H.M., VAN OIRSCHOT J.T.** Viral infections and bovine mastitis: A review; *Vet. Microbiol.*, 2002, **88**, 27-45.
135. **STACHURSKI F., GOURREAU J.-M.** La fièvre catarrhale maligne des bovins (coryza gangreneux). *Point. Vet.*, 1988, 116, 715-733.
136. **THIRY E.** *Virologie clinique des Ruminants*. 2eme ed., Les Editions du Point Vétérinaire, 2007, 301p.
137. **GUY, J.S.; POTGIETER, L.N.; MCCRAKEN, M.; MARTIN, W.** Isolation of bovine herpesvirus-1 from vesicular lesions of the bovine udder. *American Journal of Veterinary Research*. 1984; 45(4) : 783-785
138. **SCOTT, D.W.** Large animal dermatology. Philadelphia : W.B. Compagny, 1988, 487p
139. **PENNY C.D., HOWIE F., NETTLETON P.F., SARGISON N.D., SCHOCK A.** Upper respiratory disease and encephalitis in neonat beef calves caused by bovine herpesvirus type 1; *Vet. Rec.*, 2002, **151** (3), 8
140. **LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., GEORGIN J.P., BARANOWSKI E.GABRIEL A., ROS C., BELAK S., THIRY E.** Latency and reactivation of a glycoprotein E negative bovine herpesvirus type 1 vaccine: influence of virus load and effect of specific maternal antibodies. *Vaccine*, 2001, 19 (32), 4795-4804.
141. **ACKERMANN M, PETERHANS E, WYLER R.** DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. *American Journal of Veterinary Research*, 1982, 43, 36-40.
142. **ACKERMANN M, WYLER R.** The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia latency after intravaginal infection. *Veterinary Microbiology*, 1984, 9, 53-63.
143. **TEMPESTA, M, PRATELLI, A., GRECO, G., MARTELLA, V. and BUONAVOGLIA,** Detection of caprine herpesvirus 1 in sacral ganglia of latently infected goats by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, 37,5, 1598-1599.
144. **AR FRAMPTON JR, WF GOINS, K NAKANO, EA BURTON & JC GLORIOSE** Trafic HSV et développement de vecteurs de thérapie génique avec des

applications dans le système nerveux *Thérapie génique* le volume 12 , pages891–901 (2005)

145. **MENSIK, J., POSPISIL, Z., SUCHANKOVA, A., CEPICA, A., ROZOSNY, V. and MACHATKOVA, M.** Activation of latent infectious bovine rhinotracheitis after experimental infection with parainfluenza 3 virus in young calves.
146. **MSOLLA P.M., ALLAN E.M., SELMAN I.E., WISEMAN A.** Reactivation and shedding of bovine herpesvirus 1 following *Dictyocaulus viviparus* infection. *Journal of Comparative Pathology*, 1983, 93 (2), 271-274.
147. **RABEYRIN** Rheinotracheite infectieuse bovine organisations des moyens de lutte dans le cadre d'une certification national Thèse : Med. Vet : Lyon : 2007, 18p
148. **ESPINASSE J, VISO M, LAVAL Z, LE LAYEC C, MONPETIT C.**
149. *Reactivation and shedding of infectious bovine rhinotracheitis virus caused by 3-methylindole.* *Vet. Rec.*, 1983, 113, 15-16
150. **ROCK D., LOKENSGARD J., LEWIS T., KUTISH G.** Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent Bovine Herpesvirus 1. *Journal of Virology*, 1992, 66 (4), 2484-2490.
151. **TOMISHIMA MJ, ENQUIST LW.** In vivo egress of an Alphaherpesvirus from axons. *J. Virol.*, 2002, 76, 8310-8317
152. **BABIUK, L.A, VAN DRUNENE LITTEL-VAN DEN HURK, S and TIKOO, S.K.** Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Vet. Microbiol*, 1996, 53, 1-2, 31-42.
153. **152BABIUK LA, VAN DRUNEN LITTLE-VAN DER HURK S, TIKOO SK.** *Immunology of bovine herpesvirus 1 infection.* *Vet. Microbiol.*, 1996, 53, 31-42.
154. **DENIS M, SPLITTER G, THIRY E, PASTORET PP, BABIUK LA.** *Infectious bovine rhinotracheitis (Bovine Herpesvirus 1) : Helper T Cells, Cytotoxic T Cells and NK Cells.* In :GODDEERIS BM, MORRISON WI. *Cell-mediated immunity in ruminants.* London, Tokyo, CRC Press, 1994, 157-172.
155. **VAN DRUNEN LITTLE-VAN DER HURK S, VAN DONKERSGOED J, KOWALSKI J, DAN DENHURK J, HARLAND R, BABIUK LA et al.** *A subunit gIV vaccine produced by transfected mammalian cells in culture, induces mucosal immunity against bovine herpesvirus 1 in cattle.* *Vaccine*, 1994, 12, 1295-1302.
156. **THIRY E., LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., DISPAS M., GOGEV S.** Les conséquences de l'infection des bovins par le virus de l'IBR. *Le Point vétérinaire*, 1999, 199 (30), 19-26.
157. **THIRY E., LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., DISPAS M., GOGEV S.** Les conséquences de l'infection des bovins par le virus de l'IBR. *Le Point vétérinaire*, 1999, 199 (30), 19-26.

158. **KAASHOEK MJ, RIJSEWIJK FA, VAN OIRSCHOT JT.** *Persistence of antibodies against bovine herpesvirus 1 and virus reactivation two or three years after infection.* Vet. Microbiol., 1996, 53, 103-110.
159. **DELLE CAVE J.** *Données étiologiques pathogéniques diagnostiques et épidémiologiques pour le choix d'une prophylaxie du complexe rhinotrachéite bovine infectieuse vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse (IBR/IPV) en France. Première partie : étiologie pathogénie diagnostic ;* Thèse med. Vet. Lyon, 1983, 90 p.
160. **MUYLKENS B, THIRY J, KIRTEN P, SCHYNTS F, THIRY E.** *Bovine Herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis.* Veterinary Research, 2007, 38, 181-209.
161. **IMADIC J, MAGDALENA J, QUAK J, VAN OIRSCHOT JT.** *Isotype-specific antibody responses to bovine herpesvirus 1 in sera and mucosal secretions of calves after experimental reinfection and after reactivation.* Vet. Immunology and Immunopathology, 1995, 47, 81-92.
162. **RABEYRIN M.** *La rhinotrachéite infectieuse bovine : organisation des moyens de lutte dans le cadre d'une certification nationale.* These Med. Vet., Lyon, 2007, n°23.
163. **ANZILIERO D, SANTOS CMB, BRUM MCS, WEIBLEN R, CHOWDURRY, FLORES EF.** *A recombinant bovine herpesvirus 5 defective in thymidine kinase and glycoprotein E is immunogenic for calves and confers protection upon homologous challenge and BoHV-1 challenge.* Vet. Microbiol., In Press, Corrected Proof, Available online 26 March 2011.
164. **KUCERA CJ, BECKENHAUER WH.** *Time required to stimulate protection within intranasal administration of temperature sensitive infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine.* Rev. Med. Vet., 1978, 73, 1,83-87.
165. **SAMAILLE JP, THIBAUT JC.** *La vaccination contre l'IBR (2).* L'action Veterinaire, 1996, 1376, 39.
166. **LE TALLEC B, GUERIN B.** *L'IBR : les vaccins contre la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine.* Bulletin des GTV, 2000, 6, 61-64.
167. **SAMAILLE JP, THIBAUT JC.** *La vaccination contre l'IBR (1).* L'action Veterinaire, 1996, 1375, 52.
168. **BABIUK LA, L'ITALIEN J, VAN DRUNEN LITTEL-VAN DER HURK S, ZAMB T, LAWMAN MJP, HUGHES G et al.** *Protection of cattle from bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) infection by immunization with individual viral glycoproteins.* Virology, 1987, 159, 57-66.

169. **VAN DRUNEN LITTLE-VAN DER HURK S, GIFFORD GA, BABIUK LA.** *Epitope specificity of protective immune response induced by individual bovine herpesvirus-1 glycoproteins.* *Vaccine*, 1990, **8**, 358-368.
170. **VAN SCHAIK G, SHOUKRI M, MARTIN SW, SCHUKKEN YH, NIELEN M, HAGE JJ et al.** *Modeling the effect of an outbreak of bovine herpesvirus type 1 on herd-level milk production of Dutch dairy farms.* *J. Dairy. Sci.*, 1999, **82**, 944-952.
171. **THIRY E, LEMAIRE M, BARANOWSKI E, PASTORET PP.** *Perspectives en matières de diagnostic, de contrôle et de prévention des infections à herpesvirus chez les bovins.* In : NAVETAT H, ESPINASSE J. *Les infections à herpesvirus chez les bovins – Journée SFB et GRDEPV*, Veyrier-du-Lac, 3 novembre 1994, Société Française de Buiatrie, Toulouse, 92-96.
172. **DENIS M, HANON E, RIJSEWIJK FAM, KAASHOEK MJ, VAN OIRSCHOT JT, THIRY E et al.** *The role of glycoproteins gC, gE, gI and gG in the induction cell-mediated immune response to bovine herpesvirus 1.* *Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 121-132.
173. **KAASHOEK MJ, RIKSEWIJK FAM, RUULS RC, KEIL GM, THIRY E, PASTORET PP et al.** *Virulence, immunogenicity and reactivation of bovine herpesvirus 1 mutants with a deletion in the gC, gG, gI, gE, or in both the gI and gE gene.* *Vaccine*, 1998, **16**, 802-809.
174. **THIRY E, MUYLKENS B, MEURENS F, GOGEV S, THIRY J, VANDERPLASSCHEN A et al.** *Recombination in the alphaherpesvirus bovine herpesvirus 1.* *Vet. Microbiol.*, 2006, **113**, 171-177.
175. **ANZILIERO D, SANTOS CMB, BRUM MCS, WEIBLEN R, CHOWDURRY, FLORES EF.** *A recombinant bovine herpesvirus 5 defective in thymidine kinase and glycoprotein E is immunogenic for calves and confers protection upon homologous challenge and BoHV-1 challenge.* *Vet. Microbiol.*, In Press, Corrected Proof, Available online 26 March 2011.
176. **ROCK D., LOKENSGARD J., LEWIS T., KUTISH G.** *Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent Bovine Herpesvirus 1.* *Journal of Virology*, 1992, **66**(4), 2484-2490.
177. **VAN OIRSCHOT J.T.** *Social isolation may influence responsiveness to infection with BHV1 in veal calves.* *Veterinary Microbiology*, 2000, **75**, 135-143.
178. **GANGULY S, MUKHOPADHAYAY S. K, PAUL I.** *Studies on seroprevalence of IBR in cattle population of West Bengal.* *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.* 2008;29(1-2):12–16.

179. **189 P.C.LEFEVRE, J.BLANCOU, R.CHERMETTE** Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail en Europe et régions chaudes chp Herpesvirus des ruminants E.THIRY edition : TEC & DOC : 2003, 485p
180. **DIAZ F.** Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 7th ed. Paris: Office International des Epizooties ; 2012. p. 1343.
181. **ALIASGHAR BAHARI^{1*}, JAMAL GHAREKHANI², MASOUMEH ZANDIEH², ALI SADEGHI-NASAB¹, HESAMEDDIN AKBAREIN³, AHMAD KARIMI-MAKHSOUS², MORTEZA YAVARI¹** Serological study of bovine herpes virus type 1 in dairy herds of Hamedan province, Iran in Veterinary Research Forum. 2013; 4 (2) 111 – 114.
182. **MAHMODIAN AR, DALIR-NAGHADE B, RAHMATI R.** Serological study of BHV-1 in Urmia cattle by ELISA. The third Convention of Iranian Veterinary Clinician; Mashhad, Iran. 2002. p. 355.
183. **JAIN V, PARIHAR A. K, UPADHAYAY A. K, KUMAR M.** Sero-epidemiology of IBR among bovines of Garwal region. Indian Vet. J. 2006;83:340–342.
184. **NANDI S, KUMAR M, YADAV V, CHANDER V.** Serological evidences of bovine herpesvirus-1 infection in bovines of organized farms in India. Transbound. Emerg. Dis. 2011;58:105–109. [[PubMed](#)]
185. **THAKUR V, KUMAR M, NANDI S, RATHISH R. L.** Detection of bovine herpes virus-1 antibodies in bovines in three districts of Uttarakhand by competitive ELISA. Haryana Vet. 2015;54(2):168–170.
186. **KOLLANNUR J. D, SYAM R, CHAUHAN R. S.** Epidemiological studies on infectious bovine rhinotracheitis (IBR) in different parts of India. Int. J. Livest. Res. 2014;4(5):21–27.
187. **TRANGADIA B, RANA S. K, MUKHERJEE F, SRINIVASAN V. A.** Prevalence of brucellosis and infectious bovine rhinotracheitis in organized dairy farms in India. Trop. Anim. Health Prod. 2010;42(2):203–207. [[PubMed](#)]
188. **SOLIS-CALDERON J.J, SEGURA-CORREA V.M, SEGURA-CORREA J.C, ALVARADO-ISLAS A.** Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico. Prev. Vet. Med. 2003;57:199–208. [[PubMed](#)].
189. **MAGAÑA-URBINA A, SOLORIO RIVERA J.L, SEGURA-CORREA J.C.** RINOTRAQUEITIS infecciosa bovina en hatos lecheros de la región Cotzio-Téjaro, Michoacán, México. Tec. Pecu. Mex. 2005;43:27–37.
190. **CÓRDOVA-IZQUIERDO A, CÓRDOVA-JIMÉNEZ C, SALTIJERAL-OAXACA J, RUIZ-LANG C, CORTES-SUAREZ S, GUERRA-LIERA J.** Seroprevalencia de

enfermedades causantes de aborto bovino en el trópico húmedo Mexicano. Rev. Vet. 2007;18:139–142.

191. **EIRAS C, DIEGUEZ F.J, SANJUÁN M.L, YUS E, ARNAIZ I.** Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 in cattle in Galicia (NW Spain) Spanish J. Agric. Res. 2009;7:801–806.
192. **GUPTA A.K, CHAHAR A, TANWAR R.K, FAKHRUDDIN K.** Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in cattle. Vet. Practitioner. 2010;11:169–170.
193. **CEDEÑO Q.J, BENAVIDES B.B, CARDENAS G, HERRERA C.** Seroprevalence and risk factors associated to BHV-1 and DVBV in dairy herds in Pasto, Colombia in 2011. Rev. Lasallista Invest. 2011;8:61–68.
194. **RAIZMAN E.A, POGRANICHNIY R, NEGRON M, SCHNUR M, TOBAR-LOPEZ D.E.** Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhoea virus type 1 and type 2 in non-vaccinated cattle herds in The Pacific Region of Central Costa Rica. Trop. Anim. Health Prod. 2011;43:773–778. [[PubMed](#)]
195. **YOUSEF M.R, MAHMOUD M.A, ALI S.M, AL-BLOWI M.H.** Seroprevalence of some bovine viral respiratory diseases among non vaccinated in Saudi Arabia. Vet. World. 2013;6(1):1–4.
196. **SARAVANAJAYAM M, KUMANAM K, BALASUBRAMANIAM A.** Seroepidemiology of Infectious Bovine Rhinotracheitis in unvaccinated cattle. Vet. World. 2015;8(12):1416–1419. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
197. **BOELAERT F, BIRONT P, SOUMARE B ET AL.** Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. Prev Vet Med. 2000;45:285–295. [[PubMed](#)]
198. **TEUFFERT J. THE NATIONAL IBR/IPV-** eradication program in Germany. Achievements and problems. BHV-1 eradication symposium; Berlin, Germany . 2006. p. 14.
199. **PÁLFI V, FÖLDI J.** Experiences on BHV-1 eradication in Hungary. BHV-1 eradication Symposium; Berlin, Germany . 2006. p. 15.
200. **WOODBINE KA, MEDLEY GF, MOORE SJ, ET AL.** A four year longitudinal seroepidemiological study of bovine herpesvirus type-1 (BHV-1) in adult cattle in 107 unvaccinated herds in south west England. BMC Vet Res . 2009;5:5. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
201. **ESPINASSE J, VISO M, LAVAL Z, LE LAYEC C, MONPETIT C.** *Reactivation and shedding of infectious bovine rhinotracheitis virus caused by 3-methylindole.* Vet. Rec., 1983, 113, 15-16

202. **CARRILLO B, AMBROGI A, SCHUDEL AA, VASQUEZ M, DAHME E, POSPISCHIL A.** *Meningoencephalitis caused by IBR virus in calves in Argentina.* Zentralbl. Veterinarmed. B30, 1983, 327-332.
203. **CHOW TL, MOLELLO JA, OWEN NV.** *Abortion experimentally induced in cattle by infectious bovine rhinotracheitis virus.* J. Am. Vet. Med. Assoc., 1964, **144**, 1005-1007.
204. **CHOWDHURY SI, BRUM MCS, COATS C, DOSTER A, HUIYONG W, JONES C.** *The bovine herpesvirus type 1 envelope protein Us9 acidic domain is crucial for anterograde axonal transport.* Vet. Microbiol., 2011, **152**, (3-4) : 270-279.
205. **CIACCI-ZANELLA J, STONE M, HENDERSON G, JONES C.** *The latency-related gene of bovine herpesvirus 1 inhibits programmed cell death.* J. Virol., 1999, **73**, 9734-9740.
206. **JC SEGURA-CORREA ,¹ C.C. ZAPATA-CAMPOS ,^{2,*} JO JASSO-OBREGON ,² J. MARTINEZ-BURNES ,² ET R. LOPEZ-ZAVALA** ²Séroprévalence et facteurs de risque associés à l'herpèsvirus bovin 1 et au virus de la diarrhée virale bovine dans le nord-est du Mexique in Open Vet J. 2016 ; 6(2) : 143-149. Publié en ligne le 26 août 2016. doi: [10.4314/ovj.v6i2.12](https://doi.org/10.4314/ovj.v6i2.12)
207. **SEGURA-CORREA J.C, SOLORIO RIVERA J.L, SÁNCHEZ-GIL L.** Seroconversion to bovine viral diarrhoea virus and infectious bovine rhinotracheitis in dairy herds of Michoacan, Mexico. Trop. Anim. Health Prod. 2010;42(2):233–238. [[PubMed](#)]
208. **ALMEIDA L.L, MIRANDA I.C.S, HEIN E.E, NETO S.W, COSTA E.F, MARKS F.S, RODENBUSH C.R, CANAL C.W, CORBELLINI L.G.** Herd-level risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds from southern Brazil. Res. Vet. Sci. 2013;95:901–902. [[PubMed](#)].
209. **DELHON GA, GONZALEZ MJ, MURCIA PR.** *Susceptibility of sensory neurons to apoptosis following infection by BHV1.* J. Gen. Virol., 2002, **83**, 2257-2267.
210. **HUTCHINGS DL, VAN DRUNEN LITTLE-VAN DER HURK S, BABIUK LA.** *Lymphocyte proliferative responses to separated bovine herpesvirus 1 proteins in immune cattle.* J. Virol., 1990, **64**, 5114-5122.
211. **TEMPESTA, M, PRATELLI, A., GRECO, G., MARTELLA, V. and BUONAVOGLIA ,** Detection of caprine herpesvirus 1 in sacral ganglia of latently infected goats by PCR. J.Clin. Microbiol., 1999, **37**,5, 1598-1599.
212. **SAS.** SAS/STAT User's Guide, Version 9.2. Cary, NC. USA: SAS Institute Inc; 2008.

- 213. ROMERO-SALAS D, AHUJA-AGUIRRE C, MONTIEL-PALACIOS F, GARCIA-VAZQUEZ Z, CRUZ-ROMERO A, AGUILAR-DOMINGUEZ M.** Seroprevalence and risk factors associated with infectious bovine rhinotracheitis in unvaccinated cattle in Southern Veracruz, Mexico. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2013;7(17):1716–1722.
- 214. KRISHNAMOORTHY P, PATIL S. S, SHOME R, RAHMAN H.** Sero-epidemiology of infectious bovine rhinotracheitis and brucellosis in organised dairy farms in Southern India. *Indian J. Anim. Sci.* 2015;85(7):695–700.
- 215. TRANGADIA B. J, RANA S. K, NAGMANI K, SRINIVASAN V. A.** Serological investigation of bovine brucellosis, Johne's disease and infectious bovine rhinotracheitis in two states of India. *Indian J. Adv. Vet. Res.* 2012;2:38–41.
- 216. DAS P, MOHANTY N. N, RANGANATHA S, RANABIJULI S, SARANGI L. N, PANDA H. K. A** comparative evaluation of avidin-biotin ELISA and micro SNT for detection of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis in cattle population of Odisha, India. *Vet. World.* 2014;7(8):548–552.
- 217. SINGH A, SINHA B. K.** Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) in cattle in Bihar. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.* 2006;27(2):107–108.
- 218. SINGH R, VERMA A. K, SHARMA B, YADAV S. K.** Detection of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) infection in cattle by antigen detection ELISA and multiplex PCR. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2013;1(3S):12–16.
- 219. Orjuela J, Navarrete M, Betancourt A, Roqueme L, Cortez E, Morrison R.B.** Salud y productividad en bovinos de la costa norte de Colombia. *World Anim. Rev.* 1991;69:7–14.
- 220. MAINAR-JAIME R.C, BERZAL-HERRANZ B, ARIAS P, ROJO-VÁZQUEZ F.A.** Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral diarrhoea (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Prev. Vet. Med.* 2001;52:63–73. [[PubMed](#)].
- 221. LEMAIRE M., SCHYNTS F., ROS C., THIRY E., BELAK S.** Establishment of latency associated with glycoprotein E (gE) seroconversion after bovine herpesvirus 1 infection in calves with high levels of passive antibodies lacking gE antibodies. *Veterinary Microbiology*, 2001, **82**(3), 211-222.
- 222. MUYLKENS B., MEURENS F., SCHYNTS F., THIRY E.** Les facteurs de virulence des alphaherpèsvirus. *Virologie*, 2003, 7 (6), 401-415.
- 223. RAMANANTOANINA ANDRIAMIALISOA FALIARIJAONA** évaluation de la prévalence individuelle et de troupeau de quatre pathogènes d'importance dans les troupeaux laitiers biologiques du Québec 2011.

224. **DURHAM, P. J. AND L. E. HASSARD (1990).** "Prevalence of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3, bovine respiratory syncytial, and bovine viral diarrhoea viruses in cattle in Saskatchewan and Alberta." *Can Vet J* **31**(12): 815-820.
225. **HIRST, H. L., F. B. GARRY, ET AL. (2004).** "Seroprevalence of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis infection among dairy cows in Colorado and herd-level risk factors for seropositivity." *J Am Vet Med Assoc* **225**(1): 97-101.
226. **BOELAERT, F., N. SPEYBROECK, ET AL. (2005).** "Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity." *Prev Vet Med* **69**(3-4): 285-295.
227. **RAAPERI, K., I. NURMOJA, ET AL. (2010).** "Seroepidemiology of bovine herpesvirus 1 (BHV1) infection among Estonian dairy herds and risk factors for the spread within herds." *Prev Vet Med* **96**(1-2): 74-81.
228. **LEMAIRE M., PASTORET P.P., THIRY E.** Le contrôle de l'infection par le virus de la rhino trachéite infectieuse bovine. *Annales de Médecine Vétérinaire*,2004,**138**, 167-180.
229. **GONZALEZ-GARCIA M. A, ARENAS-CASAS A, CARBONERO-MARTINEZ A, BORGE-RODRIGUEZ C, GARCIA-BOCANEGRA I, MALDONADO J. L, GOMEZ-PACHECO J. M, PEREA-REMUJO J. A.** Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus Type 1 (BHV1) infection in non-vaccinated cattle herds in Andalusia (South of Spain) *Span. J. Agric. Res.* 2009;**3**:550–554.
230. **KRISHNAMOORTHY P, PATIL S. S, SHOME R, RAHMAN H.** Sero-epidemiology of infectious bovine rhinotracheitis and brucellosis in organised dairy farms in Southern India. *Indian J. Anim. Sci.* 2015;**85**(7):695–700.
231. **RENUKARADHYA G. J, RAJASEKHAR M, RAGHAVAN R.** Prevalence of infectious bovine rhinotracheitis in Southern India. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.* 1996;**15**(3):1021–1028. [[PubMed](#)]
232. **PANDEY A. B, NANDI S, TIWARI A. K, AUDARYA S. D, SHARMA K, PRADHAN S. K, CHAUHAN R. S.** Investigation of an outbreak of infectious pustular balanoposthitis in cattle breeding bulls at a frozen semen bank. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.* 2014;**33**(3):927–936. [[PubMed](#)]
233. **DWIVEDI H. P.** Sero-epidemiology Based Cross Sectional Delineation of Infectious Diseases of Ruminants in Sub Himalayan Kumaon Region. Thesis M V, Sc., G.B.P.U.A & T, Pantnagar. 2005
234. **LATA J, KANANI A. N, PATEL T. J, PUROHIT H, JHALA M. K, CHAUHAN H. C, CHANDEL B. S.** Seroprevalence of bovine herpes virus-1 (BHV-1) in Indian breeding bulls of Gujarat. *Buffalo Bull.* 2008;**27**(1):165–169.

- 235. SHARMA B, SINGH R, SHAHNAZ B, YADAV S. K.** Seroprevalence of BHV-1 in organized bovine herd of Uttar Pradesh. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.* 2009;30(2):122–124.
- 236. VERMA A. K, KUMAR A, SAHZAD REDDY N. C. P, SHENDE A. N.** Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in dairy animals with reproductive disorders in Uttar Pradesh, India. *Pak. J. Biol. Sci.* 2014;17:720–724. [PubMed]
- 237. NARITA M., KIMURA K., TANIMURA N., TSUBOI T.** Pneumonia induced by endobronchial inoculation of calves with bovine herpesvirus 1; *J. Comp. Pathol.*, 2000,122, 185-192.
- 238. LEMAIRE M., WEYNANTS V., GODFROID J., SCHYNTS F., MEYER G., LETESSON J.J., THIRY E.** Effects of Bovine Herpesvirus Type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000,38(5), 1885–1894.
- 239. RAJESH J. B, TRESAMOL P. V, SASEENDRANATH M. R.** Seroprevalence of infectious of bovine rhinotracheitis in cattle population of Kerala. *Indian Vet. J.* 2003;80:393–396.
- 240. SINGH R, YADAV S.** Seroprevalence of bovine herpes virus-1 in Uttar Pradesh. *Haryana Vet.* 2010;49:54–55.
- 241. SATHIYABAMA K, KUOTSU K, BALAKRISHNAN S, GANESAN P. I.** Host factors association on the prevalence of antibody to bovine herpes virus-1 (BHV-1) in cattle from different farm premises. *Raksha Technol. Rev.* 2013;2(3):25–28.
- 242. CHOWDHURY SI, BRUM MCS, COATS C, DOSTER A, HUIYONG W, JONES C.** *The bovineherpesvirus type 1 envelope protein Us9 acidic domain is crucial for anterograde axonaltransport.* *Vet. Microbiol.*, 2011, **152**, (3-4) : 270-279.
- 243. CIACCI-ZANELLA J, STONE M, HENDERSON G, JONES C.** *The latency-related gene of bovine herpesvirus 1 inhibits programmed cell death.* *J. Virol.*, 1999, **73**, 9734-9740.
- 244. 254 LOVATO L., INMAN M., HENDERSON G., DOSTER A., JONES C.** Infection of cattle with a Bovine Herpesvirus 1 strain that contains a mutation in the Latency-Related gene leads to increased apoptosis in trigeminal ganglia during the transition from acute infection to latency. *Journal of Virology*, 2003,**77**(8), 4848–4857.
- 245. LYAKU J.R., NETTLETON P.F., MARSDEN H. A** comparison of serological relationships among five ruminant alphaherpesviruses by ELISA. *Archives of Virology*, 1992,**124**(3-4), 333-341.

246. **SOLIS-CALDERON J.J, SEGURA-CORREA V.M, SEGURA-CORREA J.C.** Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: Seroprevalence and risk factors. *Prev. Vet. Med.* 2005;72:253–262. [PubMed]
247. **COLLARD, B. L., P. J. BOETTCHER, ET AL.** (2000). "Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation." *J Dairy Sci* **83**(11): 2683-2690.
248. **DE MARTINO L, MARFE G, IRNO CONSALVO M, DI STEFANO C, PAGNINI U, SINIBALDISALIMEI P.** *Antiapoptotic activity of bovine herpesvirus type-1 (BHV-1) UL14 protein.* *Vet. Microbiol.*, 2007, **123**, 210-216.
249. **CROCHET C.** *Cahier des charges technique du système national d'appellation de cheptel en matière de rhinotrachéite infectieuse bovine. CC/IBR/01 Rév.K.* 2005.
250. **DANNACHER G, PERRIN M, MOUSSA A, FEDIDA M.** *La rhinotrachéite bovine infectieuse.* *Rec. Med. Vet.*, 1985, **161**, 1069-1074.
251. **DE CARLO E, RE GN, LETTERIELLO R, DEL VECCHIO V, GIORDANELLI MP, MAGNINO S et al.** *Molecular characterization of a field strain of bubaline herpesvirus isolated from buffaloes (Bubalus bubalis) after pharmacological reactivation.* *Vet. Rec.*, 2004, **154**, 171-174.
252. **VAN SCHAİK G.**, Risk and economics of disease introduction to dairy farms, *Tijdschr. Diergeneeskd.* (2001) 126:414–418 (in Dutch).
253. **VAN SCHAİK G., SCHUKKEN Y.H., NIELEN M., DIJKHUIZEN A.A., BARKEMA H.W., BENEDICTUS G.**, Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF dairy farms: a cohort study, *Prev. Vet. Med.* (2002) 54:279–289.
254. **BOELAERT F., SPEYBROECK N., DE KRUIF A., AERTS M., BURZYKOWSKI T., MOLENBERGHS, G., BERKVEN D.L.**, Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity, *Prev. Vet. Med.* (2005) 69:285–295.
255. **SOLIS-CALDERON J.J., SEGURA-CORREA V.M., SEGURA-CORREA J.C., ALVARADO-ISLAS A.**, Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico, *Prev. Vet. Med.* (2003) 57:199–208.
256. **MADIC J., MAGDALENA J., QUAK J., VAN OIRSHOT J.T.** Isotype-specific antibody responses to bovine herpesvirus 1 in sera and mucosal secretions of calves after experimental reinfection and after reactivation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1995, **47**(1-2), 81-92.
257. **MAILLARD R., CHASTAND-MAILLARD S.** Maladies virales et troubles de la reproduction. *Le Point Vétérinaire*, 2006, **37**(268), 28-33.

258. **MARS M.H., BRUSCHKE C.J.M., VAN OIRSCHOT J.T.** Airborne transmission of BHV1, BRSV and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Veterinary Microbiology*, 1999,**66**, 197-207.
259. **Muylkens B., Meurens F., Schynts F., Thiry E.** Les facteurs de virulence des alphaherpesvirus ; *Virology*, 2003, **7**, 401-415.
260. **VAN DRUNEN LITTLE-VAN DER HURK S, VAN DONKERSGOED J, KOWALSKI J, DAN DEN HURK J, HARLAND R, BABIUK LA et al.** A subunit gIV vaccine produced by transfected mammalian cells in culture, induces mucosal immunity against bovine herpesvirus 1 in cattle. *Vaccine*, 1994, **12**, 1295-1302.
261. **THIRY J, KEUSER V, MUYLKENS B, MEURENS F, GOGEV S, VANDERPLASSCHEN A et al** .Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1, *Vet. Res.*, 2006, **37**, 169-190.
262. **DELHON GA, GONZALEZ MJ, MURCIA PR.** Susceptibility of sensory neurons to apoptosis following infection by BHV1. *J. Gen. Virol.*, 2002, **83**, 2257-2267.
263. **C.PASQUIER, S.BERTAGNOLI, F.MESSUD, J.IZOPET** Virologie humain et animale Edition DUNOD, 2005, p105, 106
264. **ROS C., BELAK S.**Characterization of the glycoprotein B gene from ruminant alphaherpesviruses. *Virus Genes*, 2002,**24**(2), 99-105.
265. **MARS M.H., DE JONG M.C., VAN MAANEN C., HAGE J.J., VAN OIRSHOT J.T.** Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions. *Veterinary Microbiology*, 2000,**76**(1), 1-13.
266. **ANZILIERO D, SANTOS CMB, BRUM MCS, WEIBLEN R, CHOWDURRY, FLORES EF.**A recombinant bovine herpesvirus 5 defective in thymidine kinase and glycoprotein E is immunogenic for calves and confers protection upon homologous challenge and BoHV-1 challenge. *Vet. Microbiol.*, In Press, Corrected Proof, Available online 26 March 2011.
267. **ALLAN PJ, DENNETT DP, JOHNSON RH.**Studies on the effects of infectious bovine rhinotracheitis virus on reproduction in heifers. *Aust. Vet. J.*, 1975, **51**, 370-373.
268. **BULACH DM, STUDDERT MJ.**Comparative genome mapping of bovine encephalitis herpesvirus, bovine herpesvirus 1, and buffalo herpesvirus. *Arch. Virol.*, 1990, **113**, 1-2, 17-34.
269. **CAMPOS M, GODSON DL, HUGHES HPA, BABIUK LA.** Cytokine applications in infectious diseases. In : GODDEERIS B, MORRISONS O. *Cell-Mediated Immunity in Ruminants*. London, Tokyo, CRC Press, 1994, 229-240.

- 270. MSOLLA P.M., ALLAN E.M., SELMAN I.E., WISEMAN A.** Reactivation and shedding of bovine herpesvirus 1 following Dictyocaulus viviparous infection. *Journal of Comparative Pathology*, 1983, 93 (2), 271-274
- 271. ROCK D., LOKENSGARD J., LEWIS T., KUTISH G.** Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent Bovine Herpesvirus 1. *Journal of Virology*, 1992, 66 (4), 2484-2490.
- 272. KAASHOEK, M. J., P. H. STRAVER, ET AL. (1996).** "Virulence, immunogenicity and reactivation of seven bovine herpesvirus 1.1 strains: clinical and virological aspects." *Vet Rec* **139**(17): 416-421.
- 273. DEREGT, D., H. J. CHO, ET AL. (1993).** "A comparative evaluation of two sensitive serum neutralization tests for bovine herpesvirus-1 antibodies." *Can J Vet Res* **57**(1): 56-59.
- 274. HARTMAN, A., L. VAN WUIJCKHUISE, ET AL. (1997).** "Within-herd BHV-1 prevalence prediction from an ELISA on bulk milk." *Vet Rec* **140**(18): 484-485.
- 275. NYLIN, B., U. STROGER, ET AL. (2000).** "A retrospective evaluation of a Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) antibody ELISA on bulk-tank milk samples for classification of the BHV-1 status of Danish dairy herds." *Prev Vet Med* **47**(1-2): 91-105.
- 276. MARS M.H., DE JONG M.C., VAN OIRSCHOT J.T.** A gE-negative BHV1 vaccine virus strain cannot perpetuate in cattle populations. *Vaccine*, 2000,**18**(20), 2120-2124.
- 277. LEMAIRE M., WEYNANTS V., GODFROID J., SCHYNTS F., MEYER G., LETESSON J.J., THIRY E.** Effects of Bovine Herpesvirus Type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000,**38**(5), 1885–1894.
- 278. MENARD M.F., PERRIN M.** La Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR) : diagnostic de laboratoire et contrôle des réactifs commercialisés. *Bulletin des GTV*, 1997,**4**, 37-44.
- 279. HOMAN, E. J. AND B. C. EASTERDAY (1980).** "Isolation of bovine herpesvirus-1 from trigeminal ganglia of clinically normal cattle." *Am J Vet Res* **41**(8): 1212-1213.
- 280. DEREGT, D., H. J. CHO, ET AL. (1993).** "A comparative evaluation of two sensitive serum neutralization tests for bovine herpesvirus-1 antibodies." *Can J Vet Res* **57**(1): 56-59.

281. **NANDI, S., M. KUMAR, ET AL. (2009).** "Bovine herpes virus infections in cattle." *Anim Health Res Rev* **10**(1): 85-98.
282. **MENARD M.F., PERRIN M.** Le diagnostic de laboratoire de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR). *Bulletin des GTV*, 2000,**7**, 145-149.
283. **ABRIL C., ENGELS M., LIMAN A., HILBE M., ALBINI S., FRANCHINI M., LUTER M., ACKERMANN M.:** Both viral and host factors contribute to neurovirulence of bovine herpesviruses 1 and 5 in interferon receptor-deficient mice. *J. Virol.* 2004, **78**: 3644 – 3653.
284. **KWON HM, ET AL.** Un aptamère à l'ARN qui se lie spécifiquement à l'hémagglutinine glycosylée du virus de la grippe aviaire et supprime l'infection virale dans les cellules. *PLoS One.* 2014; **9** : e97574. doi: 10.1371 / journal.pone.0097574. [[Article libre de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
285. **LUKMAN, N. et al .** Comparaison du test d'inhibition de l'hémagglutination et de l'ELISA IgG dans la catégorisation des infections primaires et secondaires de la dengue sur la base du test de neutralisation par réduction de la plaque. *Biomed Res. Int .*, 5253842 (2016). [[Article gratuit de PMC](#)] [[PubMed](#)]
286. **MIROSLAWA PANASIUK ,^{UN} MICHAL RYCHLOWSKI ,^{UNE} NATALIA DEREWONKO ,^{UNE} ET KRYSZYNA BIENKOWSKA-SZEWCZYK** Tunnelling Nanotubes Comme Une Nouvelle Route De Propagation De Cellules à Cellules Des Herpesvirus *J Virol* . Le 15 mai 2018; **92** (10): e00090-18. Publié en ligne 2018 avril 27. [Publication préalable en ligne 2018 28 février](#) doi: [10.1128 / JVI.00090-18](#)
287. **TURIN, L., S. RUSSO, ET AL. (1999).** "BHV-1: new molecular approaches to control a common and widespread infection." *Mol Med* **5**(5): 261-284.
288. **ENQUIST L.W., HUSAK P.J., BANFIELD B.W., SMITH G.A.,** Infection and spread of alphaherpesviruses in the nervous system, *Adv. Virus Res.* (1998) **51**:237–347.
289. **WINKLER M.T., DOSTER A., JONES C.,** Persistence and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves, *J. Virol.* (2000) **74**:5337–5346.
290. **DOHOO, I. R., S. W. MARTIN, ET AL. (2009).** Veterinary epidemiologic research. Charlottetown, P.E.I., VER Inc.

Annexes1

Réactifs Elisa:

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

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

Matériel nécessaire :

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

Mise en garde et précaution d'emploi :

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

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

Préparation des réactifs

Solution de lavage :

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

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

Conjugué :

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

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

A. TECHNIQUE D'ELISA : ELISA INDIRECTE (kit IDEXX IBR Individual, lot : 1243 exp le 18/05/2013)

Description et principe :

Les microplaques sont pré-sensibilisées avec un lysat de BHV-1. Les échantillons à tester sont dilués et mis à incuber dans les puits de la microplaque. En présence d'anticorps spécifiques du BHV-1 dans l'échantillon à tester, il se forme des immun-complexes Antigène-Anticorps. Après lavage, un Conjugué immunoglobuline anti-ruminants couplé à une enzyme est mis à incuber. Ce conjugué se fixe sur les immun-complexe Antigène-Anticorps, après lavage le substrat de l'enzyme (TMB) est distribué dans les puits. En présence d'enzyme, le substrat est oxydé développe une coloration bleue virant au jaune. La réaction est stoppée après distribution de la solution d'arrêt. L'intensité de la coloration qui en résulte est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-BHV-1 présente dans l'échantillon à tester.

Le diagnostic est établi en comparant la densité optique de l'échantillon à la densité optique (DO) moyenne du contrôle positif (se reporter aux paragraphes « calculs » et « interprétation » des résultats).

Mode opératoire :

Réserver le nombre de plaque(s) nécessaire(s). Établir le(s) plan(s) de plaque(s) correspondant(s).

Les contrôles peuvent être déposés n'importe où sur la microplaque.

Porter tous les réactifs à 18-26°C avant utilisation et bien homogénéiser par agitation douce ou au Vortex. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon.

- 1- Diluer les contrôles et les échantillons au 1/10 directement dans la plaque :
 - Distribuer 180 µl de tampon de dilution N°2 dans chaque puits de la microplaque sensibilisée.
 - Distribuer 20 µl de contrôle négatif non dilué dans le puits approprié.
 - Distribuer 20 µl de contrôle positif non dilué dans les deux puits appropriés.
 - Distribuer 20 µl de chaque échantillon dans les puits appropriés.
- 2- Homogénéiser le contenu de la microplaque à l'aide d'un agitateur de microplaques.
- 3- Couvrir la microplaque (adhésif) et incuber 1 heure (+ou- 5min) à +37°C (+ou- 3°C).
- 4- Laver 3 fois chaque puits avec approximativement 300 µl de la solution de lavage. Éliminer la solution de lavage contenue dans la microplaque entre chaque lavage. Après le dernier lavage éliminer le liquide résiduel contenu dans les puits par retournement et tapotement de la microplaque sur le papier absorbant. Éviter la dessiccation des puits.
- 5- Distribuer 100 µl de conjugué dilué dans chaque puits.
- 6- Couvrir la microplaque et incuber 30 minutes (+ou- 3mn) à +37°C (+ou- 3°C).
- 7- Laver 3 fois chaque puits.
- 8- Distribuer 100 µl de substrat TMB N°9 par puits.
- 9- Incuber 20 minutes (+ou- 3mn) à 18-26°C à l'abri de la lumière.
- 10- Distribuer 100 µl de solution d'arrêt N°3 par puits.
- 11- Placer la microplaque dans le lecteur en monochromatisme à 450nm.

12-Calculer les rapports de DO.

13-La réaction est validée si la valeur moyenne de DO de contrôle positif (cpx) est supérieure ou égale à 0,350 et si le rapport entre la valeur moyenne de densité optique du contrôle positif (cpx) et la valeur de la densité optique du contrôle négatif (CNA₄₅₀) est supérieure ou égale à 3,50.

B. ELISA COMPETITION qE et qB : ont été également réalisés au laboratoire Anses Sophia-Antipolis.

Annexe 2 séroneutralisation virale

Matériel utilisé :

- Bain-marie thermostaté à 56°C +ou – 1(décomplémentation SVF).
- Bain-marie thmostaté à 59°C +ou – 1(décomplémentation des sérums à étudier).
- Poste de sécurité microbiologique (PSM) de niveau II.
- Plaque de microtitration à fond plat, stériles, avec couvercle et traitée pour la culture cellulaire.
- Gouttière stériles à réactif
- Etuve à 37°C +ou -2°C à 5% CO₂ + ou -1%.
- Réfrigérateur (5°C + ou – 3°C)
- Microscope inversé
- Pipettes et micropipettes
- Centrifugeuse de microtubes.

Réactifs utilisés :

- Milieu de culture (MEM) supplémenté en sels de Earle, glutamine et acides aminés non essentiels).
- Trypsine-EDTA.
- Si nécessaire, une solution de pénicilline-streptomycine est utilisée à une concentration maximale de 1%. Elle est conservée à une température de ≤-16°C.
- Cellules Madin-Darby bovine kidney (MDBK) sensibles au BoHV-1.
- Sérum de veau fœtal, inactivé 30 mn à 56°C +ou -1°C, indemne de pestivirus, de BoHV-1, et indemne des anticorps dirigés contre ces virus.
- Sérum de contrôle positif : Ref46 (sous étalon français du sérum OIE EU2)
- Sérum de contrôle négatif : 9355.
- Membrane de filtration type « Spin colonne ».

LA NEUTRALISATION VIRALE DE L'IBR :

Le principe : La détection d'anticorps neutralisants contre le BoHV-1 dans un sérum est réalisée en microplaque par la technique de neutralisation virale, selon protocole décrit dans la norme NF U 47-030.

Mode opératoire :

Neutralisation viral (JO 12/04/2012 France)

Filtration et dé-complémentation des sérums à étudier.

- Le volume minimum nécessaire est de 300 µl de sérum à étudier pour 1 essai. Les sérums (sérums à analyser et sérums de contrôle) sont débarrassés des contaminants bactériens par filtration sur des membranes de 0,22 µm.
- Déposer 300 µl sur une membrane de filtration.
- Centrifugé 10 min à 6000 rpm à température ambiante.
- Collecter l'éluât (sérum filtré).
- Les sérums filtrés (sérums à analyser et sérums de contrôle) sont inactivés au bain-marie à 59°C ±1°C, pendant 30 minutes pour éliminer les inhibiteurs non spécifiques et virus éventuels.

Suspension virale ajustée à 100 DECP50 / 50 µl

- Son titre est obtenu par dilution de la suspension stock selon l'exemple suivant :

Titre de la suspension stock : $10^{4,1}$ DECP50 /50 µl

Le titre ciblé de 100 DECP50 équivaut à 10^2 DECP50)

Pour l'obtenir, il faut diluer de $10^{4,1}$ à 10^2 soit $10^{2,1}$ fois, soit au 1/125,89 ($\log 125,89=2,1$).

- La dilution doit se faire sous PSM dans du milieu de culture. Prévoir pour une microplaque de titration environ 9 ml de suspension virale à 100 DECP50 / 50 µl.

NB : la suspension virale est gardée dans la glace jusqu'à sa distribution dans la microplaque

Remarque : respecter d'un essai à l'autre les mêmes proportions de chaque dilution.

Exemple de dilution du BoHV-1 lot 5 pour 4 plaques :

- Dilution 1 (1/60) : 100 µl solutions viral stock + 2,7 ml de milieu de culture.*
- Dilution 2 (1/10) : 500 µl du la dilution 1 + 4,5 ml de milieu de culture.*
- Dilution 3 (1/10) : 4 ml de la dilution 2 + 36 ml de milieu de culture.*

Bien homogénéiser (par agitation au Vortex) entre chaque dilution.

Neutralisation du virus par les anticorps des sérums

- Chaque sérum (ainsi que les témoins internes) sera dilué, sous PSM, du pur au 1/4 au minimum (dilution de raison 2) dans du milieu de culture.
- Chaque dilution de sérum à étudier sera répétée sur deux rangées.
- Les dilutions des témoins internes sont déposées dans une rangée.

Remarque : pour éviter les contaminations lors des dépôts, gardez dans une main le couvercle de la plaque pendant le dépôt et veillez à le replacer sur la plaque entre les dépôts.

Dilution des sérums et témoins internes

- Pour les sérums et témoins internes, procéder comme suit :
- Déposer 50µl de milieu de culture dans chaque cupule, excepté la première cupule de chaque rangée de dilution.
- Déposer 100µl de sérum à tester dans la première cupule.
- Homogénéiser à la pipette et prélever 50 µl du mélange de la première cupule et les transférer dans la deuxième cupule.
- Changer les pointes de la pipette.
- Homogénéiser à la pipette et re-prélever 50 µl dans la deuxième cupule pour les déposer dans la troisième. Changer de pointes. Continuer ainsi les dilutions de raison 2 jusqu'à la dernière cupule. Dans la dernière cupule, retirer et jeter 50µl.

- Pour le témoin virus, procéder comme suit :
- Ajouter 50 µl de SVF [3.6.] dans chaque cupule, excepté la première.
- Déposer 100 µl de suspension virale à 100 DECP₅₀/ 50µl dans la première cupule (voir 3.4.1.2).
- Réaliser des dilutions de raison 2 du pur au 1/2048, en changeant de pointes à chaque fois.
- Pour le témoin cellule, procéder comme suit :
- Ajouter 50 µl de milieu de culture MEM dans chaque cupule.

Éliminer 50 µl

	Pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	...
T+	110ul T+	M	M	M	M	M	...
T-	100ul T-						
N°1	100ul N°1						
N° 2	100ul N°2						
T virus	100ul Virus à 100 DECP ₅₀ /50µl	S 50µl	s	S	S	s	...
T virus	100ul Virus à 100 DECP ₅₀ /50µl	S 50µl	s	S	S	s	...
T virus	100ul Virus à 100 DECP ₅₀ /50µl	S 50µl	s	S	S	s	...
T cellule	50ul milieu	M	M	M	M	M	...

S : 50 µl de SVF

M : 50 µl de milieu de culture MEM

-Ajout du virus à 100 DECP₅₀/50 µl :

- T+, T-, Sérums à tester (n°1 et n°2) : Ajouter 50 µl de dilution virale à 100 DECP₅₀/50µL dans chaque cupule.
- Pour le témoin virus, ajouter 50 µl de milieu de culture dans chaque cupule.
- Pour le témoin cellule ajouter 50 µl de milieu de culture dans chaque cupule.

Exemple d'une demi-microplaque :

	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	...
T+	A	A	A	A	A	A	A
T-	A	A	A	A	A	A	A
N°1	A	A	A	A	A	A	A
N° 2	A	A	A	A	A	A	A
T virus	M	M	M	M	M	M	M
T virus	M	M	M	M	M	M	M
T virus	M	M	M	M	M	M	M
T cellule	M	M	M	M	M	M	M

A : 50ul de dilution virale à 100 DECP₅₀/50 µl

M : 50 µl de milieu de culture MEM

Recouvrir les microplaques de leur couvercle.

- Incuber les microplaques 24 heures dans une étuve à 37°C ± 2°C, 5 % CO₂ ± 1%
- Noter l'heure de début d'incubation sur la feuille de paillasse (ANA.E2.FDP.02).

-Mise en contact des échantillons avec les cellules (J+1 13/04/2012)

Préparation des cellules :

- Utiliser des cellules confluentes d'une culture d'environ 4 jours.
- Sous PSM, trypsiner des cellules sensibles confluentes et les reprendre avec du milieu d'entretien à 10 % de SVF : suspension A.
- Prévoir environ 20 ml de suspension cellulaire pour une plaque (soit 3 ml de trypsine + 17 ml de MEM à 10% SVF).
- Numération des cellules : dénombrer les cellules selon la procédure ANA-P2.PRT.05.

- Ajout des cellules :

- Au bout de 24 heures de neutralisation, ajouter 150 µl de cellules homogénéisées à la pipette (à la concentration de ≈ 2 x 10⁵ cellules / ml) par puits.
- Incuber les microplaques 72 heures dans une étuve à 37°C ± 2°C, 5 % CO₂ ± 1%
- Noter l'heure de début d'incubation sur la feuille de paillasse (ANA.E2.FDP.02).

Exemple de demi-microplaque :

	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	...
T+	B	B	B	B	B	B	B
T-	B	B	B	B	B	B	B
T+	B	B	B	B	B	B	B
N° 2	B	B	B	B	B	B	B
T virus	B	B	B	B	B	B	B
T virus	B	B	B	B	B	B	B
T virus	B	B	B	B	B	B	B
T cellule	B	B	B	B	B	B	B

B : 150 µl de cellules MDBK

Lecture des plaques (J+2 et J+4)

- 24 h après l'ajout des cellules (J+2 post-neutralisation virale) :
 - évaluer l'effet cytotoxique des sérums, notamment au pur ;
 - vérifier dans les cupules « témoin cellule » que le tapis cellulaire soit complet (que les cellules forment une monocouche).
- Les plaques seront incubées 3 jours (J+4 post-neutralisation virale) à 37 °C ± 2 °C, 5 % CO₂ ± 1 %.

Lecture au microscope inversé par recherche de l'effet cytopathogène (ECP)

- Après 72 h d'incubation (noter le jour et l'heure de lecture sur la feuille de paillasse ANA.E2.FDP.02), parcourir en première intention les puits avec l'objectif x 4 pour repérer rapidement l'ECP caractérisé par des cellules en grappes et un tapis cellulaire se rétractant, puis passer si nécessaire à l'objectif x10.

Remarque : bien balayer les bords des cupules où se trouvent souvent les foyers isolés.

- Si un doute persiste, il est possible de relire à J+5 ou J+6 post-neutralisation virale à condition que les tapis ne présentent pas de signes de destruction dus au vieillissement.

- Enregistrer les résultats sur la feuille de paillasse (ANA.E2.FDP.02) comme suit :

- Les puits protégés (tapis non détruits donc présence d'anticorps neutralisants) sont notés (-).
- Les puits présentant un ECP (foyer(s) de cellules détruites) sont notés (+).
- Les puits ayant présenté un effet cytotoxique à 24h (J+2 post-neutralisation virale) sont hachurées.

La lecture des résultats le lundi 16/04/2012 : on a 13 échantillons positifs pour neutralisation.

Listes des figures

° TABLEAU	Titre des tableaux	Page
Tableau 01	Sous-famille des <i>betaherpesvirinae</i>	14
Tableau 02	Sous-famille des <i>gammaherpesvirinae</i>	14
Tableau 03	Sous-famille des <i>alphaherpesvirinae</i>	15
Tableau 04	infection des ruminants par BHV-1	16
Tableau 05	classification et fonction des glycoprotéines BHV-1	24
Tableau 06	la séroprévalence de l'IBR selon les régions :	65
Tableau 07	la séroprévalence de l'IBR selon le type de production	60
Tableau 08	La séroprévalence de l'IBR selon le type d'élevage	66
Tableau 09	La séroprévalence de l'IBR selon l'état d'hygiène	68
Tableau 10	Séroprévalence de l'IBR selon l'introduction des nouveaux animaux :	69
Tableau 11	La séroprévalence de l'IBR selon l'âge.	70
Tableau 12	La séroprévalence de l'IBR selon le sexe	70
Tableau 13	Résultats de la séroneutralisation virale	71
Tableau 14	La séroprévalence de l'IBR et les facteurs de risque associés dans les élevages (n =120 élevages)	76
Tableau 15	La séroprévalence de l'IBR et les facteurs de risques associés chez les animaux (individuel) (n =1066)	77

Listes des figures

- Figure 01 : Statuts de l'IBR des différents pays européens
- Figure 02 : les sources et les modalités de contamination de HBV1
- Figure 03 : Arbre phylogénétique des α -herpesvirus des ruminants gB
- Figure 04 : Structure du virion BHV-1
- Figure 05 : Organisation du génome des alphaherpèsvirus
- Figure 06 : Cycle de réplication des alphaherpèsvirus
- Figure 07 : Description d'une primo-infection par le BoHV-1
- Figure 08 : Réplication et excrétion de l'herpès virus
- Figure 09 : les étapes de l'infection de l'IBR
- Figure 10 : vulvovaginite
- Figure 11 : Balanite chez un taureau
- Figure 12 : Atteinte IBR museau de bivin (nez rouge)
- Figure 13 : Atteinte IBR museau et espace inter digital
- Figure 14 : avortement
- Figure 15 : Thélite ulcérate herpétique
- Figure 16 : lésion ulcéreuse de la langue en carte géographique
- Figure 17 : la forme latence et sa réactivation
- Figure 18 : la latence et de la réactivation virale de BoHV-1
- Figure 19 : Réponse immunitaire a l'infection par le BoHV-1
- Figure 20 : Cinétique de production d'anticorps en cas d'infection ou de reactivation
- Figure 21 : carte des régions étudiées
- Figure 22 : la séroprévalence de l'IBR selon la région
- Figure 23 : la séroprévalence de l'IBR selon le type de production.
- Figure 24 : La séroprévalence de l'IBR selon le type d'élevage
- Figure 25 : La séroprévalence de l'IBR selon l'état d'hygiène
- Figure 26 : la séroprévalence selon l'introduction des nouveaux animaux.
- Figure 27 : La séroprévalence de l'IBR selon l'âge
- Figure 28 : La séroprévalence de l'IBR selon le sexe

Liste des photos

Photo1 : plaque 1 de séroneutralisation virale

Photo2 : plaque 2 de séroneutralisation virale

Photo3 : flaquant de la dexaméthasone 5mg de 100ml de laboratoire *Vetoquinol*

Photo4 : flaquant de l'oxytétracycline 20% de 250ml de laboratoire *Zoetis*

Photo5 : flaquant de l'oxytétracycline 50mg/ml de 100ml de laboratoire *Zoetis*

Photo6 : récupérations de sang des bovins

Photo7 : Triple pochette de sang

Photo8 : Ganglion trijumeau

Photo9 : Préparation du site de découpe des ganglions trijumeaux.

Photo10 : Première étape de découpe ganglions trijumeaux

Photo11 : 2^{ème} et 3^{ème} phases de découpe ganglions trijumeaux

Photo12 : 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème}, 4^{ème} phases de découpe ganglions trijumeaux.

Photo13 : Mise en évidence des ganglions trijumeaux

Photo14 : ganglions trijumeaux dans la boîte crânienne

Photo15 : ganglion trijumeau

Photo16 : ganglion trijumeau

Photo 17 : ganglion trijumeau dans des boîtes pour congélation

La liste des abréviations

IBR : Rhinotrachéite infectieuse bovine

IPV : Vulvo vaginite pustuleuse infectieuse

BHV-4 : Herpes virus de type 4

BLHV : Herpes virus lymphotrope bovine

CapHV-2 : Herpes virus caprin 2

OVHV-2 : Herpes virus ovin 2

ALCHV-3 : Herpes virus des alcéphalines

BHV-1 : Herpes virus bovine de type 1

BHV-2 : Herpes virus bovine de type 2

BHV-5 : Herpes virus bovine de type 5

SHV-1 : Virus de la maladie d'aujesky

CerHV-1 : Herpes virus du cerf

RanHV-1 : Herpes virus de renne

BPI : Balanopostite pustuleuse infectieuse

PNN: Poly nucléaire Neutrophiles

NK: Natural killers

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

PCR: Polymerase Chain Reaction.

NS : Séro-neutralisation