

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب البليدة (1)
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie
Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV
Filière : Sciences Biologiques
Option : biologie et physiologie de la reproduction

Thème

**Prévalence du virus de la rhinotracheite infectieuse bovine « IBR »
chez les vaches présentant des troubles de la reproduction dans la
wilaya de BLIDA**

Présenté par :

Soutenu le : 02/06/2024

Slimani yasmine

Hammouda sadjia

Devant le jury :

Nom

Grade/Lieu

Qualité

Pr BENDJOUDI D

Professeur / USDB1

Président

Dr ABDEL HUSSAIN A

MCA / USDB1

Examinatrice

Dr DJELLATA N

MCA / USDB1

Promotrice

Dr TARZAALI D

MCA / USDB1

Co-promotrice

Année universitaire : 2023 /2024

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, on remercie Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience afin d'accomplir ce travail.

On tient à exprimer notre profonde reconnaissance et toutes nos pensées de gratitude à Mme DJELLATA NADIA, d'avoir accepté de nous encadrer pour notre projet de fin d'études et de nous avoir accompagné de près durant tout ce travail.

Nous remercions Mme TARAAZALI DALILA pour son attention, sans son précieux aide, ce travail n'aurait jamais vu le jour.

Nous tenons à remercier Professeur BENDJOUDI pour avoir accepté de présider ce jury.

Nous tenons à remercier Dr ABDEL HUSSAIN pour avoir acceptée d'examiner ce mémoire.

Nous adressant aussi nos vifs remerciements à tous les enseignants de la première jusqu'à la cinquième année universitaire.

En fin, nous remercions toutes personnes de bonnes volontés qui nous ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire

DEDICACE

A ma chère mère

A mon cher père

Aucun mot, aussi signifiant soit-il, ne saurait exprimer le degré d'affection, de gratitude, de respect et de reconnaissance que j'éprouve pour vous. Votre présence à mes côtés m'a toujours apporté confiance et réconfort. Vous n'avez cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, toujours présents à mes côtés pour me consoler quand il fallait et vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.

A ma grande famille,

Que ce travail si modeste soit pour vous le témoignage de ma grande considération, mon respect et mon amour.

A tous ce qui ont réaliser mon enseignement au long de ma vie scolaire.

Et pour tous ceux qui m'ont soutenu même avec un mot.

yasmine

DEDICACE

Je dédie ce simple travail qui est le résultat de longues années de sacrifices et d'étude

A dieu source de toute connaissance.

A mon père et ma mère, pour leurs sacrifices et leur affection de puis mon être jusqu'à présent, les deux personnes que je ne peux rendre un des milliers de leur amour je vous aime pour l'éternité ».

A mes frères : Houssein ddine, Sife ddine

A mes sœurs : douaa , Lamiss

A mon fiancé Zakaria et ma belle famille

A toute ma grande famille: Hammouda et Taffet

A Ma très chère amie et ma binôme Yasmine et toute sa famille.

A tout mes enseignants et enseignantes de primaire jusqu'à la fac sans exception

Sadjia

RESUME

Les avortements bovins sont responsables d'apparition de problèmes majeure, avec une importance sanitaire (les zoonoses) et économiques (perte de veaux, lait, vache, frais de vétérinaire). Les avortements ont une étiologie très variée, il s'agit d'avortements non infectieux (mécaniques, alimentaires) et d'autre infectieuses (infestations parasitaires ou infections virales BHV et bactériennes « brucellose »). L'objectif de cette étude a été de déterminer la séroprévalence de l'IBR chez les vaches laitières ayant avortées dans la wilaya de blida.

La présente étude a été menée entre les mois d'octobre 2023 et février 2024. Elle concerne une analyse sérologique, à l'aide d'un test ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) De prélèvement sanguins issus de 150 vaches ayant avortées provenant de 95 élevages. De études futures concernant la pathogénèse du virus HBV-1 , ainsi que une identification plus spécifique par PCR est fortement recommandées.

Mots clés : avortements , bovins , IBR , infections , PCR , Elisa , Blida .

ملخص

تسبب حالات إجهاض الماشية مشاكل كبيرة، مع ما يترتب على ذلك من آثار صحية (الأمراض الحيوانية المنشأ، إلخ) واقتصادية (فقدان العجول والحليب والأبقار وفواتير الأطباء البيطريين، إلخ). تتنوع مسببات الإجهاض بين الإجهاضات الإصابات الطفيلية أو العدوى الفيروسية مثل فيروس التهاب (غير المعدية (الميكانيكية، والغذائية، وما إلى ذلك) والمعدية كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الانتشار المصلي (والعوى البكتيرية مثل داء البروسيلات BHV الكبد الوبائي لمرض اللقاح البقري المعدي في الأبقار الحلوب التي أجهضت في ولاية البلدة

أجريت الدراسة بين أكتوبر 2023 وفبراير 2024. وتضمنت الدراسة تحليلاً مصلياً، باستخدام مقايضة الممنز المناعي ، لعينات دم مأخوذة من 150 بقرة مجهزة من 95 مزرعة. يوصى بشدة بإجراء دراسات (ELISA) المرتبط بالإنزيم ، بالإضافة إلى تحديد أكثر دقة عن HBV-1 مستقبلية حول التسبب في الإصابة بفيروس التهاب الأنف البقري المعدي طريق تفاعل البوليميراز المتسلسل

الكلمات الرئيسية: الإجهاض ، الأبقار ، IBR ، العدوى ، PCR ، Elisa ، بلدية .

ABSTRACT

Cattle abortions are the cause of major problems, with health (zoonoses, etc.) and economic (loss of calves, milk, cows, vet bills, etc.) implications. Abortions have a wide variety of aetiologies, ranging from non-infectious (mechanical, dietary, etc.) to infectious (parasitic infestations or viral infections such as BHV , and bacterial infections such as brucellosis). The aim of this study was to determine the seroprevalence of IBR in dairy cows that had aborted in the wilaya of Blida.

The study was carried out between October 2023 and February 2024. It involved a serological analysis, using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), of blood samples taken from 150 aborted cows from 95 farms. Future studies into the pathogenesis of HBV-1, as well as more specific identification by PCR, are strongly recommended.

Keyword : abortions , cattle , IBR , infections , PCR , Elisa , Blida .

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : moments préférentiels d'apparition de l'avortement dans l'espèce bovine (période à risque majeur) (Hanzen, 2015).....	22
Tableau 2 : valeur des seuils d'interprétation du Kit ELISA utilisé pour la détection d'anticorps anti-BHV-1.....	38
Tableau 3 : Résultats de l'analyse individuelle des 150 sérums de vaches avortées par la technique Elisa pour le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1).....	40
Tableau 4 : Résultats de l'analyse des 95 troupeaux de bovin laitier par la technique Elisa pour le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1).....	41

LISTE DES FIGURES

Figure 01: avorton dans l'IBR (Roy, 2007).....	19
Figure 02: avorton de BVD (GDS, 2008).....	19
Figure 03: Avortement mycosique chez la vache (Hanzen, 2004).....	20
Figure 04: Avorton de 2 mois dans la trichomonose (Hanzen. 2004).....	21
Figure05: Avorton de la Neosporose (LOSSON, 2000).....	21
Figure 06: Mortalité embryonnaire 45 jours post insémination artificielle (Hanzen et Laurent. 1991).....	23
Figure 07 : voies de transmission du virus (intervet, 2007).....	28
Figure08 : affection de la bouche par BHV-1(Mamache,2015).....	29
Figure 09 : vulvo vaginite pustuleuseinfectieuse (Mamache,2015).....	29
Figure 10 : zone d'étude «Wilaya de BLIDA ».....	35
Figure 11 : Kit Elisa utilisé lors de l'analyse sérologique [Kit Elisa: ID Screen IBR Indirect, pour la détection d'anticorps anti-BHV-1 (Herpesvirus Bovin de type 1-Rhinotracheite infectieuse bovine) dans le sérum et le plasma de bovins)].....	36
Figure 12 : Histogramme du Nombre de sérums négatif, positif pour la recherche du virus rhinotrachéite infectieuse bovins (BHV-1).....	40
Figure 13 : Histogramme du Nombre de troupeaux négatif,positif pour la recherche du virus de rhinotrachéite infectieuse bovins (BHV-1).....	42

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique.

BHV-1: Herpes virus bovin type 1.

BOHV-1: bovine herpes virus 1.

BVD: Diarrhée viral bovin.

°C : degré celsius.

Docn : densité optique des contrôles négatifs.

Docp : densité optique des contrôles positifs.

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay (méthode immuno enzymatique).

EPF : l'Early pregnancy factor (Facteur de gestation précoce).

gE: glycoprotein E.

IBR : La Rhinotrachéite infectieuse bovine.

IC: Intervalle de confiance.

IgG: ImmunoglobulinG.

MEP : mortalité embryonnaire précoce.

MET : mortalité embryonnaire tardive.

MM : Maladie des Muqueuse.

N : Négatif.

NF: Non fécondation.

P : Positif.

P4: progestérone.

PAGS: Protéines Associées à la Gestation.

PCR: Réaction en chaine par polymérase.

S/P: Sample (échantillon testé)/positif (échantillon témoin positif).

UI/ml: Unité Internationale /millilitre.

% : pourcentage.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GENERALE.....	14
CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES AVORTEMENTS BOVINS.....	16
1.1. Définitions des avortements bovins.....	16
1.1.1. Définition biologique.....	16
1.1.2. Définition courante.....	16
1.1.3. Définition légale.....	16
1.1.4. Définition pratique.....	16
1.2. Causes infectieuses responsables des avortements bovins.....	17
1.2.1. Causes d'origine bactérienne.....	17
• La Fievre Q.....	17
• La Listériose.....	17
• La Brucellose.....	17
• La Chlamydiose.....	17
• La Leptospirose.....	18
• La Campylobacteriose ou Vibriose.....	18
• L'Ureaplasmosse et Les Mycoplasmes.....	18
1.2.2. Causes d'origine virale.....	18
• La Rhinotracheite infectieuse bovine (IBR).....	18
• La Diarrhée Virale Bovine (BVD) / Maladie des Muqueuses (MM).....	19
1.2.3. Causes d'origine parasitaires.....	20
• Les Mycoses.....	20
• La Toxoplasmose.....	20
• La Trichomonose.....	20
• La Néosporose.....	21
1.3. Moments d'apparition des avortements bovins.....	21
1.4. Diagnostics des avortements bovins.....	22
1.4.1. Moyens cliniques.....	22
• Palpation transrectale.....	22
• Surveillance des chaleurs.....	22

1.4.2. Moyens para cliniques.....	23
• Effet doppler.....	23
• Diagnostic échographique.....	23
1.4.3. Méthodes biochimiques.....	24
• Dosage de la progestérone.....	24
• Dosage des Oestrogenes.....	24
• L'Utilisation conjointe des dosages des progesterone et des PAGS.....	24
• Dosage de l'Early pregnancy factor EPF (Facteur de gestation précoce).....	24
CHAPITRE 2 : LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE.....	26
2.1.Définition de la Rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR).....	26
2.2.Epidémiologie.....	27
2.3. d'excrétion.....	27
2.4.Voies de Transmission.....	27
2.5.Diagnostic de la Rhinotracheite infectieuse bovine IBR.....	28
2.5.1. Diagnostic Clinique.....	28
2.5.1.1. La forme respiratoire.....	28
2.5.1.2. La forme génitale.....	29
2.5.2. Diagnostic experimentale.....	29
2.5.2.1. Les méthodes directes (Mise en évidence du virus).....	29
2.5.2.1.1. La Réalisation de prélèvements.....	29
• Sur un animal vivant.....	29
• Sur un animal mort.....	30
2.5.2.1.2. Recherche des antigènes viraux.....	30
• immunofluorescence directe.....	30
• immunofluorescence indirecte.....	30
2.5.2.1.3. Isolement viral sur cultures cellulaires.....	30
2.5.2.1.4.Pcr : réaction en chaîne par polymérase (polymérase chain reaction).....	31
2.5.2.2. Les méthodes indirectes (Mise en évidence des anticorps).....	31
2.5.2.2.1. Réalisation des prélèvements.....	31
2.5.2.2.2. Réaction d'hypersensibilité retardée.....	31
2.5.2.2.3. Reactions sérologiques.....	31
2.5.2.2.3.1. Le test de séroneutralisation.....	32
2.5.2.2.3.2. La technique de l'Immunofluorescences indirecte.....	32
2.5.2.2.3.3. La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).....	32

•Technique de l'ELISA IBR anticorps totaux indirect.....	32
•Technique de L'ELISA IBR Compétition.....	33
•Technique de L'ELISA IBR gE	33
2.5.2.2.3.4. Comparaison des performances des tests sérologiques.....	33

CHAPITRE 3 : PREVALENCE DU VIRUS DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE (BHV-1) CHEZ LES VACHES AVORTEES DANS LA WILAYA DE BLIDA.....

3.1. Introduction.....	34
3.2. MATERIEL ET METHODES.....	35
3.2.1. Données générales.....	35
3.2.2. Analyse sérologique.....	35
3.2.3. Analyse statistique.....	39
3.3. RESULTATS.....	40
3.4. DISCUSSION.....	43
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	45

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXES

INTRODUCTION GÉNÉRALE

En élevage bovin, l'objectif principal de tout éleveur est de produire un veau par vache et par an, ceci est possible par la réussite de la fécondation aboutissant à une gestation.

Tout au long de l'année, les bovins traversent différentes phases au cours de leur cycle reproductif : chaleur, gestation, mises bas, lactation. Pour chacune de ces étapes, les vaches peuvent être exposées à des maladies spécifiques telles que, les infections génitales durant la période de monte, les avortements durant la gestation et les mammites en période de lactation.

L'avortement est l'interruption de la gestation, il est soit précoce ou tardif. L'étiologie de ce syndrome est très variée, du fait que plusieurs agents infectieux soient à l'origine. L'origine infectieuse peut être virale tel le virus de la rhino trachéite infectieuse bovine, bactérienne due à *Brucella*, *Listeria*, *Leptospire*...etc. Et parasitaire, comme la *Trichomonas*, ainsi que mycosique.

La prévalence de ces divers agents est variable et relative à différents facteurs qu'ils soient intrinsèques, s'exprimant de façon plus sporadique pour certains agents et épizootique pour d'autres. En effet, les avortements répétés et fréquents dans une exploitation bovine induisent des pertes économiques à court et à long terme.

En Algérie, il existe peu de données sur l'épidémiologie et la prévalence des maladies infectieuses abortives chez les bovins excepté la brucellose vue que c'est une zoonose à déclaration obligatoire et qui fait partie d'un programme national. Selon l'organisation mondiale de la santé « OMS », les bactéries sont considérées comme la première cause infectieuse de l'avortement. Les principaux germes responsables d'avortement chez les bovins sont *Brucella*, *Chlamydia abortus*, *Coxiella Burnetii* (OMS. 2010). En Algérie, seule la brucellose est considérée comme maladie abortive chez les bovins, le reste des germes ne sont pas considérés à l'heure actuelle comme abortifs et ne font pas parties des maladies à déclaration obligatoire. Dans ce contexte, l'objectif de la présente étude est la recherche de la séroprévalence du virus de la Rhinotracheite infectieuse bovine (*BHV-1*) par l'utilisation de la technique d'Elisa (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), et son degré d'implication dans le processus des avortements bovins en Algérie.

Le présent document comporte deux parties : la première constitue ; une revue bibliographique s'intéressant aux différentes notions générales des avortements bovins, les agents abortifs en

générale et particulièrement le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine « IBR ». La seconde partie ; s'intéresse à la recherche de la séroprévalence du virus de la Rhinotracheite infectieuse bovine (*BHV-1*) chez les vaches avortées à l'échelle individuelle et du troupeau. Ces deux parties sont représentées en trois chapitres :

Chapitre 1 : Généralités sur les avortements bovins.

Chapitre 2: La Rhinotracheite infectieuse bovine « IBR ».

Chapitre 3 : Prevalence du virus de la Rhinotracheite infectieuse bovine (*BHV-1*) chez les vaches avortées dans la wilaya de blida.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LES AVORTEMENTS BOVINS

1. Définitions des avortements bovins

1.1. Définition biologique: Pour définir biologiquement un avortement, il faut connaître le déroulement de la gestation. De la fécondation à la fin de l'organogenèse, on parle d'embryon (tous les organes ne sont pas encore formés et différenciés). S'il y a « retour en chaleur » non décalé, il s'agit de mortalité embryonnaire précoce. C'est le cas lors de certaines anomalies génétiques. La fin de l'organogenèse (formation des organes) se situe entre le 42^{ème} et le 45^{ème} jour de gestation chez la vache, vers le 30^{ème} jour chez les petits ruminants. L'embryon devient alors un fœtus. Un avortement correspond à la mort d'un fœtus, généralement suivie de son expulsion quelques jours plus tard (sauf cas de momification), entre 42 jours après fécondation chez les bovins, 30 jours chez les petits ruminants et la fin de la gestation (Fleurquin. 2013).

1.2. Définition courante : expulsion prématurée d'un fœtus mort ou non viable (Hanzen, 2015).

1.3. Définition légale : En France, d'après le décret du 24 décembre 1965, on considère comme avortement dans l'espèce bovine l'expulsion du fœtus ou du veau mort-né ou succombant dans les 48 heures qui suivent la naissance (Nyaabinwa. 2009).

1.4. Définition pratique : interruption de la gestation entre la fin de la période embryonnaire (fécondation_ 50^{ème} jour de gestation environ) et le 260^{ème} jour de gestation, suivie ou non de l'expulsion d'un produit non viable. Après le 260^{ème} jour de gestation, on parlera de vêlage prématuré (Hanzen, 2015).

Il convient de distinguer l'avortement clinique (mise en évidence de l'avorton et/ou des enveloppes fœtales) de l'avortement non réellement constaté (avortement supposé). Ce diagnostic d'avortement « supposé » dit encore avortement « sub-clinique » peut être posé sur base de l'une ou l'autre information suivante relevé après qu'un constat de gestation antérieur positif ait été réalisé : diagnostic de gestation négatif quelle que soit la méthode utilisée, détection d'un retour en chaleurs, réinsémination de l'animal, observation d'un retard d'involution utérine. Ce distinguo est important puis que la fréquence des avortements peut

s'entrouvre affectée. Ainsi, ne considérant que les cas diagnostiqués par l'éleveur ou le vétérinaire.

2. Causes infectieuses responsables des avortements bovins

2.1. Causes d'origine bactérienne

- **La Fièvre Q**

Maladie infectieuse, contagieuse affectant de nombreuses espèces animales domestiques et sauvages, mais également l'homme. Elle est due à une rickettsie, *Coxiella burnetii*, elle évolue le plus souvent sous une forme inapparente et parfois avec des troubles de la reproduction et la survenue d'un avortement en fin de gestation. Son caractère abortif a été confirmé par Kponmassi (1991) et Akakpo et al (1991) au Togo puis Olloy (1992) au Congo.

- **La Listériose**

C'est une maladie contagieuse, frappant diverses espèces animales et l'homme, due à un germe spécifique, *Listeria monocytogenes*. Il se manifeste sous forme sporadique. Il est plus fréquemment précédé et/ou suivi de signes cliniques tels que la diarrhée, des troubles nerveux (encéphalite), de la métrite et de l'amaigrissement. Il s'accompagne également plus fréquemment de rétention placentaire (Millemann, 2000).

- **La Brucellose**

La brucellose est une maladie cosmopolite, zoonose due à des bactéries du genre *Brucella* et se caractérise par une évolution chronique affectant principalement les organes de reproduction et se traduisant par de l'avortement plus généralement vers le 6^{ème} ou 7^{ème} mois de gestation (80% des animaux exposés au germe avortent), la mortinatalité, la stérilité chez les ruminants (surtout les bovins), qui de loin payent le plus lourd tribut à cette entité pathologique (Legea, 1974).

Selon les différents auteurs, son dépistage a été réalisé dans beaucoup de pays de l'Afrique intertropicale. Au Tchad (Delafosse et al. 2002), une étude a montré une prévalence de 2.6% ; en Côte d'Ivoire (Thys et al. 2005) la prévalence était de 3.573% en élevage intensif et de 4.291% en élevage traditionnel.

- **La Chlamydiose**

La chlamydiose est une maladie bactérienne largement répandue et pouvant affecter de nombreuses espèces animales. Elle est à l'origine principalement d'avortements et de troubles de la reproduction chez les bovins et les petits ruminants (Shewen et al. 1986). C'est une

maladie d'évolution longue et cyclique avec alternance de pics d'avortements et de "disparition de la maladie" (les pics d'avortements suivants semblent affecter essentiellement les primipares).

- La Leptospirose :

C'est une maladie infectieuse, contagieuse due à l'action pathogène des leptospires qui affectent les animaux et l'homme. L'avortement leptospirosique peut être dû à une complication de la forme ictéro-hémorragique ou à un germe spécifique *Leptospira interrogans* serovar hardjo. Chez les bovins, l'infection se manifeste essentiellement par les mortalités embryonnaires précoces et les avortements cliniques (Gaines. 1989). Ces derniers s'observent au cours des deux (2) derniers trimestres de la gestation. L'infection peut également se traduire par la naissance de veaux chétifs.

- La Campylobactériose ou Vibriose

La vibriose ou Campylobactériose est une infection abortive vénérienne due à campylobacter foetus var venerealis chez la vache, se traduisant par un catarrhe vagino-utérin responsable d'infécondité et de mortalité embryonnaire, ainsi que par des avortements vers le 5^{ème} - 6^{ème} mois de gestation, parfois suivis de rétention annexielle (Humber. 1995 ; Hanzen. 2008a).

- L'Ureaplasmosse et Les Mycoplasmes

les ureaplasmosse et mycoplasmes ont été occasionnellement rendus responsables d'avortements sporadiques au cours de la deuxième moitié de la gestation et d'infertilité suite à l'inflammation du tractus génital. Le pouvoir abortif de mycoplasma bovis a été montré expérimentalement car l'injection intra-utérine de cette bactérie provoque l'avortement des vaches (Byrne et al. 1999). Il a aussi été mis en évidence lors d'avortements en conditions naturelles.

2.2. Causes d'origine virale

- La Rhinotracheite infectieuse bovine (IBR)

L'herpèsvirus bovin de type 1 (BHV-1), agent de la Rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est l'un des cinq espèces d'herpèsvirus connues chez les bovins. Il appartient à la famille des alphaherpesviridae. L'IBR est présente dans le monde entier (Straub. 1991) et près de 50% des cheptels de bovins adultes ont déjà été en contact avec cette pathologie (Seal. 2007).



Figure 01: avorton dans l'IBR (Roy. 2007)

▪ La Diarrhée Virale Bovine (BVD) / Maladie des Muqueuses (MM)

Une étude a montré que le taux d'avortement dans les troupeaux où le virus circule est multiplié par 2 à 3 et un taux d'avortement de 20% peut être observé lors d'introduction du BVD dans un élevage indemne (Grooms. 2004). En Afrique, des études montrent des prévalences suivantes : au Sénégal : 61 à 78% (Bernard et Boijrdin. 1971 ; Provost et al. 1964) et 47% (Habimana. 2008), au cours d'une enquête dans le nord du Cameroun et l'ouest Tchadien signalent que 75% des sérums des sujets adultes sont positifs ; au nord Nigeria : 13.4% d'après Okeke (1976).

En Suisse, il a été démontré qu'une infection dans les 2 premiers mois de gestation s'accompagne du retour en chaleurs tandis que l'infection vers le 5^e mois de gestation s'accompagne d'avortement ou de naissance des veaux malformés (Rufenacht. 2001). Il en est de même pour une insémination de la vache infectée qui s'accompagne d'un échec.

La BVD-MM est donc responsable des troubles de la reproduction. Il s'agit des avortements (Figure 02), des mortinatalités et des naissances des veaux infectés.



Figure 02 : avorton de BVD (GDS. 2008)

2.3. Causes d'origine parasitaires

- **Les Mycoses**

Les avortements mycosiques sont dus à la localisation placentaire de champignons (*Aspergillus*, *Mucor*, etc) absorbés par voie digestive à la suite d'ingestion d'aliments (fourrages, ensilages) mal conservés ou moisiss (Hanzen. 2004). Ces avortements mycosiques sont généralement sporadiques et ont lieu plus tardivement (7^{ème} - 8^{ème} mois de gestation) (Figure 03). Ils sont souvent suivis de rétention annexielle (Gallois. 1988).

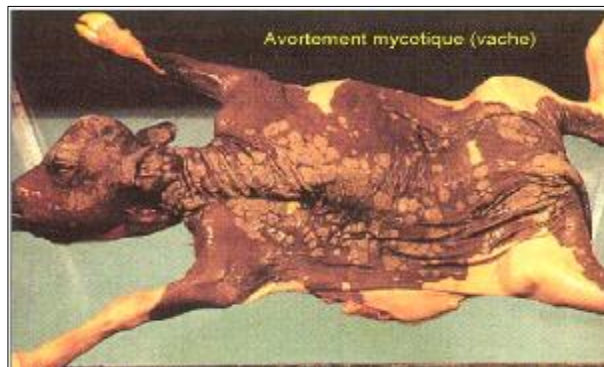


Figure 03 : Avortement mycosique chez la vache (Hanzen. 2004)

- **La Toxoplasmose**

La toxoplasmose est une anthroponose de répartition mondiale. Elle affecte l'homme et de nombreuses espèces animales domestiques et sauvages. Elle est causée par *Toxoplasma gondii*, protozoaire intracellulaire obligatoire capable de parasiter presque toutes les cellules des animaux à sang chaud. Si une vache est contaminée pendant la gestation, l'infection peut se traduire par un avortement (jusqu'à 30%) (Hanzen. 2004).

- **La Trichomonose**

C'est une affection vénérienne des bovins due à *Trichomonas fetus*, qui entraîne chez la vache une inflammation utéro-vaginale inductrice d'infécondité, de mortalité embryonnaire, d'avortement précoce et de pyromètre. L'avortement est caractérisé par sa précocité (1^{er} - 2^{ème} mois) et par la lyse fœtale (Figure 04).



Figure 04 : Avorton de 2 mois dans la trichomonose (Hanzen. 2004)

- La Néosporose

Elle est due à *Neospora caninum* et caractérisée par les avortements à trois (3) mois de gestation Jusqu' au terme: mais la majorité des avortements surviennent entre 4 et 6 mois de gestation (Figure 05). Cependant dans une étude californienne réalisée sur 170 cas, 30% des avortons ont entre 3 à 7 mois de gestation contre 78% qui ont entre 4 à 7 mois de gestation (Brugere-Picoux et al. 1998).



Figure 05 : Avorton de la Neosporose (Losson. 2000)

3. Moments d'apparition des avortements bovins

Dans la majorité des cas, l'expulsion de l'avorton sera observée au cours du dernier tiers de la gestation. Cette règle souffre d'exceptions. Le tableau (01) montre le moment d'apparition des avortements en fonction des agents responsables chez les bovins.

Tableau 01: Moments préférentiels d'apparition de l'avortement dans l'espèce bovine (période à risque majeur) (Hanzen. 2015)

Agent étiologique	Mois de gestation								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	ME	ME	A	A	A	A	A	A	A
Actinomyces pyogenes									
Aiguilles de pin									
Aspergillus									
Bacillus sp									
Blue tongue									
Brucella									
BVD									
Campylobacter									
Candida									
Chlamydia									
Coxiella burnetii									
Haemophilus somnus									
IBR									
Leptospira									
Listeria									
Mycoplasma									
Neospora									
Ornithodoros									
Salmonella									
Sarcocystis									
Toxoplasma									
Tritrichomonas									
Ureaplasma									

4. Diagnostics des avortements bovins

4.1. Moyens cliniques

▪ Palpation transrectale

Le diagnostic de gestation est fondé sur l'identification d'une distention de la corne par les liquides, sur les glissements des membranes annexielles ou sur la palpation de la vésicule amniotique. L'accroissement précoce de la taille de l'utérus et surtout de la corne gravide le rendant alors asymétrique est surtout perceptible chez les primipares. L'asymétrie peut être nulle ou négligeable les deux premiers mois de gestation chez les multipares. Une modification de consistance des cornes est le premier signe de gestation perceptible.

▪ Surveillance des chaleurs

Généralement les retours en chaleurs s'observent alors entre le 25^{ème} et 35^{ème} jour suivant l'insémination. Dans ce cas on estime une forte chance de mortalité embryonnaire tardive existante, l'analyse des retours des chaleurs par rapport au jour de l'insémination permet d'avoir déjà une présomption d'un type de mortalité embryonnaire plutôt que l'autre (Ayalon. 1978).

4.2. Moyens para cliniques

▪ Effet doppler

Pour poser un diagnostic de gestation ou des avortement en utilise la méthode de l'effet doppler à partir de 4^{ème} mois de gestation après l'insémination. Elle est permet de percevoir les battements cardiaques du fœtus. Pour cela l'absence de battements cardiaques constitue le signe le plus caractéristique d'un avortement. Ainsi, l'étude réalisée par Hanzen et al (1999), relate une diminution des battements cardiaques de 200 à 150-100 battements par minute quelques jours avant la mort de l'embryon.

▪ Diagnostic échographique

Dans le suivi quotidien des gestations de son étude, observer une mort embryonnaire au 26^{ème} jour de gestation, diagnostiquée par l'absence de battements cardiaques.

L'échogénicité des structures embryonnaires a alors progressivement augmenté tandis que la quantité de liquides fœtaux a elle diminué, jusqu'à expulsion au cours de l'œstrus, 17 jours plus tard.

Une étude faite par Hanzen et Laurent (1991), sur l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine, a montré que l'échographie permet d'objectiver la prévalence de la mortalité embryonnaire tardive en élevage bovin et, lors d'examens répétés, d'en étudier la pathogénie (Figure 06).

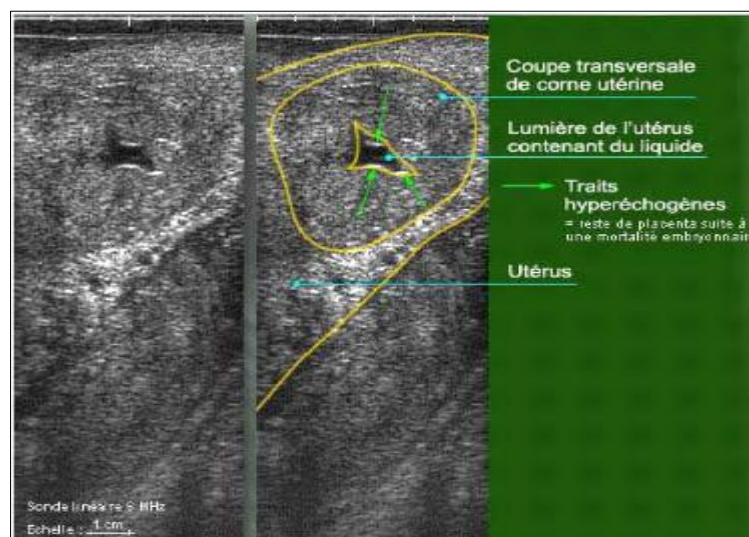


Figure 06 : Mortalité embryonnaire 45 jours post insémination artificielle (Hanzen et Laurent. 1991).

4.3. Méthodes biochimiques

- **Dosage de la progestérone**

Après l'insémination artificielle le dosage de la progestérone consiste à estimer sa concentration dans le sang ou dans le lait 21 à 24 jours. La mesure de concentration de la progestérone se fait par la méthode radio-immunologique, les vaches suspectées gestantes ont un taux de progestérone qui se maintient à un niveau supérieur à 1ng/ml dans le sang et 3.5ng/ml dans le lait (Haskouri. 2001). En effet, le dosage de la progestérone permet de déterminer l'état physiologique des femelles et de faire le diagnostic des avortements au sein du troupeau.

- **Dosage des Oestrogènes**

Le placenta est une source importante d'oestrogènes. Chez les ruminants, leur synthèse est faible au cours de la première moitié de la gestation. Ils sont détectables dès le 30^{ème} jour de gestation dans le liquide amniotique et le 50^{ème} jour dans le liquide allantoidien. Le dosage des oestrogènes dans le lait est possible à partir des 110^{ème} jours de gestation. Sa concentration constituerait un bon moyen de diagnostic de gestation et d'interruption de gestation chez les ruminants (Poli. 2007).

- **L'Utilisation conjointe des dosages des progestérone et des PAGs**

Cette combinaison permet de différencier les cas de mortalité embryonnaire précoce (MEP) et tardives (MET). Il n'est cependant pas possible de faire la distinction entre la non fécondation (NF) et MEP, car, dans les deux cas, la concentration de progestérone (P4) à j21-24 est faible et le constat de gestation à j30-35 est négatif (Ponsart et al. 2003).

La mortalité embryonnaire précoce sera invoquée lorsque : $P4 < 5\text{ng/ml}$ entre j21-j24, puis ultérieurement non gestante (retour en chaleur au palpation transrectale). La met sera invoquée lorsque $p4 < 3\text{ng/ml}$ à j0, $P4 > 5\text{ng/ml}$ entre j21 et j24 mais déclarée non gestante après dosage de PAGs ou palpation transrectale (Pinto et al. 2000).

Compte tenu du fait que chez la vache gestante, la concentration en progesterone et PAGs sont élevées pendant toute la durée de la gestation; la détermination des avortements cliniques peuvent s'effectuer par leurs dosages dans le sang car ces avortements sont suivis d'une chute de concentration de ces hormones dans le sang (Gayrard. 2007).

- **Dosage de l'Early pregnancy factor EPF (Facteur de gestation précoce)**

De nature glycoprotéique, l'Early Pregnancy Factor (EPF) encore appelé Early Conception Factor apparaît quelques heures après la fécondation dans le sang de la plupart des espèces

animales dont la vache (Nancarrow et al. 1981), la truie (Morton et al. 1983), et la brebis (Clarke et al. 1980) Ce facteur existe en fait sous deux formes: l'une sécrétée par l'ovaire ipsilatéral à la corne gestante (EPF-B) (Nancarrow et al. 1981) et l'autre synthétisée par l'oviducte (EPF-A) (Morton et al. 1980).

La détermination de sa concentration constituerait un bon moyen d'identification des avortements si ce n'était le manque de reproductibilité de son évaluation plasmatique, imputable au fait qu'elle est influencée par de nombreux facteurs biologiques. Le dosage de l'EPF permettrait d'identifier les vaches non-gestantes entre le 6^{eme} et le 20^{eme} jour suivant l'insémination à partir d'un prélèvement de lait et entre le 6^{eme} jour et le 90^{eme} jour suivant l'insémination à partir d'un prélèvement de sang (Morton et al. 1984 ; Orozco et al. 1986).

CHAPITRE 2

LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE (IBR)

2.1. Définition et symptomatologie de la Rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR)

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est une maladie virulente et contagieuse, propre aux bovidés et caractérisée par un ensemble de manifestations cliniques disparates, entre autres une forte fièvre. Elle est due à un virus à ADN appartenant à la famille des herpesviridae et au genre varicellovirus (le BHV-1) .

Concernant la forme respiratoire, les premiers signes sont une hyperthermie majeure (40 à 42°C) durant 4 à 5 jours associée à de l'anorexie et de l'abattement. Les signes respiratoire et oculaire : larmolement séreux et ptyalisme (Thiry et Lemaire. 1997) apparaîtront en moyenne après 2 à 3 jours d'incubation. Tout cela est le signe d'une atteinte buccale et le résultat de la réponse inflammatoire et des lésions épithéliales.

La guérison spontanée est possible en une quinzaine de jours en l'absence de complications bactériennes ou virales ; mais dans la plupart des cas, on observe des pneumopathies caractérisées par du jetage abondant séreux puis mucopurulent, du cornage, de la dyspnée et des ronflements signant la présence d'exsudats laryngé et trachéal et d'un œdème laryngé. Mais il est fréquent qu'à l'auscultation pulmonaire, aucun trouble ne soit noté. Il est aussi possible d'observer des laryngites nécrotiques et de l'emphysème pulmonaire dus entre autre au virus mais aussi aux surinfections. Dans tous les cas, l'état général des animaux est très fortement affecté. Très souvent la forme respiratoire est associée à la forme oculaire qui se caractérise par une conjonctivite (présence de petites plaques blanches qui se recouvriront de fausses membranes appelé conjonctivite pseudo diphtérique ; qui est caractéristique de l'IBR) et un œdème des paupières associé à un larmolement devenant mucopurulent. Finalement on aura une détresse inspiratoire due aux débris nécrotiques dans la lumière de la trachée accompagnée de toux.

Chez les veaux en période périnatale (âgés de moins de 10 jours), vu l'immaturité du système immunitaire, le BHV-1 exercera une activité cytolytique sur l'ensemble des organes. Ils présenteront alors de l'hyperthermie, de la toux, du jetage nasal, des ulcérations digestives, du ptyalisme de l'épiphora, de la diarrhée et une broncho-pneumonie. Tout cela entrainera très rapidement la mort de l'animal (Thiry et Detilleux. 1984).

2.2. Epidémiologie

A titre d'exemple, en France, la situation épidémiologique au regard de l'IBR n'est pas homogène. Le pourcentage de troupeaux infectés varie en fonction des régions entre moins de 1% et 40%, la moyenne nationale se situant en dessous de 10%. Le taux de prévalence de la maladie est sensiblement plus bas dans les régions à vocation laitière.

Les traces sérologiques de l'infection sans qu'une manifestation pathologique n'ait été observée sont assez fréquentes. De ce fait, l'enjeu de l'IBR est essentiellement commercial, les transactions commerciales devant bénéficier de garanties sanitaires permettant d'éviter qu'un animal acheté soit excréteur de virus et puisse contaminer les animaux sains du troupeau dans lequel il aura été réintroduit. La rhinotrachéite infectieuse bovine n'est pas une maladie réglementée par l'état. Des programmes de lutte individuels ou collectifs se sont développés sur la base du volontariat des éleveurs .

En Algérie, la séroprévalence individuelle était de 20, 5% en 1996 (Jessett et Rampton. 1975). En Algérie, De janvier à mars 2015, faut-il rappeler, quelque 893 animaux au total, dont 470 génisses, 239 taurillons d'engraissement et 184 caprins, importés de France ont été interdits d'entrer sur le territoire national après avoir été diagnostiqués positifs à l'IRB selon un bilan rendu public par la Direction des services vétérinaire. Afin de freiner la retransmission de la pandémie mais aussi pour ne pas perdre le marché algérien, stratégique pour la filière bovine hexagonale avec des exportations moyennes atteignant jusqu'à 50 000 têtes par an, le ministère français de l'Agriculture a mis en œuvre ces nouvelles mesures pour préserver la bonne santé des bovins destinés au marché algérien.

2.3. Voies d'excrétion

Les virions passent dans le mucus nasal, ce qui permet la dissémination de la maladie au sein du troupeau. La période d'excrétion primaire varie de 10 à 16 jours, avec un pic d'excrétion entre le quatrième jour après infection (Thomas, 2008).

2.4. Voies de Transmission

La Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR) est transmissible de différentes manières, mais n'est pas inquiétante pour l'humain (Association Régionale de Santé et d'Identification Animales (ARSIA. 2004).

Elle se transmet surtout par contact direct. La source majeure d'infection est l'écoulement nasal. En effet, le virus se transmet principalement par contact naseau à naseau et aussi par voie aérienne lors d'éternuements et de toux (Anonyme, 1997).

Les voies de transmission du virus touchent tous les animaux, qu'ils soient attachés, en stabulation libre ou bien en parc d'engraissement par exemple. Un animal atteint peut répandre le virus par ses sécrétions et mucus 8 à 16 jours après avoir été exposé au virus (Youngquist et Threlfall. 2007). De plus, des vecteurs souillés par des matières contenant le pathogène peuvent contaminer d'autres animaux sensibles comme le bovin, mais aussi le mouton (Anonyme. 1997 ; Anonyme. 2006). Les taureaux porteurs peuvent transmettre la maladie par l'intermédiaire du sperme. La semence ainsi que les instruments utilisés pour l'insémination artificielle peuvent transmettre le IBR (Youngquist et Threlfall. 2007). Il est donc important de faire attention lors d'utilisation de semence. La contamination mère-veau est aussi envisageable. Une mère porteuse peut transmettre le virus à son veau qui deviendra ainsi porteur sain ou latent et sera séronégatif lors de test de dépistage. Cela est dû au fait que même s'il absorbe les anticorps. durant la prise de colostrum il ne développera pas d'immunité, car il considère le virus comme faisant partie de son système (Anonyme. 2006). Il ne faut pas oublier que les avortons contaminés servent aussi de source pour transmettre la maladie (Youngquist et Threlfall. 2007). De plus, les bovins adultes sont considérés comme étant le principal réservoir d'infection surtout à cause de la possibilité du virus à devenir latent (Smith. 1990). Il est alors important de surveiller davantage ces animaux, car c'est à ce niveau que les risques de transmission se trouvent être les plus élevés.



Figure 07 : voies de transmission du virus (Intervet. 2007).

2.5.Diagnostic de la Rhinotracheinte infectieuse bovine IBR

2.5.1. Diagnostic Clinique

Le diagnostic clinique de la maladie repose sur des symptômes caractéristiques:

2.5.1.1 La forme respiratoire

Forte hyperthermie (41°C), toux, jetage nasal séreux puis muco-purulent, congestion des muqueuses nasales et oculaires (Gardeux. 2007). Le virus est transporté par les leucocytes, puis pour certaines souches et après un délai moyen de deux à trois semaines par un avortement entre le cent cinquantième jour et le huitième mois de gestation parfois précédé par des symptômes respiratoires ou conjonctivaux (Abadie, 2010).



Figure 08 : affection de la bouche par BHV-1 (Mamache, 2015).

2.5.1.2 La forme génitale

Inflammation vésiculeuse et pustuleuse des muqueuses génitales externes associé à de l'anorexie et une baisse de la production de lait (Gardeux. 2007). Infertilité, Métrite, Avortement, Vulvo-vaginites pustuleuses post-coïtales et post-partales, Atteinte polymorphe des veaux nouveau-nés (respiratoire, entérite et stomatite ulcéreuse, omphalophlébite ou méningo-encéphalite), Mâle : balanoposthite et orchi-épididymite (Abadie, 2010).



Figure 09 :vulvo vaginite pustuleuse infectieuse (Mamache, 2015).

2.5.2 Diagnostic expérimentale

2.5.2.1. Les méthodes directes (Mise en évidence du virus)

2.5.2.1.1 La réalisation de prélèvements

- **Sur un animal vivant**

la réalisation de prélèvements doit se faire en priorité sur un animal vivant, au moment du pic d'excrétion du virus, donc lors de la phase d'hyperthermie. Il peut s'agir d'écouvillonnages nasaux profonds, le prélèvement est alors transporté dans un milieu de culture pour cellules contenant des antibiotiques. On peut également réaliser un lavage broncho-alvéolaire et acheminer le prélèvement sous régime du froid, en moins de 24 heures. Dans tous les cas le prélèvement est placé dans un contenant stérile (Gardeux. 2007).

- **sur un animal mort**

Il est possible de prélever des échantillons sur un animal mort depuis moins de 3 heures. Les échantillons seront alors des fragments d'organes de quelques cm, comprenant une partie de tissu lésé et une partie de tissu sain, tels que poumons et trachée. Les prélèvements sont envoyés sous régime du froid en moins de 24 heures, ou congelés si le délai d'acheminement dépasse 24 heures, dans des flacons stériles (Gardeux. 2007).

2.5.2.1.2 Recherche des antigènes viraux

La technique utilisée pour la recherche des antigènes viraux est l'immunofluorescence. On utilise des anticorps marqués par un fluochrome, de l'isothiocyanate de fluorescéine généralement (Guerin. 1994). Méthode pratiquée sur des coupes congelées de muqueuses ou d'organes présentant des lésions, ou sur des frottis de cellules nasales obtenues par écouvillonnage. Les virions ne sont pas nécessairement vivants, ce qui permet des règles d'acheminement moins strictes que pour la recherche des virions.

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

Dans la technique par immunofluorescence indirecte, on utilise des anticorps anti-BoHV-1 non marqués. On effectue un lavage. Puis on ajoute des anticorps anti-immunoglobulines et on lave à nouveau. Ceci permet d'améliorer la sensibilité du test. Malgré cela, sa sensibilité reste moyenne, le seuil de détection est supérieur à 10⁵ particules virales. Mais c'est une technique facile à réaliser, avec un résultat rapide (24h). En cas de résultats négatifs, une recherche virale sur culture cellulaire est à effectuer .

2.5.2.1.3 Isolement viral sur cultures cellulaires

C'est une technique courante car l'isolement du BHV-1 sur cultures cellulaires est facile. Pour le réaliser, il est cependant nécessaire que les particules virales aient conservé leur pouvoir infectieux. Les prélèvements utilisés doivent donc être frais et avoir été conservés sous couvert de froid (+4°C) jusqu'au laboratoire. La première étape consiste à mettre en évidence la présence du virus grâce aux effets cytopathogènes caractéristiques qu'il produit sur cultures de cellules au bout de quelques jours. Les particules de BHV-1 ainsi isolées sont ensuite identifiées par séroneutralisation, immunofluorescence ou immunoistochimie (Cassard, 2003).

2.5.2.1.4 Pcr : réaction en chaîne par polymérase (polymérase chain reaction) :

Elle permet la mise en évidence de séquences d'ADN de BHV-1 dans les prélèvements par amplification génique. Les résultats sont obtenus plus rapidement qu'avec l'isolement viral (24h) (Cassard, 2003).

2.5.2.2 Les méthodes indirectes (Mise en évidence des anticorps)

2.5.2.2.1 Réalisation des prélèvements

Le diagnostic indirect s'attache à la mise en évidence des anticorps anti-BHV-1 présent dans le lait ou dans le sang des bovins. Le prélèvement de choix correspond à 5 ml de sang sur tube sec stérile, ou du lait de mélange (lait de tank) ou du lait individuel.

Dans le cas de suspicion d'IBR clinique, on réalisera deux prélèvements à 15 jours voire 3 semaines d'intervalle, le premier ayant lieu dès l'apparition des symptômes. On cherche alors de mettre en évidence une cinétique ascendante du taux sérique d'anticorps (Jacques, 2007).

2.5.2.2.2 Réaction d'hypersensibilité retardée

Il s'agit d'un test intradermique réalisé en élevage, il permet le diagnostic indirect de BHV-1 par mise en évidence d'une réaction hypersensibilité se traduisant par une augmentation significative de l'épaisseur du pli de peau. Cette hypersensibilité de type retardée met en jeu l'immunité à médiation cellulaire de l'animal (Castrucci. 1997 ; Aguilar. 1978 ; Lemaire. 1994).

les tests d'hypersensibilité permettent de détecter les 1 à 4% d'animaux porteurs latents séronégatifs ainsi que les veaux indemnes séropositifs suite au transfert colostral (Lemaire et al, 1994) En revanche, l'hypersensibilité n'apparaît que 21 à 28 jours après primo-infection et ne permet donc pas de diagnostic précoce (Osorio. 1989 ; Guirin. 1994). De plus, ce test est un examen para-clinique de terrain les résultats sont donc variable selon l'opérateur et les conditions de réalisation (Guirin et Letemple. 1994).

2.5.2.2.3 Reactions sérologiques

Les épreuves sérologiques peuvent être utilisées à plusieurs fins :

- pour diagnostiquer une infection aiguë: des prélèvements de sérum pris sur un animal en phase aiguë et en convalescence sont examinés dans une seule épreuve. Une séroconversion de négatif en positif ou une augmentation d'au moins 4 fois du taux d'anticorps est considérée comme signe d'infection.
- pour démontrer l'absence d'infection, par exemple, dans le cadre des échanges internationaux.
- pour déterminer la prévalence de l'infection dans des études séro-épidémiologiques.
- pour participer à des programmes d'éradication et de surveillance ultérieure.
- dans un but de recherche, par exemple, pour l'évaluation de la réponse en anticorps anti-BoHV1 après vaccination et épreuve virulente (Anonyme. 2014).

2.5.2.2.3.1 Le test de séroneutralisation

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

2.5.2.2.3.2 La technique de l'Immunofluorescences indirecte

Le principe de l'immunofluorescence indirecte est de fixer des antigènes de BHV1 sur un support solide et d'y ajouter le sérum à tester. On ajoute alors des immunoglobulines marquées par un fluorochrome. Ces dernières se fixent sur les anticorps anti-BHV1 du sérum. La lecture se fait au microscope à fluorescence. De même que l'hémagglutination passive, cette technique est peu utilisée (Gardeux. 2007).

2.5.2.2.3.3 La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) est la seule technique diagnostique indirecte quantitative. La séroneutralisation permet en effet d'évaluer mais pas de quantifier l'intensité de la réponse anticorps. Il existe trois méthodes ELISA pour la détection des anticorps dirigés contre le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine :

- Technique de l'ELISA IBR anticorps totaux indirect

Cette technique est utilisée pour l'analyse individuelle lors d'achats, demande éleveur, concours en lors de la reprise des mélanges positifs IBR (GDS. 2010). L'échantillon à tester est mis au contact de déterminants antigéniques spécifiques de BHV1, qui sont adsorbés sur un support solide. La révélation des anticorps fixés sur les antigènes se fait par ajout d'anticorps anti-immunoglobulines bovines. Ces derniers sont conjugués à une enzyme. On ajoute enfin le substrat chromogène correspondant à cette enzyme et la lecture se fait au spectrophotomètre. La densité optique obtenue est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-BHV1 présents dans le sérum bovin testé (Anonyme, 2007).

- Technique de L'ELISA IBR Compétition

Cette technique est utilisée pour les mélanges de 10 sérums, et pour confirmer (ou infirmer) les résultats individuels positifs ou douteux (GDS. 2010). La technique ELISA de compétition reprend le même principe que l'ELISA indirecte mais la révélation se fait par ajout d'un sérum contenant des anticorps anti-BHV1 associés à une enzyme. Ces anticorps se fixent sur les sites antigéniques, en compétition avec les anticorps éventuellement 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 (**Menard. 2000**).

- Technique de L'ELISA IBR gE (glycoprotein E)

Cette technique est utilisée pour distinguer les animaux vaccinés (positifs en anticorps totaux, négatifs en gE) avec vaccin délété des animaux infectés (positifs en anticorps totaux, positifs en gE).

2.5.2.2.3.4 Comparaison des performances des tests sérologiques

La sensibilité d'un test traduit sa faculté à détecter de faibles quantités d'antigènes ou d'anticorps au sein d'un échantillon, c'est-à-dire à minimiser les faux négatifs. La séroneutralisation avec une pré-incubation de 24 heures est la plus sensible que celle réalisée avec une pré-incubation de 1 heure (Trybala. 1993). La sensibilité relative de la séroneutralisation par rapport aux méthodes ELISA est discutée et variable selon les tests distribués. Enfin, la technique ELISA compétition semble être la méthode la plus sensible dans la détection de faible taux d'IgG .

CHAPITRE 3

PREVALENCE DU VIRUS DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE (BHV-1) CHEZ LES VACHES AVORTEES DANS LA WILAYA DE BLIDA

3.1. Introduction

En Algérie, seule la brucellose est considérée comme maladie abortive chez les bovins (Sifi. 1995), le reste des germes ne sont pas considérés à l'heure actuelle comme abortifs. Dans ce contexte, la présente étude s'est intéressée à la recherche du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1) chez les vaches avortées dans la wilaya de blida et leur éventuelle responsabilité quant à l'induction des avortements.

Le diagnostic de l'infection par le BHV-1 peut être effectué par des méthodes directes (isolement et identification du virus) par la PCR, l'hybridation et le séquençage des acides nucléiques et par des méthodes indirectes (détection des anticorps contre le BHV-1) par la technique d'Élisa et le test de Séroneutralisation. En Algérie, la maladie a été signalée chez les bovins à travers des études menées sur la séroprévalence en utilisant la méthode ELISA tel que celles de Kaddour et al (2019) et Derrar et al (2019) ou la séroprévalence individuelle apportée était respectivement de 14.16% et 31.17%. Tandis que la séroprévalence de troupeau a variée de 50% à 58.33% (Dechicha et al. 2010, Kaddour et al. 2019). Les données citées ci-dessus illustrent l'importance de cette pathologie chez les bovins. Néanmoins, le rôle de ce virus dans la survenue des avortements a été peu étudié dans le contexte algérien. Aussi nous a-t-il paru intéressant d'évaluer à l'aide de tests ELISA la prévalence d'exposition à ce virus dans des cas d'avortements bovins à l'échelle individuelle et des troupeaux. L'utilisation du test ELISA a été privilégiée car il est sensible, spécifique, fiable et s'applique au dépistage à grande échelle.

La présence d'anticorps anti-HBV-1 a été détectée au moyen de kit ELISA (IDVET, Montpellier, France) (Figure 11). Le kit utilisé pour la recherche des anticorps anti-BHV-1 est le kit ID Screen® IBR Mixte Indirect spécifique aux bovins utilisant un lysat de BHV-1 purifié. La spécificité et sensibilité diagnostiques annoncées de ce test par le producteur sont respectivement de 100 % et 95 %.



Figure 11 : Kit Elisa utilisé lors de l'analyse sérologique [Kit Elisa : ID Screen IBR Indirect, pour la détection d'anticorps anti-BHV-1 (Herpèsvirus Bovin de type 1 – Rhinotrachéite infectieuse bovine) dans le sérum et le plasma de bovins)].

❖ La composition du kit utilisé est la suivante :

- Microplaques sensibilisées avec un antigène du virus de l'IBR (le BHV-1) ; contenant chacune 96 puits répartis en 12 colonnes (1-12) et 8 lignes (A-H).
- Conjugué concentré (10X) (stocké à 5°C (± 3°C)).
- Contrôle positif (stocké à 5°C ± 3°C).
- Contrôle négatif (stocké à 5°C ± 3°C).
- Tampon de dilution 1 (stocké entre +2°C et +26°C)
- Tampon de dilution 2 (stocké entre +2°C et +26°C)
- Solution de lavage concentrée (20X).
- Solution de révélation (stockés à 5°C ± 3°C).

- Solution d'arrêt (H_2SO_4 0,5 M).

❖ Mode opératoire

1. Ramener tous les réactifs à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au vortex.
2. Distribuer 90 μl de tampon de dilution 1 dans chaque puits.
3. Distribuer :
 - 10 μl de contrôle négatif dans les cupules A1 et B1.
 - 10 μl de contrôle positif dans les cupules C1 et D1.
 - 10 μl de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes.
4. Incuber 45 min $\pm$ 4 min à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).
5. Vider les puits. En utilisant le laveur automatique, laver 3 fois chaque cupule avec environs 300 μl de solution de lavage. Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages (Annexe 01).
6. Préparer le conjugué 1X en diluant le conjugué 10x au 1/10^{ème} en tampon de dilution 2.
7. Distribuer 100 μl de conjugué 1X dans chaque cupule.
8. Incuber 30 min $\pm$ 3 min à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).
9. Vider les puits. En utilisant le laveur automatique, laver 3 fois chaque cupule avec environs 300 μl de solution de lavage.
10. Distribuer 100 μl de solution de révélation dans chaque cupule.
11. Incuber 15 min $\pm$ 2 min à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) à l'obscurité.
12. Distribuer 100 μl de solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction.
13. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm grâce au lecteur ELISA.

Pour le kit ELISA utilisé concernant la recherche des anticorps anti- BHV-1, le principe était le suivant :

- Les cupules sont sensibilisées avec de l'extrait antigénique spécifique du virus recherché (BHV-1).
- Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques de *virus BHV-1*, s'ils sont présents, forment un complexe antigènes- anticorps.
- Après lavage, un conjugué *anti-BHV-1* marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.

- Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB).
- La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :
 - ✓ En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage.
 - ✓ En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

❖ Validation du test et interprétation des résultats

Le test est validé si (Annexe 02):

- ✓ La valeur moyenne de la densité optique des contrôles positifs (DOcp) est supérieure à 0.350 pour *Toxoplasma gondii*.

$$\text{DOcp} > 0.350$$

- ✓ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs (DOcp) et la moyenne des contrôles négatifs (DOcn) est supérieur à 3.5 pour *Toxoplasma gondii*

$$\text{DOcp/DOcn} > 3,5.$$

Ces deux conditions étant réunies, une mesure des densités optiques des échantillons testés à une longueur d'onde de 450 nm a été réalisée. Les pourcentages S/P (*sample* [pour échantillon] / *positive* [pour sérum de contrôle positif]) ont été calculés en appliquant l'équation 1 et interprétés selon la notice du fabricant des tests ELISA (Tableau 02).

$$\frac{S}{P} \% = \frac{DO \text{ échantillon} - DO \text{ controle negatif}}{DO \text{ contrôle positif} - DO \text{ controle negatif}} \times 100 \quad (\text{Équation 1})$$

Un élevage a été considéré comme séropositif si au moins une vache appartenant à cet élevage était séropositive. La séroprévalence a été calculée en divisant le nombre de sérums sérologiquement positifs sur le nombre total des sérums analysés.

Tableau 02 : Valeur des seuils d'interprétation du kit ELISA utilisé pour la détection d'anticorps anti-HBV-1

Interprétation	Virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine
Négatif	S/P % < 100 %
Positif	S/P % ≥ 100 %

ELISA : Méthode immuno-enzymatique

S/P : Sample (échantillon testé) / Positif (échantillon témoin positif)

3.2.3. Analyse statistique

Le calcul de la séroprévalence du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (HBV-1) a été réalisé à l'aide du logiciel R. les taux de séroprévalence et les intervalles de confiance exactes à 95% ont été calculés à l'aide d'epi R.

3.3.RESULTATS

3.3.1. Résultats de la séroprévalence individuelle du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1)

Le Tableau suivant (Tableau 03) présente les résultats obtenus du statut des 150 sérums sanguins de vaches avortées par technique ELISA et cela à l'encontre du virus recherché à savoir du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1).

Tableau 03 : Résultats de l'Analyse individuelle des 150 sérums de vaches avortées par la technique Elisa pour le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1).

Pathogène	Effectifs(individus)		Taux de prévalence individuelle (IC à 95 %)
	P	N	= P / (P+N)
BHV-1	85 (56,66%)	65 (43,33%)	56,66% (IC à 95% : 41,87 à 69,25)
Total	150 (100%)		

N : négatif ; P : positif ; % : pourcentage ; IC : intervalle de confiance.

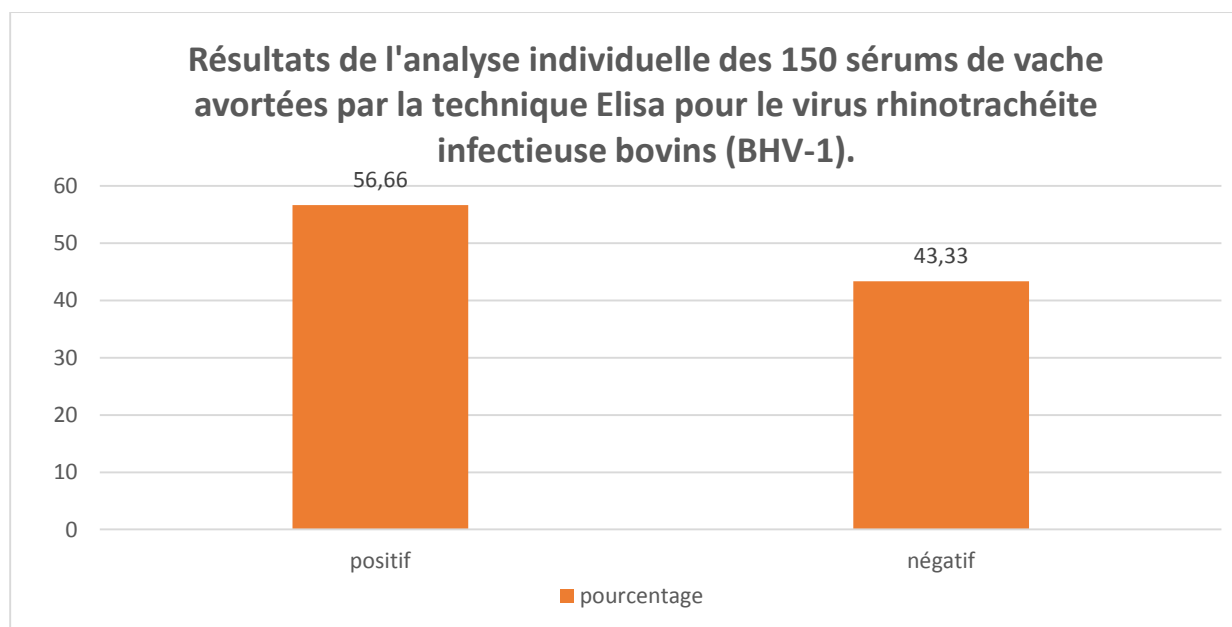


Figure 12: Histogramme du Nombre de sérums négatif, positif pour la recherche du virus rhinotrachéite infectieuse bovins (BHV-1).

Il en ressort que :

En se référant aux seuils d'interprétation fixés par le fabricant du kit ELISA utilisé par la présente étude (**Tableau 03**). Les sérums testés étaient considérés positifs si $S/P \% \geq 100 \%$ et négatifs si $S/P \% < 100 \%$.

Ainsi, sur les 150 sérums testés :

- 65 étaient considérés négatifs soit **43,33 %**
- 85 étaient considérés positifs soit **56,66 %**,

En conséquence, la séroprévalence individuelle du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1) a été de **56,66 %** (85/150) (**IC 95 % : 41,87 à 69,25**) (Tableau 03).

3.3.2. Résultats de la séroprévalence de troupeau du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1)

Le Tableau suivant (Tableau 04) représente les résultats obtenus du statut des 95 troupeaux de bovin laitier par technique ELISA et cela à l'encontre du virus recherché à savoir du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1).

Un élevage a été considéré comme séropositif si au moins une vache appartenant à cet élevage était séropositive ($S/P \% \geq 100 \%$).

Tableau 04 : Résultats de l'Analyse des 95 troupeaux de bovin laitier par la technique Elisa pour le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1).

Nombre de troupeaux		Taux de prévalence troupeaux (IC à 95 %)
P	N	= $P / (P+N)$
BHV-1	44 (46,31 %)	51 (53,68 %)
		46,31 % (IC à 95 % : 39,74 à 53,92)
Total	95 (100%)	

N : négatif ; P : positif ; % : pourcentage ; IC : intervalle de confiance.

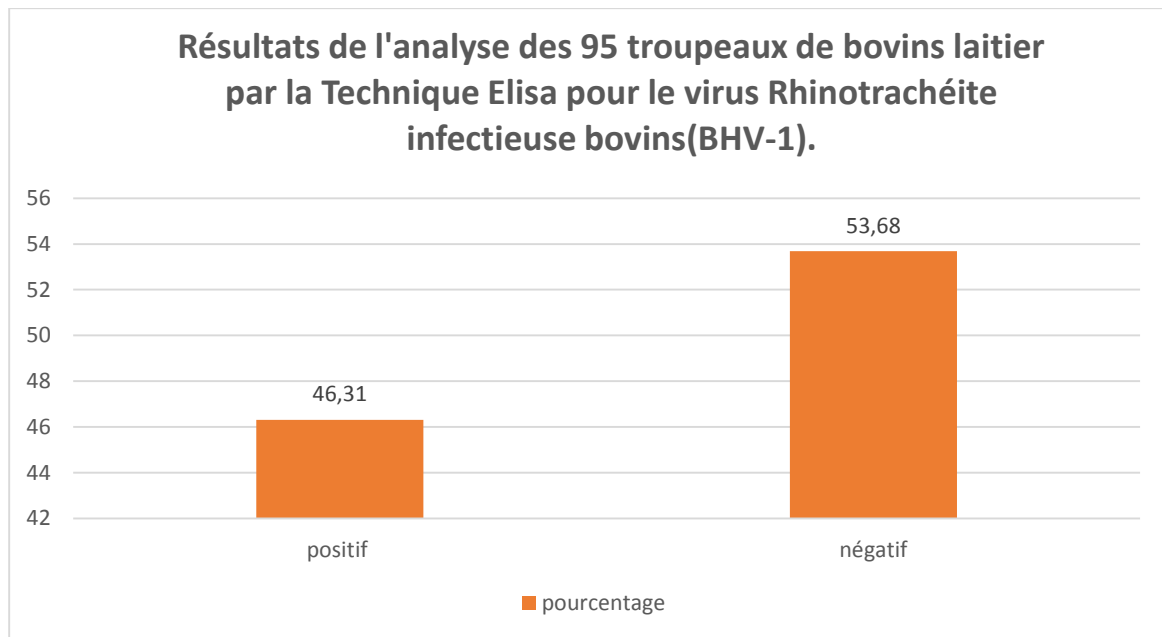


Figure 13 : Histogramme du Nombre de troupeaux négatif,positif pour la recherche du virus de rhinotrachéite infectieuse bovins (BHV-1).

Il en ressort que :

En se référant aux seuils d'interprétation fixés par le fabricant du kit ELISA utilisé par la présente étude (**Tableau 04**). Les troupeaux étaient considérés positifs si $S/P \% \geq 100 \%$ et négatifs si $S/P \% < 100 \%$.

Ainsi, sur les 95 troupeaux analysés :

- 51 étaient considérés négatifs soit **53,68 %**.
- 44 étaient considérés positifs soit **46,31 %**.

En conséquence, la séroprévalence troupeau du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1) a été de **46,31 %** (44/95) (**IC 95 % : 39,74 à 53,92**) (Tableau 04).

3.4. DISCUSSION

Cette étude avait pour principal objectif d'établir la séroprévalence à l'échelle individuelle et de troupeau du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (HBV-1), par la technique Elisa chez les vaches laitières avortées dans la wilaya de Blida en Algérie.

- La Séroprévalence individuelle du BHV-1 obtenue par la présente étude est de **56,66%**. Elle est **supérieure** aux valeurs observées par la technique Elisa dans diverses études réalisées dans le même contexte (avortement bovin) : au Maroc (50%) (Lucchese et al. 2016), en Ethiopie (55,4%) (Asmare et al. 2018) et en Turquie (19%) (Can et al. 2016). Par contre, la Séroprévalence individuelle obtenue par la présente étude (**56,66%**) est **inférieure** à celles obtenues, en Inde (61,6%) (Patil et al. 2017), au Sud Afrique (74,47%) (Njiro et al. 2011) et au Soudan de (84,3%) (Elhassan et al. 2011).
- La seroprevalence du troupeau du BHV-1 obtenue par la présente étude est de **46,31%**. Elle est **inférieure** à celles de rapportée en Algérie dans la région de la Mitidja (50%) (Dechicha et al. 2010), en Turquie (58,06%) (Can et al. 2016), en Inde (83%) (Patil et al. 2017) et en Ethiopie (81,8%) (Sibhat et al. 2018).

Malgré l'utilisation de la même technique d'analyse « ELISA », le même support biologique à savoir des sérums de vaches avortées, des différences de séroprévalence à l'échelle individuelle et du troupeau ont été notés pouvant être expliquée par des différences liés principalement au faible nombre de vaches avortées, de troupeaux visés, des conditions et la saison de réalisation des prélèvements, le délai entre la survenue de l'avortement et la réalisation des prélèvements sérologique comparé à la présente étude.

La présente étude a fait ressortir que le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine est très répandu au sein des vaches laitières avortées en Algérie. Ce qui peut être lié à l'utilisation de sperme qui peut être contaminé lors de l'insémination, à des pratiques de gestion intensive et surtout à l'introduction de nouvelles vaches/taureaux comme animaux de remplacement non sélectionnés. En effet, en Algérie, la non-pratique de vaccination des bovins contre l'IBR contribue fortement à l'augmentation de la séroprévalence suggérant ainsi que la prévalence réelle est encore plus élevée signifiant ainsi une circulation naturelle du virus plus active.

L'utilisation du test Elisa permet de suspecter un contact entre l'animal et l'agent infectieux (exposition), sans pour autant incriminer forcément cet agent comme responsable de l'avortement. Seule la mise en évidence de l'agent infectieux dans l'avorton et les produits annexes, par exemple par le biais de la méthode PCR, permettra de déterminer la responsabilité de l'agent dans l'avortement.

En définitive, notre étude a montré que la rhinotrachéite infectieuse bovine, peut être considérée comme une maladie abortive importante dans les élevages bovins laitiers dans la wilaya de Blida vus les prévalences importantes et non négligeables obtenus par la présente étude.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Cette étude a permis de confirmer la présence du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (HBV-1) chez les vaches laitières avortées dans la wilaya de Blida, d'en estimer les prévalences à l'échelle individuelle et du troupeau. Les principales conclusions qui en ressortent sont les suivantes : L'infection par *le HBV-1* est très commune chez les bovins laitiers en Algérie. La caractérisation de la prévalence du *HBV-1* constitue une première étape intéressante pour la mise de place de recommandations visant à réduire la fréquence des avortements.

A l'issu des résultats obtenus, plusieurs recommandations ont été émises tel que :

- La poursuite de la présente étude par la réalisation d'enquêtes épidémiologiques à plus large échelle associées à l'identification plus spécifiques de germe impliqué par PCR.
- Il serait souhaitable de pouvoir mettre en place une approche fédérée avec les groupements vétérinaires et les laboratoires vétérinaires et humains. Un inventaire de leurs capacités diagnostiques serait souhaitable pour pouvoir optimiser le diagnostic étiologique des avortements. Le cas échéant, le financement de ces laboratoires devrait être renforcé.
- L'augmentation des ressources destinées au fonds agricole pour dédommager les éleveurs en cas de décision de réforme des animaux pour raisons sanitaires devrait être un incitant majeur les invitant à déclarer les avortements.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ABADIE Noémie, Camille, Elodie**; thèse 2010; site internet d'aide au diagnostic des avortements bovins 71p.
2. **AGUILAR SETIEN A, PASTORET P-P., BURTON BOY G., JETIEUR P.,SCHOENAERSF** (1978)- Evaluation à l'aide de la rhénotrachéite du test d'hypersensibilité retardée au virus de la rhénotrachéite bovine. Ann. Med. Vet. 122,693-698.
3. **AKAKPO A. J., TEOU K. L., KPONMASSI T. et ZELLER I.**, 1994.,Epidémiologie des affections abortives des ruminants au Togo : enquête sérologique sur la brucellose, la Chlamydie, la fièvre Q et la fièvre de la Vallée du Rift (125-137). In Biotechnologies du diagnostic et de la prévention des maladies animales.- Paris: Ed. AUPELF-UREF; John Libbey Eurotext.
4. **ASMARE, K., SIBHAT, B., AYELET, G., GEBREMEDHIN, E. Z., LIDETE, K. A., & SKJERVE, E.** (2018). Serological evidence of Bovine herpesvirus-1, Bovine Viral Diarrhoea virus and Schmallenberg virus infections in relation to reproductive disorders in dairy cattle in Ethiopia. Acta tropica, 178, 236-241.
5. **ASSOCIATION REGIONALE DE SANTE ET D'IDENTIFICATION ANIMALES (ARSIA)**. 2004. IBR. . http://www.arsia.be/pages_web/FR/Actu_sanitaire_IBR.htm . Page consultée le 27 janvier 2007.
6. **AYALON N.**, 1978.A review of embryonic mortality in cattle. Reprod. Fertil. 54: 483-493.
7. **BERNARD G. et BOURDIN P.**, 1971.Etat immunitaire actuel, naturel ou acquis du cheptel sénégalais vis-à-vis de la peste bovine, de la maladie des muqueuses, de la Rhinotrachéite infectieuse et de la maladie respiratoire & virus parainfluenza III.Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 24 : 183-189.
8. **Bulletin des GTV**. n°4. 1997. IBR (Infectious Bovine Rhinotracheitis) : la rhinotrachéite Infectieuse Bovine. [http://www.urgtvbretagne.com/documents/IBR1](http://www.urgtvbretagne.com/documents/IBR1.pdf) .pdf . Page consultée le 27 janvier 2007.
9. **BYRNE W.J., BRENNAN P., MC CORMACK R. et BALL H.J.**, 1999. Isolation of Mycoplasma bovis from the abomasal contents of an aborted bovine fetus. Vet. Rec., 144 (8): 211-212.

10. **CAN, M. F., V. S. ATASEVEN, C. YALÇIN:** Estimation of production and reproductive performance losses in dairy cattle due to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) infection. Vet. arhiv 86, 499-513, 2016.
11. **CASSARD Hervé, Max, Louis.**infection croise a alphaherpesvirus chez les ruminants: application au controle de la rhinotracheite infectieuse bovine /thèse pour obtenir le grade de docteur veterinaire, dimplome d'etat, présenté et soutenue publiquement en 2003 devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
12. **CASTRUCCI G., MARTIN W.B., FRIGERI F., FERRARI M., SALVATORI D., TAGLIATI S., CUTER V.;** A serological survey of bovine herpesvirus 1 infection in selected dairy herds in northern and central Italy: Comp. Immun. Microbiol. Inf. Dis., 1997, 20 (4), 315-317.
13. **CLARKE F.M., MORTON H., ROLFE B.E. et GIDLEY-BAIRD A.A.,** 1980. Partial characterization of early pregnancy factor in the sheep.
14. **DECHICHA A, GHARBI S, KEBBAL S, CHATAGNON G, TAINTURIER D, OZROUT R, GUETARNI D.** 2010. Serological survey of etiological agents associated with abortion in two Algerian dairy cattle breeding farms. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health 2: 001–005.
15. **DELAFOSSÉ F., GOUTARD E. et THEBAUD,** 2002.,Epidémiologie de la tuberculose et de la brucellose des bovins en zone périurbaine d'Abéché- Tchad. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.55 (1): 5-13.
16. **DERRAR, S., AGGAD, H., HAMMOUDI, A., SAIM, M. S., AYAD, M. A., BENZINEB, F. Z & ABDELLI, A.** (2019). Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus-1 infection in the region of Tiaret, Algeria. Veterinaria, 68(3).
17. **DU TERRAIL Thomas;** 2008, Maladies virales bovines a expression cutanée. Thèse: Med ph: 2008, p
18. **ELHASSAN AM, MA FADOL AND AM EL-HUSSEIN,** 2011. Seroprevalence of bovine herpes virus-1, bovine herpes virus-4 and bovine viral diarrhea virus in dairy cattle in Sudan. Pak Vet J, 31(4): 317-320.
19. **FLEURQUIN THIERRY:** Revu Agricole Du 27/05/2013 Publié Par Le Docteur Vétérinaire Nyaabinwa Pascal Synthèses Sur Le Plan Règlementaire Des Connaissances Actuelles Sur Les Avortements Chez La Vache Laitière Ucad-Eismv- Doctorat En Sciences Et Médecines Vétérinaires 2009.
20. **GAINES J.D.,** 1989.,Investigating the role of infectious diseases and toxins in the subfertile dairy herd. Vet. Med.: 1195-1199.

21. **GALLOIS N.**, 1988. Les avortements mycosiques chez les femelles domestiques. Thèse: Méd. Vét., Lyon; 209.
22. **GARDEUX, FANNY.** *Recherche du virus BHV1 dans les ganglions trijumeaux des bovins dans le cadre de la gestion nationale de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR).* Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2007, 115 p.
23. **GDS.** 2005. Cartes T IBR : à renvoyer rapidement !
<http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/8cb279f7ace047aac1256c0f004cf0d5/02cd580fc5c707c1c1257068005bac26!OpenDocument> . Page consultée le 27 janvier 2007.
24. **GDS.** 2006. La Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR).
<http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/8cb279f7ace047aac1256c0f004cf0d5/c714c58a2141212>
25. **GDS.** 2010. la rhénotrachéite infectieuse bovine « une maladie avec des consequence clinique plus que clinique » [en ligne] adresse URL : www.Lot.Chamb.agri.fr
26. **GDS.,** 2008. Cartes BVD [en ligne] Accès internet:
27. **GRANULO-Pustular vulvovaginitis** [en ligne] **adresse URL: www.ijvm.org.il** page consulter Oct 2015. (Photo)
28. **GROOMS D.**, 2004. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin Food Anim*, 20: 5-19.
29. **GUERIN B.** Le diagnostic de la rhinotrachéite infectieuse bovine et de la vulvo-vaginite Pustuleuse infectieuse. In: NAVETAT H, ESPINASSE J. Les infections à herpesvirus chez les Bovins-Journée SFB et GRDEPV, Veyrier-du-Lac, 3 novembre 1994, Société Française de Buiatrie, Toulouse, 25-38.
30. **GUIRIN B.**, (1994) Le diagnostic de la rhinotrachéite infectieuse bovine et de la vulvovaginite pustuleuse infectieuse (IBR/IPV). *Soc. Bui.Fr., les infections à herpesvirus chez les bovins*, Veyrier du lac, 3 novembre 1994, 35-34.
31. **HABIMANA S.**, 2008. Evaluation de la séroprévalence et impact des maladies abortives sur la réussite de l'Insémination artificielle bovine au Sénégal. Thèse: Méd. Vét.: Dakar; 36.
32. **HANZEN C. et LAURENT Y.**, 1991. Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et à l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espace. *Ann. Méd. Vét.*, 135: 481- 487.
33. **HANZEN C.**, 2004: Les avortements chez les ruminants et les espèces équine et porcine. [En ligne] Accès internet: www.tilosine.googlepages.com/avortements-sidvet. ppt (Page consultée le 20/06/2009).

34. **HANZEN C.H.**, 2008a. Le constat de gestation chez les ruminants. [En ligne] Accès internet: www.fmv.ulg.ac.be/oga/notes/R05Constatgestation2008.pdf (Page consultée le 20/02/2009).
35. **HANZEN, C.** (2015). Pathologies : Les pathologies de la gestation chez les ruminants. (ULiège - Université de Liège, VETE2078-1 : Gestion de la santé et des productions des ruminants). <https://hdl.handle.net/2268/70605>
36. **HASKOURI H.**, 2001. Gestion de la reproduction chez la vache: Insémination artificielle et détection des chaleurs chez la vache.-Rabat: Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Dép. Reprod. Anim. Insém. Artif., Maroc.-11p.
37. <http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/97cf3f4f3fcb8f8bc1256c0f004d4913/276cbb626f8ff284c1256c87003c3e9e!OpenDocument>.
38. **HUMBER A.**, 1995., Etude bibliographique des causes infectieuses et parasitaires d'avortement chez les petits ruminants.
39. IBR velerinair centrum someren (en ligne] adresse [URL: www.vc-someren.nl](http://www.vc-someren.nl) page consulter Oct 2015. (Photo)
40. **INTERVET.** 2007. Virusverspreiding. http://images.google.ca/imgres?imgurl=http://www.intervet.nl/binaries/57_106207.jpg&imgrefurl=http://www.intervet.nl/Nieuws/Rund/IBR/Virusverspreiding.asp&h=181&w=300&sz=35&hl=fr&start=2&tbnid=LqtyYLoQ_TMY6M:&tbnh=70&tbnw=116&prev=/images%3Fq%3Dvirus%2Bibr%26svnum%3D10%26hl%3Dfr . Page consultée le 11 février 2007.
41. **JAQUE RABEYRIN MATHIAS SIMON.** la rhinotracheite infectieuse bovine organisation des moyens de lutte dans le cadre d'une certification nationale .thèse: presente a l'universite claude bernard de lyon (médecine-pharmacie)
42. **JESSETT DM, RAMPTON CS.** The incidence of antibody to infectious bovine rhinotracheitis virus in Kenyan cattle. Res Vet Sci. 1975 Mar;18(2):225-6. PMID: 165572.
43. **KADDOUR, A., BOUYOUCHEF, A., FERNANDEZ, G., PRIETO, A., GEDA, F., & MOULA, N.** (2019). Bovine herpesvirus 1 in the northeast of Algiers, Algeria: Seroprevalence and associated risk factors in dairy herd. Journal of advanced veterinary and animal research, 6(1), 60.
44. **LEGEA Y.**, 1974., Recours de l'acheteur d'un animal brucellique (loi du 21/12/72). Thèse: Méd. Vét: Lyon; 064.
45. **LEMAIRE M., THYRY E.**, (1994)-le contrôle de l'infection par le virus de la rhénotrachéite infectieuse bovine Ann. Méd. Vét., 138, 167-180.

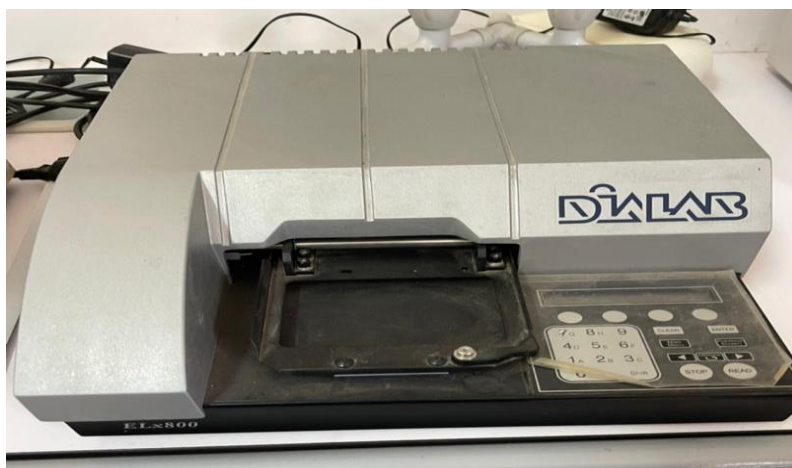
46. **LETEMPLE R.** (1994); La réaction de polymérisation en chaîne en médecine vétérinaire: méthodologie et application à la détection du virus de l'IBR dans la semence. Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Paul-Sabatier, Toulouse p84-103.
47. **LUCCHESI, L., BENKIRANE, A., HAKIMI, I., EL IDRISSI, A., NATALE, A.,** 2016. Seroprevalence study of the main causes of abortion in dairy cattle in Morocco *Veterinaria Italiana*. 52 (1), 13-19.
48. **MENARD M.F., PERRIN M.** Le diagnostic de laboratoire de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR). *Bulletin des GTV*, 2000, 7, 145-149.
49. **MILLEMANN Y.,**2000.,La listériose des ruminants: diagnostic, traitement et prévention. *Point vét.*, 31(208):317-322
50. **MORTON H.,** 1984.Early pregnancy factor (EPF), a link between fertilization and immunomodulation. *Aust. J. Biol. Sci.*; 37: 393-407.
51. **MORTON H., MORTON D.J. et ELLENDORF F.,** 1983.The appearance and characteristics of early pregnancy factor in the pig. *J. Reprod. Fert.*, 68: 437- 446.
52. **NANCARROW C.D., WALLACE A.L.C. et GREWAL A.S.,** 1981.
53. **NJIRO, S. M., KIDANEMARIAM, A. G., TSOTETSI, A. M., MNISI, M., LUBISI, B. A., POTTS, A. D & KALAKE, A.** (2011). A study of some infectious causes of reproductive disorders in cattle owned by resource-poor farmers in Gauteng Province, South Africa. *Journal of the south African veterinary association*, 82 (4), 213-218.
54. **NyaabinwaPascal** ;Synthèses Sur Le Plan Règlementaire Des Connaissances Actuelles Sur Les Avortements Chez La Vache Laitière .Ucad-Eismv- Doctorat En Sciences Et Médecines Vétérinaires 2009.
55. **OIE, 2010.** Terrestrial manual chapter 2.4.13. Infectious Bovine Rhinotracheitis / Infectious PustularVulvovaginitis.http://web.oie.int/eng/normes/MANUAL/2008/pdf/2.04.13_IBR_IPV.pdf.
56. **OIE. 2005.** Rhinotrachéite infectieuse /vulvovaginite infectieuse pustuleuse; Manuel terrestre de l'OIE 2005, [en ligne] adresse URL : web.oie.int/fr/normes/mmanual/pdf-fr/chapitre%20final05%202.3.5.RI-VTP.pdf, 534,535(page consulté mars 2014).
57. **OKEKE E. N. ,**1976.Une étude sur les maladies à caractère bovipestique au Nigeria : évidence préliminaire : sérologique pour l'existence de diarrhée bovine virale.*Bull. anim.: Prod. Afr.*, 24: 5-8.

58. **OLLOY A.**, 1992.Contribution à l'étude épidémiologique des maladies infectieuses abortives chez les bovins au Congo,Thèse : Méd. Vét.: Dakar; 26.
59. **OMS**.Organisation Mondiale de la Santé. guide pour la sélection et l'acquisition du matériel et des accessoires. (2010).
60. **OROZCO C., PERKINS T. et CLARKE F.M.**, 1986.Platelet-activating factor induces early pregnancy factor in female mice. J. Reprod. Fertil., 78: 549-555.
61. **OSORIO F. et coll**, (1989)-detection of bovine herpesvirus 1-spécific IgM using a capture enzyme immunosorbent assay with isotype-specific monoclonal antibodies J.Vét.Diag.invest. 1,139-145.
62. **PATIL, S. S., PRAJAPATI, A., KRISHNAMOORTHY, P., DESAI, G. S., REDDY, G. B. M., SURESH, K. P., & RAHMAN, H.** (2017). Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in organized dairy farms of India. Indian Journal of Animal Research, 51(1), 151-154.
63. **PINTO A., BOUCA P., CHEVALLIER A., FRERET S., GRIMARD B., et HUMBLLOT P.**, 2000.Source de variation de la fertilité et des fréquences de mortalité embryonnaire chez la vache laitière.Renc. Rech. Ruminants, 7: 213-215.
64. **POLI C.**, 2007.La mortalité embryonnaire chez les bovins. Thèse: Méd.Vét.: Lyon; 77.
65. **PROVOST A., BGGEL K., BORREDON C. et MAURICE**, 1964.La maladie des muqueuses en Afrique Centrale. Observations cliniques et épizootiologiques.Rev. Elev. Méd. vét. Pays-trop., 20: 27- 49.
66. **ROY C.**, 2007.Rh i notrachéite Infectieuse Bovine (I BR). Séminaire en sciences animales SAN-12474.
67. **RUFENACHT J.**, 2001.The effect of infection with bovine viral diarrhea virus on the fertility of Swiss dairy cattle .Theriogenology.; 56:199-210.
68. **SEAL**, 2007.Infectious Bovine Rhinotracheitis. Beef Cattle Handbook. BCH-3220.[En ligne]. Accès internet <http://www.iowabeefcenter.org/pdfs/bch/03220.pdf>. (Page consultée le 19/05/2009).
69. **Shewen et al.** 1986 Chlamydial infection of the bovine reproductive system (279-282): in: morrow DA (ed): current therapy in therionogenology.
70. **SIBHAT, B., AYELET, G., SKJERVE, E., GEBREMEDHIN, E. Z., & ASMARE, K.** (2018). Bovine herpesvirus-1 in three major milk sheds of Ethiopia: Serostatus and association with reproductive disorders in dairy cattle. Preventive veterinary medicine, 150, 126-132.

71. **SIFI M.** (1995). – Décret exécutif n° 95-66 du 22 ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995 fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables. *JORA*, **012**, 4 pp. Disponible en ligne : <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/alg64256.pdf>.
72. **SMITH, BRADFORD P.** 1990. Large Animal Internal Medecine. The C.V. Mosby Company. 1787 pages. Pages 247 et 571-572.
73. **STRAUB**, 1991.BHV-1 Infections: Relavance and spread in Europe. *Comparative Immunology, Micro biology and Infectious Diseases*, 14: 175-186.
74. The early pregnancy factor of sheep and cattle. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*; 30: 191-1 99.
75. **THIRY, E, AND M, SCHYTS F, VANDERHEIJDEN N, MEYER G, DISPAS M,** Pastoret PP Lemaire. "La rhinotrachéite infectieuse bovine : caractéristiques du virus, l'infection et ses manifestations cliniques." *Bull GTV*, 4, 1997: 7-16.
76. **THIRY, E, AND P, DE VRIESE A, PIRAK M,** Pastoret PP Detilleux. "La rhinotrachéite infectieuse bovine en période néonatale : revue et exposé d'un cas." *Ann Med Vet*, 128, 1984: 33-40.
77. **THYS E., 2005.**,Etude de la prévalence de la brucellose bovine en zone forestière de la Côte d'Ivoire. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 58: 205-209.
78. **TRYBALA E., WISNIEWSKIJ., KALICIM.,** (1993) - Evaluation of three serological tests and skin tests to diagnose IBR IPV virus infectious in cattle. *Bull. vét* 63, 30-31.
79. **YOUNGQUIST, ROBERT S. ET THRELFALL, WALTER R. 2007.** Current Therapy in Large Animal Theriogenology 2. Second Edition. 1061 pages. Pages 404-406.

LES ANNEXES

ANNEXE 01 : L'APPAREILLAGE UTILISE POUR L'ANALYSE PAR LA TECHNIQUE ELISA (LAVOIR, LECTEUR ELISA ET L'IMPRIMANTE)



ANNEXE 02 : FICHES DU KIT ELISA UTILISE

ID.vet
Innovative Diagnostics

Système de
management
certifié



ID Screen[®] IBR Mixte Indirect



Kit pour la détection des anticorps anti BHV-1 par ELISA indirect sur sérum
individuel et mélange

Usage *in vitro*

IBRMIXTE ver 0514 FR

IDvet, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95
www.id-vet.com - E-mail: info@id-vet.com

Information générale

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre le BHV-1 (anticorps totaux).

Il peut être utilisé sur sérum individuel et mélange de sérums jusqu'à 10.

Description et principe

Les cupules sont sensibilisées avec du lysat de BHV-1 purifié.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps anti-BHV-1, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-ruminant marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps anti-BHV-1, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une Solution de Révélation (TMB).

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester:

- en présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage
- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration

La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 450 nm.

Composants du kit

Réactifs
Microplaques sensibilisées avec du lysat de BHV-1
Conjugué concentré 10X
Contrôle Positif
Contrôle Négatif
Tampon de Dilution 2
Tampon de Dilution 3
Solution de Lavage concentrée 20X
Solution de Révélation (TMB)
Solution d'Arrêt (0.5 M)

1. Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C ($\pm 3^\circ\text{C}$)
2. Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26°C.
3. Les composants portant la même dénomination.

Solution de lavage, Tampons de dilution, Solution de révélation peuvent être utilisés dans l'ensemble de la gamme IDvet.

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Pipettes de précision mono ou multi -canaux capables de délivrer des volumes de 10 μl , 100 μl , 200 μl .
2. Embouts de pipette à usage unique
3. Lecteur de microplaques à 96 puits
4. Eau distillée ou désionisée
5. Système de lavage manuel ou automatique

Remarques et précautions d'emploi

1. Ne pas pipeter à la bouche.
2. La Solution de Révélation peut être irritante pour la peau.
3. La solution d'arrêt peut être nocive en cas d'ingestion et peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau (R22-43). Eviter le contact avec la peau (S24-37).
4. Ne pas exposer la Solution de Révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
5. Décontaminer tous les réactifs avant élimination.

Préparation des échantillons

Pour réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, il est possible de préparer une microplaque de 96 puits contenant les échantillons à tester et les échantillons de contrôle, puis de les transférer dans la plaque ELISA avec une pipette multicanaux.

Préparation de la Solution de lavage

Si nécessaire, ramener la Solution de Lavage concentrée (20x) à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.

Préparer la **Solution de Lavage (1X)** par dilution au $1/20^{\text{ème}}$ la Solution de Lavage 20X dans de l'eau distillée/désionisée.

Mode opératoire

Ramener tous les réactifs à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au Vortex.

1. Le sérum est dilué au 1/5 en **Tampon de Dilution 2**.
 - a. Distribuer 80 μl de **Tampon de Dilution 2** dans chaque puits
 - b. Distribuer:
 - 20 μl de **Contrôle Négatif** dans les cupules A1 et B1.
 - 20 μl de **Contrôle Positif** dans les cupules C1 et D1
 - 20 μl de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes.
2. Incuber **90 minutes $\pm$ 6 minutes** à 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).
3. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 μl de **Solution de lavage**. Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages.
4. Préparer le **Conjugué 1X** en diluant le **Conjugué 10x** au $1/10^{\text{ème}}$ en **Tampon de Dilution 3**.
5. Distribuer 100 μl de **Conjugué 1X** dans chaque cupule.
6. Incuber **30 minutes $\pm$ 3 minutes** à 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).
7. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 μl de **Solution de lavage**.
8. Distribuer 100 μl de **Solution de Révélation** dans chaque cupule.
9. Incuber **15 minutes $\pm$ 2 minutes** à 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) à l'obscurité.
10. Distribuer 100 μl de **Solution d'Arrêt** dans chaque cupule pour arrêter la réaction.
11. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Validation

Le test est validé si:

- ✓ la valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0.350.

$$DO_{CP} > 0.350$$

- ✓ le rapport entre la moyenne des contrôles positifs (DO_{CP}) et la moyenne des contrôles négatifs (DO_{CN}) est supérieur à 3.

$$DO_{CP} / DO_{CN} > 3$$

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le pourcentage S/P (S/P%):

$$S/P\% = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} \times 100$$

Sérum individuel

Les échantillons présentant un S/P%:

- inférieur à 100 % sont considérés comme négatifs.
- supérieur ou égal à 100% sont considérés comme positifs.

Résultat	Statut
S/P % < 100%	NEGATIF
S/P % ≥ 100%	POSITIF

Mélange de sérums

Les échantillons présentant un S/P%:

- inférieur à 45 % sont considérés comme négatifs.
- supérieur ou égal à 45% sont considérés comme positifs.

Résultat	Statut
S/P % < 45 %	NEGATIF
S/P % ≥ 45 %	POSITIF