

République Algérienne Démocrate
Ministère de l'Enseignement Supérieur



850THV-1

Université Blaise Pascal
Institut des Sciences Vétérinaires



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Docteur Vétérinaire

Thème :

*Synthèse bibliographique sur la maladie de
Schmanllenberg*

Présenté par :

Belmahi Redhouane & Berkouk Mohamed

Membres du jury

Dr. Sahraoui N.

Dr. Dechicha A.

Promotion 2013 / 2014

Remerciements

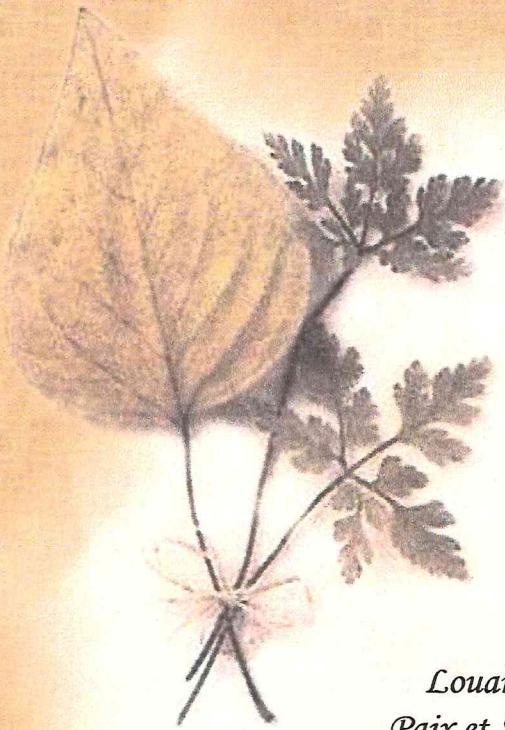
Nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage de pouvoir terminer du modeste travail

*On ne saurait remercier assez **Dr. Metref** pour nous avoir proposé ce sujet et dirigé nos travaux par les conseils qu'il nous a prodigués et enfin pour ses encouragements.*

Nous remercions également le jury pour avoir bien voulu examiner notre travail

Et à tous ceux qu'on ne peut citer mais qui se reconnaîtront....

Et pour être sûr de n'oublier personne que tous ceux qui de près ou de loin ont contribué par leurs conseils leurs encouragements ou leur amitié à l'aboutissement de ce modeste travail trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance



DEDICACES

*Louange à Allah, maître de l'univers.
Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed*

*A mon défunt grand-père que j'ai tant chéri ainsi qu'à mes très chers
parents qui ont consenti d'énormes sacrifices pour me voir réussir, pour l'initiation de la
vie qu'ils m'ont donnée, tous les conseils et encouragements
qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études.
je leur dois reconnaissance et gratitude.*

A mes frères Samir et Hamza, et ma sœur lilia.

A mes cousines en particulier Hassina

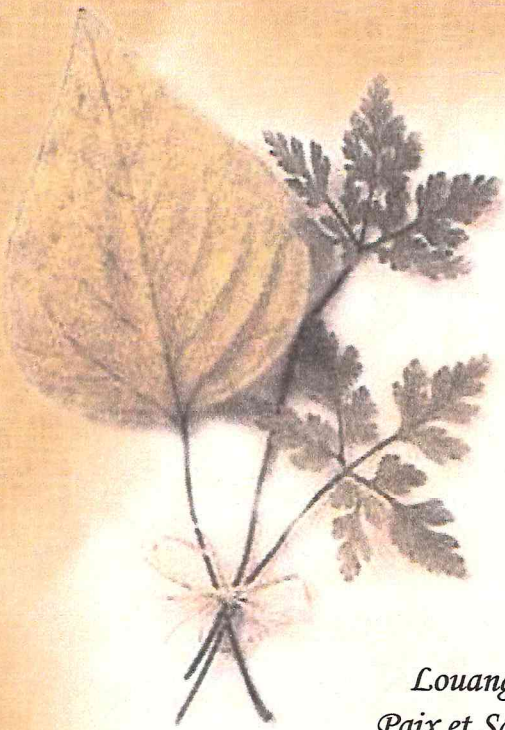
A mon promoteur : M.METREF Ahmed

A tous mes amis : Ahcene, Djamel, Nadime, Redhouane, said, Mounir, bilal et hassina

A mes camarades de promotion 2009 que j'apprécie beaucoup.

A vous tous, merci de votre amitié.

BERKOUK Mohamed



DEDICACES

*Louange à Allah, maître de l'univers.
Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed*

A toi ma chère maman, source du plus précieux soutien, pour ta douceur, ta bonté et ta précieuse tendresse, je te témoigne respectueusement ma reconnaissance et ma gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi depuis ma naissance,

A toi mon cher père, merci infiniment pour tout. Pour l'éducation que tu m'as donnée, pour l'enseignement de la vie, pour ton dévouement et pour les sacrifices que tu t'es imposé pour m'assurer la belle vie et la réussite,

*A ma deuxième famille surtout les chers parents Amer et Hafidha Bechou, mes sœurs, mon frère Mohamed, et particulièrement la petite sœur Hadil
Je vous dédie cette thèse avec tout mon amour*

A ma fiancée R, Bechou

*Surtout de m'avoir soutenu pendant toute cette longue période...
maintenant je veux partager ce moment de bonheur avec toi*

A mes frères Abderahman, Hicham, et Walid.

A mon promoteur : M. METREF Ahmed

A tous mes amis : Abderahman, Imad, Hakim, Mohamed, Abdelhak, Sofiane, Khirdine, et Aboubakre,

A mes camarades de promotion 2009 que j'apprécie beaucoup.

A vous tous, merci de votre amitié.

BELMAHI Redhouane

Résumé

Depuis sa découverte en 2011, la maladie à virus de Schmallenberg continue à gagner plus d'espace. En effet, les premiers cas ont été déclarés au Nord de l'Europe à savoir l'Allemagne, les Pays-Bas, la Belgique et le Royaume-Uni. Par la suite, le virus s'est propagé vers le Sud pour être déclaré en France, en Italie, et en Espagne.

La maladie à virus SBV est une arbovirose à transmission vectorielle non zoonotique. Elle affecte beaucoup plus les ruminants domestiques à savoir les bovins, les ovins, et les caprins. Mais aussi, il peut toucher les ruminants sauvages et le bison.

L'importance portée à cette arbovirose est justifiée par les pertes économiques engendrées en élevage bovin, ovin et caprin entre autre, avortements, problèmes de fertilité, diminution de la production laitière, et baisse de l'état général.

Le diagnostic de cette maladie est basé sur des tests sérologique notamment l'ELISA, la séroneutralisation et l'Immunofluorescence Indirecte (IFI). En effet, ces trois techniques ont montré une bonne sensibilité et spécificité. Par contre la Polymérase Chain Réaction (PCR) est recommandée en cas d'avortement afin de mettre en évidence le matériel génétique du virus.

Etant donné que cette maladie est causée par un virus, le traitement reste inexistant. Néanmoins un traitement symptomatique pourra être administré afin d'éviter les surinfections.

La prophylaxie quant à elle, demeure basée sur la lutte anti-vectorielle, et cela par pulvérisation d'insecticides en période d'activité des *Culicoides*. En Europe, des travaux de recherche ont été initiés dans l'objectif de préparer un vaccin efficace contre le virus de SBV. En Aout 2013, la France a déjà donner son autorisation de mise sur le marcher d'un vaccin anti SBV initiant ainsi la lutte médicale contre cette arbovirose.

Summary

Since its discovery in 2011, the disease Schmallenberg virus continues to gain more space. Indeed, the first cases were reported in Northern Europe as Germany, Netherlands, Belgium and the United Kingdom. Thereafter, the virus has spread to the South to be declared in France, Italy, and Spain.

The disease virus is an arbovirus SBV non-vector-borne zoonotic. It affects more domestic ruminants as cattle, sheep, and goats. But also, it can affect wild ruminants and buffalo.

The importance given to this arbovirus is justified by the economic losses caused by cattle, sheep and goat farming among other things, abortions, fertility problems, decreased milk production, and reduced general condition.

The diagnosis of this disease is based on serological tests including ELISA, neutralization and Indirect Immunofluorescence (IIF). Indeed, these three methods have shown good sensitivity and specificity. By Polymerase Chain Reaction against (PCR) is recommended in order to abortion to highlight the genetic material of the virus.

Since this disease is caused by a virus, the treatment is non-existent. Nevertheless symptomatic treatment may be administered to prevent infections.

Prophylaxis meanwhile, remains based on vector control, and that spray insecticide activity period of *Culicoides*. In Europe, research has been initiated in order to prepare an effective vaccine against SBV virus. In August 2013, France has given its authorization for the work of an anti SBV vaccine and initiating the medical fight against this arbovirus.

المخلص

منذ اكتشافه في عام 2011، لا يزال مرض فيروس (Schmallenberg) في توسع جغرافي دائم. في الواقع، تم الإبلاغ عن الحالات الأولى في أوروبا الشمالية (ألمانيا وهولندا وبلجيكا والمملكة المتحدة). بعد ذلك، انتشر الفيروس إلى الجنوب إلى أن أعلن في فرنسا، وإيطاليا، وإسبانيا. فيروس المرض ينتقل بالنواقل الحيوية (المفصليات). الفيروس يؤثر على أكثر المجترات المحلية كالأبقار والأغنام، والماعز. ولكن أيضا، يمكن أن يؤثر على الحيوانات المجترة البرية والجاموس. وتبرز الأهمية المعطاة لهذا المرض بالخسائر الاقتصادية الناجمة عنه، خصوصا الإجهاض، ومشاكل الخصوبة، وانخفاض إنتاج الحليب، والتدهور الصحي. ويستند تشخيص هذا المرض على الاختبارات المصلية بما في ذلك (ELISA)، وطرق التحديد المناعي الغير مباشرة

في الوقت الحالي العلاج غير موجود. ومع ذلك علاج الأعراض يمكن أن نتدارك به لمنع انتشار العدوى. وفي الوقت نفسه، لا نزال نعتمد على مكافحة ناقلات الأمراض، والحشرات بالرداذ خصوصا اثناء فترة نشاط البعوض. في أوروبا، وقد بدأ البحث من أجل إعداد لقاح فعال ضد الفيروس. في شهر أغسطس عام 2013، منحت فرنسا تفويضه للعمل لقاح مضاد والشروع في محاربة هذا الفيروس.

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

CHAPITRE I : Généralité sur le virus de schmallenberg :

1. Définition	2
2. Historique.....	2
3. Morphologie et propriété de virus Schmallenberg.....	3
3.1 Morphologie	3
3.2 Propriété	4
4. Pathogénie	5
5. Transmission.....	6
5.1 Transmission vectorielle	6
5.2 Transmission horizontale	7
5.3 Transmission verticale	7

CHAPITRE II : Caractéristique du vecteur :

1. Définition et Systématique.....	8
1.1 Définition	8
1.2 Taxonomie	9
2. Biologie de vecteur	9
2.1 Cycle de vie	9
2.2 Morphologies des <i>Culicoides</i>	10
2.3 Reproduction des <i>Culicoides</i>	13
2.4 Milieux de vie.....	14
2.5 Facteurs influençant la biologie des <i>Culicoides</i>	14
2.6 Facteurs favorisant la dissémination de la maladie	15

CHAPITRE III : Epidémiologie :

1. Impacte de la maladie en Algérie.....	17
2. Epidémiologie en Europe.....	17
3. Epidémiologie descriptive	21

CHPITRE IV : Diagnostic :

1. Diagnostic épidémio - clinique.....	23
1. 1 Adultes (Bovins).....	23
1. 2 Malformations et mortinatalité (Veaux, agneaux et chevreaux)	23
2. Diagnostic différentiel	25
2. 1 Infection aiguë chez les animaux adultes	25
2. 2 Malformations chez les veaux, les agneaux et les chevreaux	25
4. Diagnostic biologique (de laboratoire)	26
5. Démarche diagnostic	27

CHPITRE V : Lutte :

1. Conduit à tenir	30
2. Traitement	30
3. Prophylaxie sanitaire.....	30
4. Prophylaxie Médical	32
4. 1 Vaccination	32

Liste des tableaux

Tableau 1 : Présentation des habitats larvaires des espèces du genre *Culicoides*.

(*Diptera* : *Ceratopogonidae*) vectrices du SBV. (page : 14)

Tableau 2 : Situation épidémiologique en Europe au 2012. (page : 18)

Tableau 3 : Signes cliniques observés chez les mères et la progéniture chez les troupeaux atteints ou non de SBV durant la période de février à mai 2012. (page : 25)

Tableau 4 : Echantillons à prélever en cas de suspicion d'atteinte par le virus Schmallenberg.
(page : 28)

Liste des figures

- Figure 1** : Schéma d'un virus appartenant à la famille des *Bunyaviridae* (page : 4)
- Figure 2** : Schéma du mode de réplication des Bunyavirus au sein de la cellule hôte (page : 6)
- Figure 3** : Mode de dissémination du SBV par l'intermédiaire d'un moucheron vecteur (page : 7)
- Figure 4** : Comparaison entre la taille d'un moucheron piqueur (*Culicoides scoticus*) (à gauche) et d'un moustique (*Culex sp.*) (à droite), tous deux femelles (page :8)
- Figure 5** : Quelques exemples des milieux favorables au développement larvaire de *culicoïdes* vecteurs de la maladie de Schmalenberg (page : 9).
- Figure 6** : Cycle de vie des moucherons du genre *Culicoïdes* (page : 10).
- Figure 7** : Représentation d'une aile de femelle *Leptoconops australiensis* (en haut), *Forcipomyia townsvillensis* (au centre) et *Culicoides marmoratus* (en bas) (page : 11).
- Figure 8** : Représentation d'une femelle *Culicoides brevitarsis*, ailes ouvertes et de profil (page : 12).
- Figure 9** : Distribution De Virus en Europe (page : 19)
- Figure 10** : Distribution De Virus en France (page : 19)
- Figure 11** : Evolution de l'incidence des formes congénitales de SBV en France par semaine de suspicion et par espèce (A : ovins et B : bovins). (page : 20)
- Figure 12** : Malformations (Veaux). (page : 24)
- Figure 13** : Malformations congénitale (Veaux). (page : 24)

Liste des abréviations

- ADN : Acide désoxy ribo nucléique.
- ADNc : Acide désoxy ribo nucléique complémentaire.
- AMM : Autorisation de mise sur le marché.
- Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.
- ARN : Acide ribonucléique.
- BHK : Baby hamster kidney.
- BTV : Bluetongue virus.
- BVDV : Bovine virus diarrhea.
- CVI : Institut vétérinaire central.
- ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay.
- FCO : Fièvre catarrhale ovine.
- FLI : Friedrich loeffler institute.
- Gc : Glycoprotéine.
- IGg1 : Immunoglobuline type 1.
- IHC : Immunohistochemie.
- INF : Interféron.
- L : Large.
- LT : Lymphocyte T.
- M : Medium.
- OIE : office internationale des épizooties
- PCR : Polymerase chain reaction.
- qRT-PCR : Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction.
- RTqPCR : Real-time polymerase chain reaction.
- S : Small.
- SBV : Schmallenberg virus.

Introduction

La maladie de Schmallenberg (SBV) est l'une des maladies infectieuses apparues récemment en Europe. Elle a été identifiée pour la première fois en Allemagne et aux Pays-Bas avant de s'étendre à toute l'Europe occidentale. Le nom de ce nouveau virus fait référence à sa provenance géographique, à savoir la région de Schmallenberg.

En effet, le virus Schmallenberg affecte essentiellement les ovins et les bovins et dans une moindre mesure les caprins. L'importance de cette maladie est liée, d'une part, aux pertes économiques dues aux avortements, mortinatalités, et à la diminution de la production laitière. Et d'autre part, au fait que cette maladie est une arbovirose.

A ce jour, aucune investigation n'a été entreprise, en Algérie, afin de voir si le virus Schmallenberg circule dans nos cheptels. De plus, il y a méconnaissance de cette arbovirose par la plupart des professionnels de la santé animale. Tout cela nous a poussé à mener une étude bibliographique sur la maladie de Schmallenberg afin d'en rapporter quelques caractéristiques épidémiologiques, cliniques et prophylactiques.

Chapitre I :
Généralité Sur Le
Virus
Schmallenberg

Chapitre I :

Généralités sur le virus Schmallerberg

1. Définition :

Les virus en générale sont des particules extrêmement petites (diamètre compris entre 15 et quelques centaines de nanomètres), constituées d'un acide nucléique ARN ou ADN (mono ou bicaténaire) inclus dans une capsidie protéique, ils sont des parasites obligatoires des cellules vivantes. Ils ne peuvent se développer qu'avec la collaboration forcée de leur hôte.

La nomination Schmallerberg désigne un village en allemand où le virus a été détecté pour la première fois. Le virus appartient à la famille des *Bunyaviridae*, genre *Orthobunyavirus*, appartenant au séro groupe Simbu. Les virus appartenant à ce groupe sont non contagieux, transmis par des arthropodes hématophages, notamment des moustiques et des moucheron du genre *Culicoides* [1].

2. Historique :

Pendant l'été 2011, les éleveurs et les vétérinaires de la Rhénanie, du Nord-Westphalie (en Allemagne) et des Pays-Bas ont rapporté une nouvelle maladie survenant dans les élevages de bovins laitiers. Aux Pays-Bas, 80 élevages étaient concernés à ce moment-là, une première hypothèse de botulisme chronique a été écartée. Par la suite, les services de Santé Animale ont réalisé plusieurs tests diagnostiques sans toutefois identifier un agent pathogène responsable [2].

En Allemagne, les analyses menées à l'Institut Friedrich Loeffler ont permis d'écartier d'autres maladies qui ont les mêmes symptômes. La maladie a été signalée pour la première fois le 15 novembre 2011 [3]. Au cours du mois de novembre 2011, en Allemagne, dans une ferme près de la ville de Schmallerberg, des prélèvements de sang ont été réalisés sur trois vaches laitières adultes présentant les symptômes de cette nouvelle maladie. A partir de ces trois échantillons de sang, l'Institut Friedrich Loeffler a parvenu à identifier l'agent causal par l'intermédiaire d'une analyse méta-génomique. Il s'agissait d'un virus ayant des séquences génomiques présentant une homologie avec le genre *Orthobunyavirus* de la famille des *Bunyaviridae* [4].

Le 23 décembre 2011, le premier cas de virus de Schmallenberg a été mis en évidence en Belgique chez des agneaux qui présentaient des malformations à la naissance ou qui étaient mort-nés. Jusqu'ici, le virus a déjà été constaté chez des agneaux issus de 27 exploitations ovines. Ils présentaient des malformations congénitales [5].

La France a suivi de peu, puisque les deux premiers cas d'infection au SBV chez des agneaux ont été confirmés le 25 janvier 2012. Ces cas sont issus des départements de la Meurthe-et-Moselle et de la Moselle, tous deux dans l'est de la France.

Le Royaume-Uni est le 4^e pays à avoir détecté le SBV sur son territoire. En effet, la présence du virus a été confirmée le 23 janvier 2012 [6].

Un premier cas de SBV a été confirmé en Italie le 16 février 2012 dans une petite exploitation de chèvres, et le 17 février 2012 dans une exploitation ovine du grand-duché de Luxembourg.

En Espagne, le premier cas de SBV, a été déclaré à l'OIE le 13 mars 2012. Il s'agissait d'un agneau avorté le 06 mars 2012 présentant des lésions compatibles avec une atteinte par le SBV, dont la présence a été confirmée par PCR [7].

3. Morphologie et propriété du virus Schmallenberg :

3.1. Morphologie : Les virus de la famille des *Bunyaviridae* sont des virus enveloppés, à ARN monocaténaire de polarité négative, de forme sphérique et mesurant environ 100 nm de diamètre [8].

Une analyse metagénomique a été réalisée, le but de cette analyse c'est d'identifier l'ensemble des microorganismes présents dans un échantillon, ce qui permet d'amplifier le matériel génétique et d'identifier des séquences spécifiques des microorganismes.

Cette analyse a été faite sur un mélange de sang qui a été prélevé chez trois vaches laitières qui présentaient des symptômes similaires à la maladie [9].

Le résultat de cette analyse est le suivant, des séquences sont incluses dans trois segments d'ARN de tailles différentes le segment S (Small) composé de 830 nucléotides, le M (Medium) de 4415 nucléotides et le L (Large) de 6865 nucléotides. Le segment S code pour la nucléocapside et les protéines non structurales. Le segment M code pour les protéines de surface les Glycoprotéines Gn et Gc et le segment L code pour la polymérase virale [10].

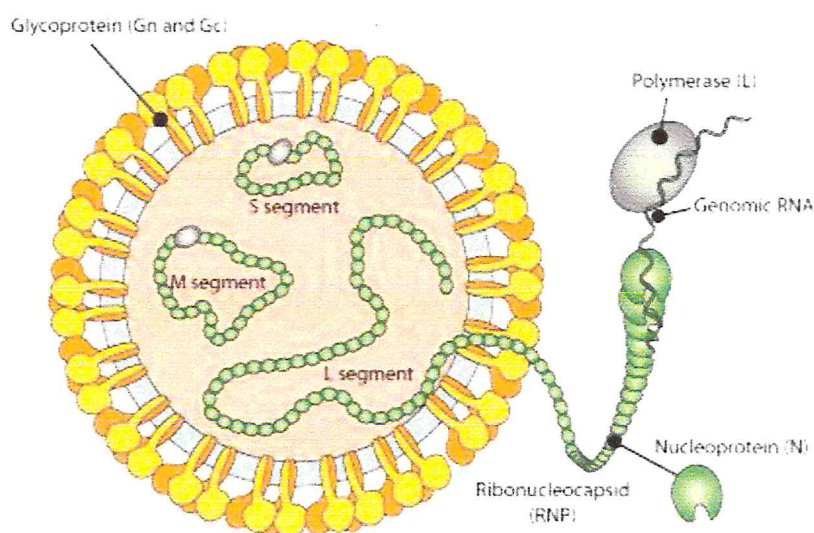


Figure 1 : Schéma d'un virus appartenant à la famille des *Bunyaviridae*. [10].

3.2 Propriétés :

Les propriétés physico-chimique ont été réalisée par extrapolation des résultats obtenus avec les *Orthobunyavirus* du séro groupe California, le pouvoir infectieux du SBV serait fortement réduit par chauffage à 50-60°C pendant au moins 30 minutes. Il serait sensible aux désinfectants communs tels l'eau de javel à 1%, le glutaraldéhyde à 2%, l'éthanol à 70% et formaldéhyde. Sa survie dans le milieu extérieur, en dehors du vecteur ou d'un hôte, serait très limitée dans le temps [11].

Les propriétés antigéniques du virus sont composées des glycoprotéines GC et GN qui sont présentes à la surface de chaque particule virale. Ces protéines ont pour conséquence d'induire la production d'anticorps neutralisants chez hôte [12].

4. Pathogénie :

La pathogénie de la maladie de schmallenberg commence après une piqure d'un moucheron infesté de virus. Dans un premier temps, le virus va se répliquer à proximité du point d'inoculation, puis dans les nœuds lymphatiques drainant la zone correspondante. Ensuite, le virus va se disséminer dans l'organisme jusqu'aux organes cibles qui sont constitués des cellules nerveuses du système nerveux du fœtus et des cellules musculaires, cette phase c'est la phase de virémie qui dure de 2 à 5 jours [9].

Une étude de terrain récente laisse supposer que cette phase de virémie, dans les conditions naturelles, pourrait être supérieure à 15 jours [13].

Après que le virus arrive dans les cellules cibles une interaction entre les glycoprotéines de surface des particules virales et les récepteurs cellulaires permet aux *Bunyavirus* de pénétrer dans la cellule hôte par endocytose. Après la décapsidation et la libération de l'ARN viral dans le cytoplasme de la cellule hôte, ont lieu la réplication et la synthèse des protéines du virion puis la reconstitution de nouvelles particules virales au niveau de l'appareil de Golgi et du réticulum endoplasmique.

Chaque segment génomique est associé à la polymérase et ils sont empaquetés par la nucléocapside pour former le complexe ribonucléoprotéique.

Puis, suite à la fusion de la membrane de l'appareil de Golgi avec la membrane cellulaire, les nouvelles particules virales se forment par bourgeonnement [14].

L'infection entraîne une réponse immunitaire innée basée sur la production d'interférons (IFN) de type 1 et une réponse immunitaire adaptative basée sur la production d'anticorps.

Cependant, la protéine virale NSs du SBV inhibe la production d'IFN de type 1 [15].

La protéine NSs du virus SBV induit l'apoptose de la cellule hôte lorsque la formation des nouvelles particules virales est achevée [14].

En résumé : La pathogénie du SBV repose donc sur sa capacité à échapper à la réponse immunitaire de l'individu infecté et pourrait également reposer sur sa capacité à induire l'apoptose des cellules infectées.

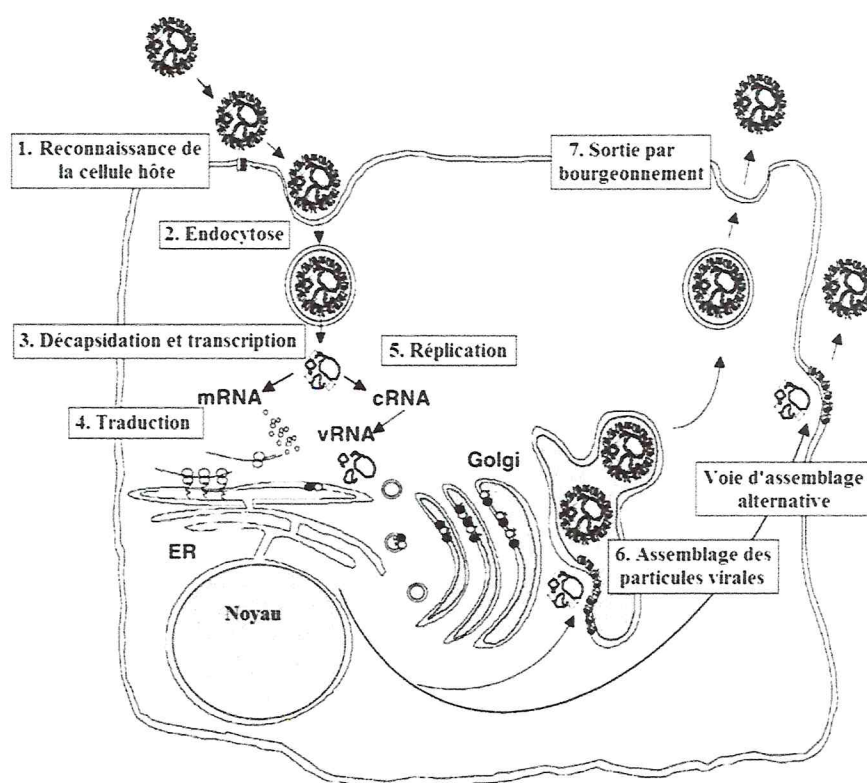


Figure 2 : Schéma du mode de répllication des *Bunyavirus* au sein de la cellule hôte. [16]

5. Transmission :

Les investigations épidémiologiques indiquent plusieurs transmissions du SBV en a :

5.1 Transmission vectorielle : le virus de Schmallenberg est un *arbovirus*.

Le terme arbovirus désigne les virus se multipliant à la fois chez les vertébrés et chez des arthropodes suceurs de sang.

L'association européenne de bétail à confirmer, le rôle des moucheron dans la transmission et de la diffusion du virus de Schmallenberg par la détection du virus dans deux espèces de *Culicoides* en Belgique entre le mois septembre et octobre 2011.

Ce mode de transmission est à l'origine de la dissémination du virus à travers l'Europe

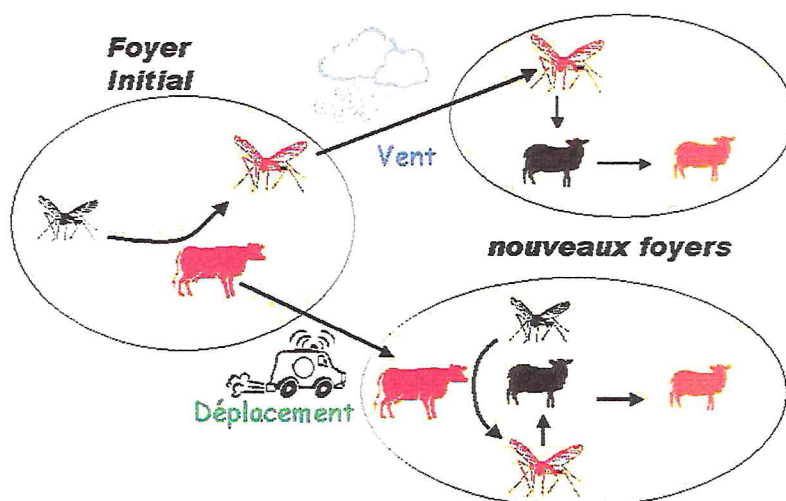


Figure 3 : Mode de dissémination du SBV par l'intermédiaire d'un moucheron vecteur. [17].

5.2 Transmission horizontale :

La transmission horizontale, par contact direct ou indirect, semble peu probable, l'infection expérimentale de deux bovins par voie orale n'a pas entraîné de virémie transitoire détectable par PCR. De plus, le contact entre trois bovins témoins et des bovins infectés expérimentalement a révélé une absence de virus dans le lot témoin (PCR négative), alors que le virus de Schmallenberg était bien présent dans le lot infecté (PCR positive) [15].

5.3 Transmission verticale :

Le virus de Schmallenberg est détecté sur des fœtus malformés, nés avant terme ou pas, de veaux, d'agneaux et de chevreaux [18].

Chapitre II :

Caractéristique du

vecteur

Chapitre II :

Caractéristiques du vecteur

1. Définition et Systématique :1.1. Définition :

Les moucheron du genre *Culicoides* sont les vecteurs de la maladie de Schmalenberg, les *Culicoides* sont les plus petits diptères hématophages. Ils mesurent de 1 à 3 mm de long. Le genre *Culicoides* fait partie de la sous-famille des *Ceratopogoninae*, comportant 60 genres répartis en 4 sous-familles. Il existe plus de 1400 espèces de *Culicoides*, dont 87 ont été signalées [19].

Ils ont une morphologie classique de la famille des *Ceratopogonidés*, ils présentent un corps élancé, avec des ailes velues recouvrant le corps au repos, et des antennes longues et filiformes, globuleuses à la base, constituées de 12 à 16 articles agencés comme des grains de chapelet. Les *Culicoides* s'identifient facilement grâce à des motifs alaires noirs et blancs constitués de pigments compris dans la membrane de l'aile. De plus, l'aile est parcourue d'une nervure médiane pédiculée et d'une nervure transverse. Les mâles et les femelles sont différenciés par l'étude attentive des antennes et des pièces buccales.

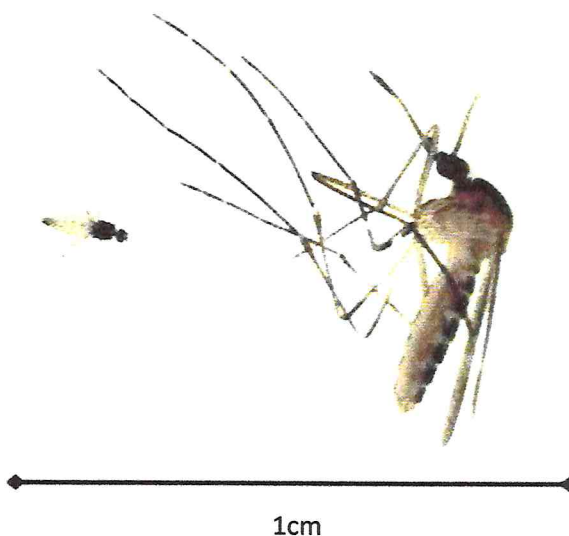


Figure 4 : Comparaison entre la taille d'un moucheron piqueur (*Culicoides scoticus*) (à gauche) et d'un moustique (*Culex sp.*) (à droite), tous deux femelles. [20]

1.2 Taxonomie :

Règne : *Animalia*

Embranchement : *Arthropoda*

Classe : *Insecta*

Ordre : *Diptera*

Famille : *Ceratopogonidae*

Genre : *Culicoidae*

2. La biologie du vecteur :

2.1 Cycle de vie :

Le cycle de vie des *Culicoides* se décompose en quatre étapes : l'œuf, quatre stades larvaires, un stade nymphal et un stade imaginal (adulte).

Les sites de reproduction sont différents et spécifiques des espèces. Les stades immatures exigent une certaine quantité d'eau libre et/ou d'humidité [21].

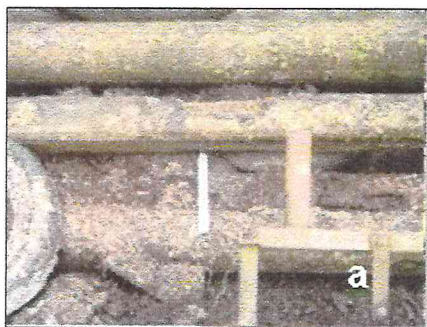


Figure 5 : Quelques exemples des milieux favorables au développement larvaire de *culicoides* vecteurs de la maladie de Schmalenberg. [22].

Une seule ponte peut représenter entre 10 et 674 œufs en fonction des facteurs liés à l'espèce et aux conditions de vie. Les œufs, pondus au sol en milieu généralement humide, éclosent 2 à 8 jours après la ponte (sauf exception dans les pays nordiques). Le développement larvaire dure entre 2 semaines et 1 mois selon les conditions climatiques. Les insectes se transforment alors en nymphes, puis en adultes au bout de 2 à 10 jours. En général, la durée de vie des adultes est courte (10 à 20 jours), mais ils peuvent vivre pendant des périodes plus longues

(entre 1,5 et 3 mois) surtout en cas de températures basses, et peuvent ainsi prendre de multiples repas sanguins [23].

Les *Culicoides* adultes s'éloignent tout au plus de quelques centaines de mètres de l'endroit où les imagos ont vu le jour : leur dispersion active est donc très limitée [21].

Leur dispersion passive par les vents chauds et humides de basse altitude (< 2000 m), soufflant à vitesse moyenne (10 à 40 km/h), est cependant nettement plus importante puisqu'elle peut atteindre plusieurs centaines de kilomètres .

Cette dispersion passive peut ainsi propager ces insectes vers de nouvelles régions et entraîner l'apparition ou la dispersion de certaines épizooties comme celles constatées ces dernières années, telle que la FCO (Fièvre Catarrhale Ovine) ou le SBV (Schmallenberg).

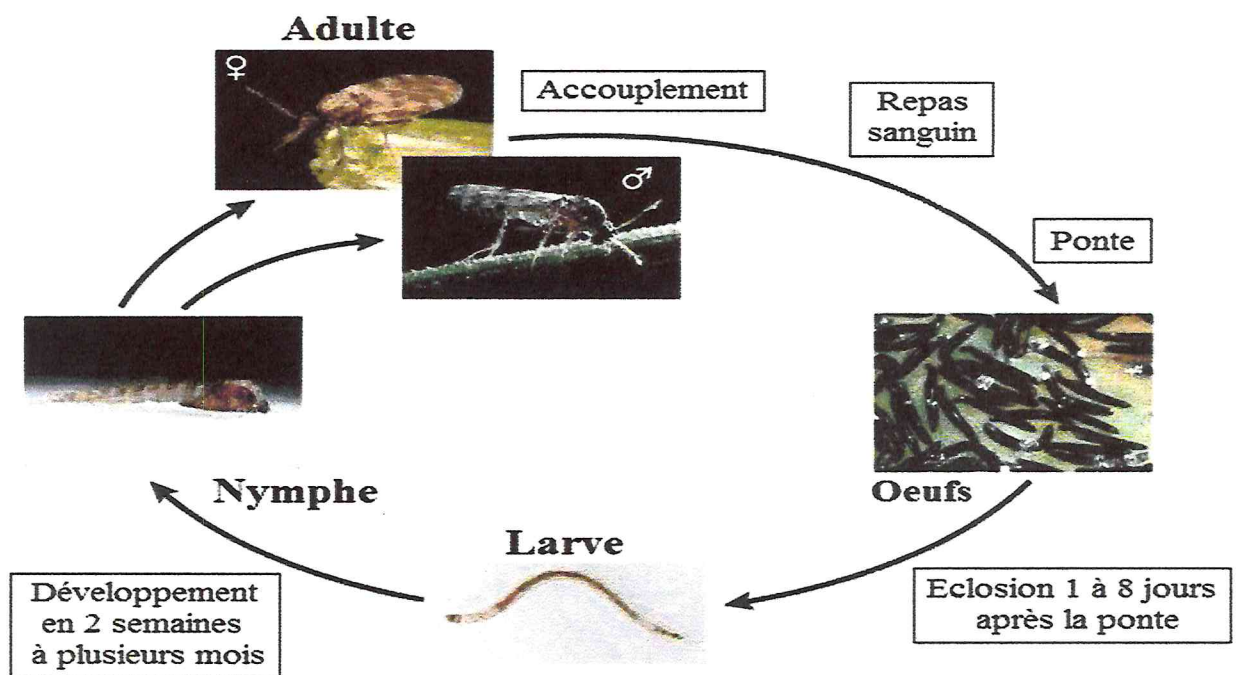


Figure 6 : Cycle de vie des moucherons du genre *Culicoides* [24].

2.2 Morphologie des *Culicoides* :

Les *Culicoides* sont des Diptères Nématocères de la famille des *Cératopogonidés*. Les quatre sous-familles des *Cératopogonidés* sont les *Leptoconopinae*, les *Forcipomyiinae*, les *Dasyheleinae* et les *Ceratopogoninae*, cette dernière comprenant le genre *Culicoides* [25].

Comme l'illustre (la figure 7) les caractéristiques des ailes constituent l'un des critères d'identification, par exemple le genre *Leptoconops* présente des ailes d'un blanc laiteux sans macrotriche (poil attaché au moyen d'un anneau articulaire dans une petite dépression : alvéole ou fossette) dans le genre *Forcipomyia*, les ailes, très velues, exhibent une longue seconde cellule radiale et une nervure transverse r-m; les insectes du genre *Culicoides* sont faciles à identifier par des motifs alaires noirs et blancs, constitués de pigments compris dans la membrane de l'aile, qui ne peuvent donc pas s'effacer, par la présence de deux cellules radiales de même taille [26].

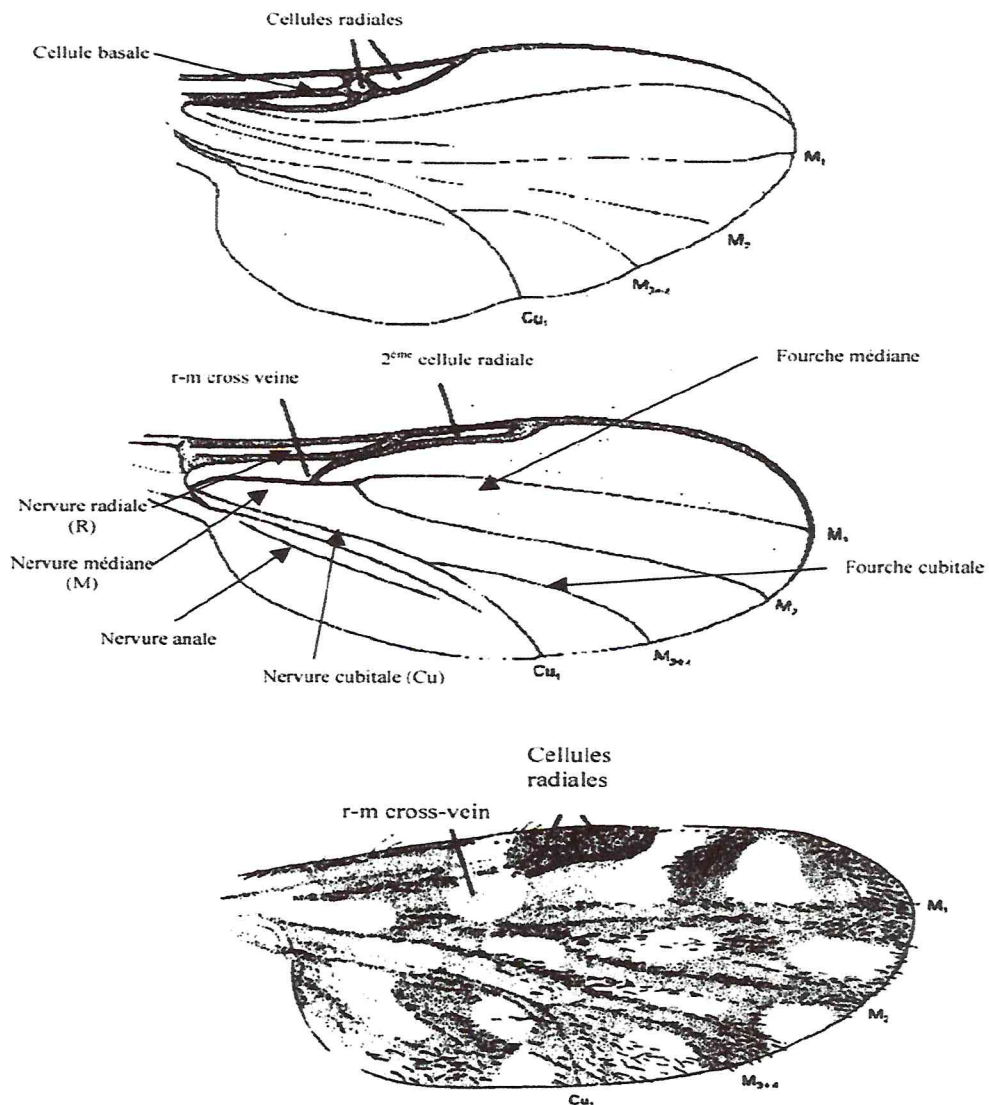


Figure 7 : Représentation d'une aile de femelle *Leptoconops australiensis* (en haut), *Forcipomyia townsvillensis* (au centre) et *Culicoides marmoratus* (en bas) [25]

Un autre critère d'identification porte sur la taille d'une épine (ou empodium) sur le dernier segment du tarse très développé chez le genre *Leptoconops*, il est rudimentaire chez les *Culicoides* [27].

Seules les femelles sont hémato-phages, les mâles se nourrissant de nectar. Ils présentent les caractéristiques des Diptères de cette famille : ne mesurent qu'un à 3 mm de longueur (pour cette raison, ils sont souvent qualifiés de « mouchérons », un corps élancé, avec des ailes velues recouvrant le dos au repos et des antennes longues et filiformes, globuleuses à la base, constituées de 12 à 16 articles agencés comme des grains de chapelet (parties articulées des antennes). La zone des cellules radiales sur les ailes apparaît condensée. La figure 3 présente la morphologie des *Culicoides* [25].

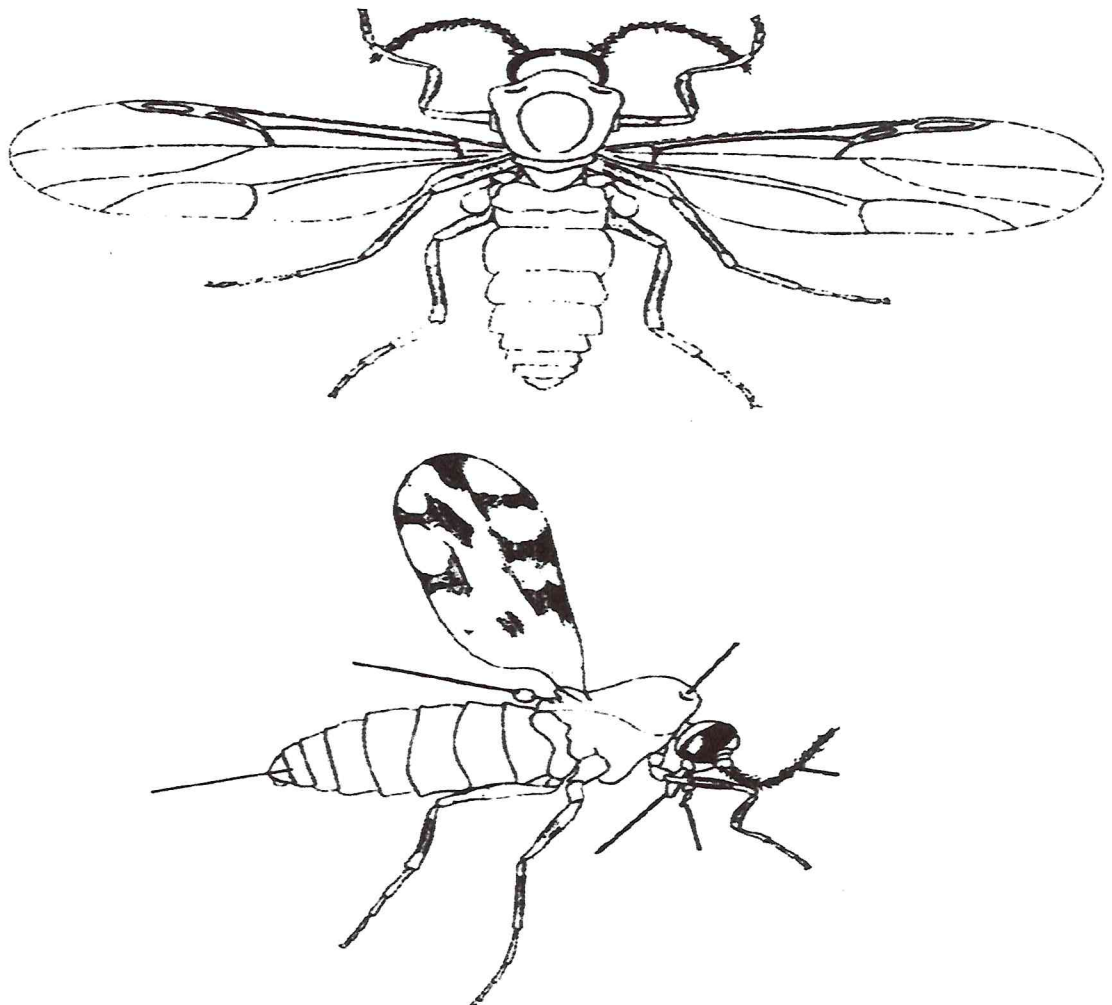


Figure 8 : Représentation d'une femelle *Culicoides brevitarsis*, ailes ouvertes et de profil. [25]

Au niveau de la tête, le flagellum de l'antenne est formé de 13 articles. Chez les femelles, le rapport antennaire (somme des longueurs des 5 derniers articles divisée par la somme des longueurs des 8 premiers) est particulièrement indicatif. La mensuration individuelle de chacun des articles.

Est indispensable pour la différenciation des espèces. Quant aux pièces buccales, les maxilles et les mandibules sont généralement pourvues de dents dans leur partie distale et les palpes maxillaires se composent de 5 articles. Parfois, sont retrouvés des tubercules, soit au niveau du cibarium, soit à la jonction du pharynx postérieur et du cibarium [27].

L'abdomen est composé de 10 segments, dont le dernier est réduit à des cerques.

Les pattes ne possèdent aucun caractère particulier, si ce n'est la paire de pattes postérieures sur lesquelles est présent un peigne tibial distal doté de nombreuses épines.

Chez les femelles, les seuls éléments de morphologie utilisables sont le nombre, la taille et la forme peu variée des spermathèques (1 à 3 selon les espèces).

Des sclérites (surfaces durcies délimitées par des sutures) abdominaux peuvent être visibles sur le huitième segment chez certaines espèces, ainsi qu'un anneau sclérifié sur le conduit génital commun [26].

2.3 Reproduction des Culicoides :

La plupart des espèces de *culicoïdes* nécessitent un milieu humide pour se reproduire et pondre leurs oeufs. En effet, le développement larvaire est optimal dans les microhabitats semi-aquatiques, comprenant principalement les substrats chauds, humides ou détremés, riches en débris organiques (excréments-eaux résiduelles, boue, prairies humides, etc.) [28].

D'une manière générale, les larves se rencontrent principalement dans les cinq à six premiers centimètres de la couche superficielle du milieu, les nymphes se retrouvent également à la surface du milieu (boue ou eau) dans lequel le développement larvaire s'est déroulé [29].

Les adultes s'accouplent généralement dans les environs immédiats des exploitations de bétail, essentiellement près des milieux humides ou d'eaux stagnantes. En effet, ils ne s'éloignent guère, de façon active, de l'endroit où ils ont éclos [21].

L'activité et la dispersion des *culicoïdes* sont fortement influencées par les facteurs météorologiques tels que la température, l'humidité et l'agitation de l'air.

2.4 Milieux de vie :

Les espèces incriminées dans la transmission du virus Schmallenberg sont associées à des biotopes humides et riches en matières organiques. Ainsi, *C. dewulfi* est une espèce exclusive des bouses de vache. *C. obsoletus*, qui fait partie des espèces dont les adultes récoltés par piégeage sont les plus abondants, est vraisemblablement ubiquiste.

Plusieurs études vont dans ce sens : ainsi, *C. obsoletus* a été retrouvé dans les litières de forêt en Europe [30], mais aussi dans des trous d'arbres, des tas de fumier, du mélange paille et fèces ou du crottin, ou encore dans du compost de jardin [19].

Récemment, des larves de *C. obsoletus* (et dans une moindre mesure de *C. scoticus*) ont été trouvées dans des résidus d'ensilage de maïs [31], mais aussi à l'intérieur d'étables en Belgique [32].

Enfin, dans les Ardennes, un nombre important de larves de *C. obsoletus* a été trouvé dans de vieux fumiers (litières) en décomposition avancée se transformant en un compost terreux près du sol, contre les murs, à l'intérieur comme à l'extérieur des bâtiments d'élevage, ainsi qu'au pied des fumières déposées dans les pâtures [33].

Tableau 1 : Présentation des habitats larvaires des espèces du genre *Culicoides* (Diptera : *Ceratopogonidae*) vectrices du SBV. [19]

Espèce	Gîtes larvaires
<i>C. obsoletus</i>	Mélange bouse et fumier ± transformé en terreau, trou d'arbre, ensilage de maïs, résidus de grains et plantes en décomposition
<i>C. dewulfi</i>	Bouses de vaches (desséchées en surface), crottin de cheval, résidus de grains et plantes en décomposition

2.5 Facteurs influençant la biologie des *Culicoides* :

La température est sans doute le principal facteur environnemental influençant le comportement et la survie de ces moucheron. En effet, leur activité est la plus élevée entre 13°C et 35°C, même si ces limites varient en fonction des espèces. Par exemple : ont constaté

des vols de *C. obsoletus* à des températures minimales situées entre 6°C et 12°C dans des étables au cours de l'hiver 2006-2007 [34].

Une humidité élevée est également un critère important pour le développement et la survie des *culicoïdes*. En effet, les larves sont particulièrement sensibles à la dessiccation, qui les tue rapidement. La sécheresse est également défavorable aux adultes, qui se réfugient dans la végétation jusqu'à un changement de temps leur permettant de reprendre leur activité. Ils sont également réfractaires à la pluie, puisqu'elle empêche leurs vols. Ces comportements expliquent le fait que dans les régions tempérées, ces vecteurs sont particulièrement abondants vers la fin de l'été et le début de l'automne [35].

Durant leur période de vol, les culicoïdes adultes ne s'éloignent pas plus de quelques centaines de mètres de l'endroit où les imagos ont vu le jour. Leur dispersion active est donc très limitée [21].

Leur dispersion passive par les vents chauds, humides soufflant à basse altitude (< 2 000 m) à une vitesse moyenne de 10 à 40 km/h est un facteur bien plus important pouvant les transporter à une distance de plusieurs centaines de kilomètres [36].

La densité des populations des *culicoïdes* adultes varie avec la saison. Certaines espèces ont une répartition plus large au cours de l'année tandis que d'autres se rencontrent uniquement durant de courtes périodes. Par exemple, l'espèce *C. impunctatus* se rencontre approximativement de fin mai à fin septembre, tandis que *C. obsoletus* et *C. scoticus* sont des espèces plus précoces ayant une longue période de vol ; elles apparaissent mi-avril pour disparaître début novembre.

De façon générale, deux générations de moucheron piqueur sont engendrées chaque année, une population importante au printemps et une plus restreinte en été [37].

2.6 Facteurs favorisant la dissémination de la maladie :

Dans un premier temps, pour permettre la transmission de la maladie, le vecteur doit être en mesure de réunir certaines conditions qui déterminent sa compétence [23].

La compétence vectorielle fait référence à la possibilité pour un vecteur, à l'échelle individuelle, de pouvoir être infecté par le virus, de pouvoir le multiplier et de pouvoir le transmettre.

Dans un deuxième temps, la population de vecteurs doit avoir la possibilité de disséminer l'agent pathogène : c'est la capacité vectorielle. Elle se calcule avec les éléments suivants : la survie du vecteur, le nombre de repas sanguins moyen que la population de vecteurs effectue sur un individu hôte par jour, la période d'incubation virale propre au vecteur et la compétence du vecteur. Tous ces paramètres sont sujets aux variations de l'environnement.

L'identification du SBV chez des moucheron du genre *Culicoïdes* ainsi que la probable réplication du virus chez ces moucheron [38], montrent la compétence de ce vecteur dans le cadre de la maladie de Schmallenberg.

Actuellement, il est admis que la transmission du SBV est principalement vectorielle, les vecteurs compétents étant des moucheron du genre *Culicoïdes*.

La capacité de la population vectorielle à transmettre le virus est d'autant plus important que [39] :

- la fréquence des repas des moucheron est élevée.
- le cycle de reproduction des virus est rapide.
- la réplication virale dans le moucheron est rapide.
- le nombre de moucheron compétents dans la population vectorielle est élevé.
- le nombre d'espèces de moucheron vecteurs impliquées dans la transmission du virus est grand.

Ainsi, la capacité d'une population vectorielle dépend surtout de la température.

Chapitre III :

Epidémiologie

Chapitre III :

Epidémiologie

Les enquêtes épidémiologiques, corroborées par les connaissances relatives aux virus génétiquement apparentés du séro-groupe Simbu, indiquent que le virus de Schmallenberg touche les espèces suivant : Les bovins, les ovins et les caprins, dans certains cas les ruminants sauvages (chevreuils et cerfs élaphe) ainsi que les bisons, les alpagas et les mouflons. Les études sérologiques montrent qu'il ne s'agit pas d'un agent zoonotique.

1. Impacte de la maladie en Algérie :

A ce jour, aucun foyer n'est déclaré en Algérie mais la vigilance est de mise.

2. Epidémiologie en Europe :

Ce virus pourrait être un ancêtre du virus Shamonda [40].

La maladie causée par le SBV est considérée comme non contagieuse, à transmission vectorielle, vraisemblablement par des moucheron du genre Culicoides [38].

La maladie se manifeste chez le bovin adulte par une chute de la production laitière, de la fièvre, une diarrhée pouvant être sévère et parfois des avortements [4].

Une atteinte congénitale de type arthrogrypose / hydranencéphalie est décrite chez des agneaux, des chevreaux et des veaux [18].

L'atteinte clinique est décrite aux Pays-Bas et en Allemagne depuis 2011 chez les bovins adultes, puis au Royaume-Uni, la France, Italie, Grand-Duché de Luxembourg, en Espagne et plus récemment encore au Danemark et en Suisse (Tableau 2).

En 2012, plus de 5700 cas de SBV ont été confirmés chez les ruminants domestiques en Europe [41].

Outre la séro-neutralisation virale, des tests sérologiques de masse ont été développés récemment [18].

Le risque zoonotique est considéré comme négligeable [42].

L'émergence du SBV constitue un événement majeur en santé animale et un nouveau défi pour les vétérinaires et chercheurs européens [1].

Le SBV n'est pas une maladie à déclaration obligatoire en Belgique [43].

Une sous-déclaration est observée. Une sous-détection existe également et est attribuable au délai entre l'infection de la mère et la naissance de la progéniture (diminution de la probabilité de détecter l'ARN du SBV) [41].

Mesurer l'ampleur de l'épisode de SBV et des pertes zootechniques et économiques nécessite des efforts de recherche. Ceci justifiait l'administration d'une première enquête au sein de la profession vétérinaire qui est très bien placée pour identifier ces phénomènes émergents. L'objectif de cet article est de présenter les résultats de cette enquête. Matériels et méthodes Première enquête destinée aux vétérinaires praticiens Une première enquête anonyme a été envoyée aux vétérinaires (n = 758) ayant une activité rurale en Wallonie via le périodique professionnel Vétérinaire [44].

Ce nombre inclut une partie importante de vétérinaires ayant une activité rurale très limitée voire anecdotique. Un chiffre estimé de 350 vétérinaires ayant une activité rurale significative est renseigné par l'Union professionnelle vétérinaire (sur base des praticiens inscrits en démarche qualité vétérinaire, DQV). Tableau I. Cas de Schmallenberg rapportés au 1 août 2012 en Europe [41].

Tableau 2 : Situation épidémiologique en Europe (au 2012) [45].

Pays	Date	Foyers bovins	Foyers ovins	Foyers caprins	Total
France	31.07.2012	1544	1128	17	2689
Allemagne	31.07.2012	871	866	49	1786
Belgique	12.07.2012	407	167	2	576
Pays-Bas	10.07.2012	237	107	6	350
Royaume-Uni	25.07.2012	53	223	0	276
Luxembourg	02.04.2012	6	6	0	12
Italie	24.05.2012	3	0	5	8
Danemark	07.06.2012	3	0	0	3
Espagne	12.03.2012	0	1	0	1
Total		3124	2498	79	5701

Countries affected by reports of Schmallenberg virus

Since July 2011

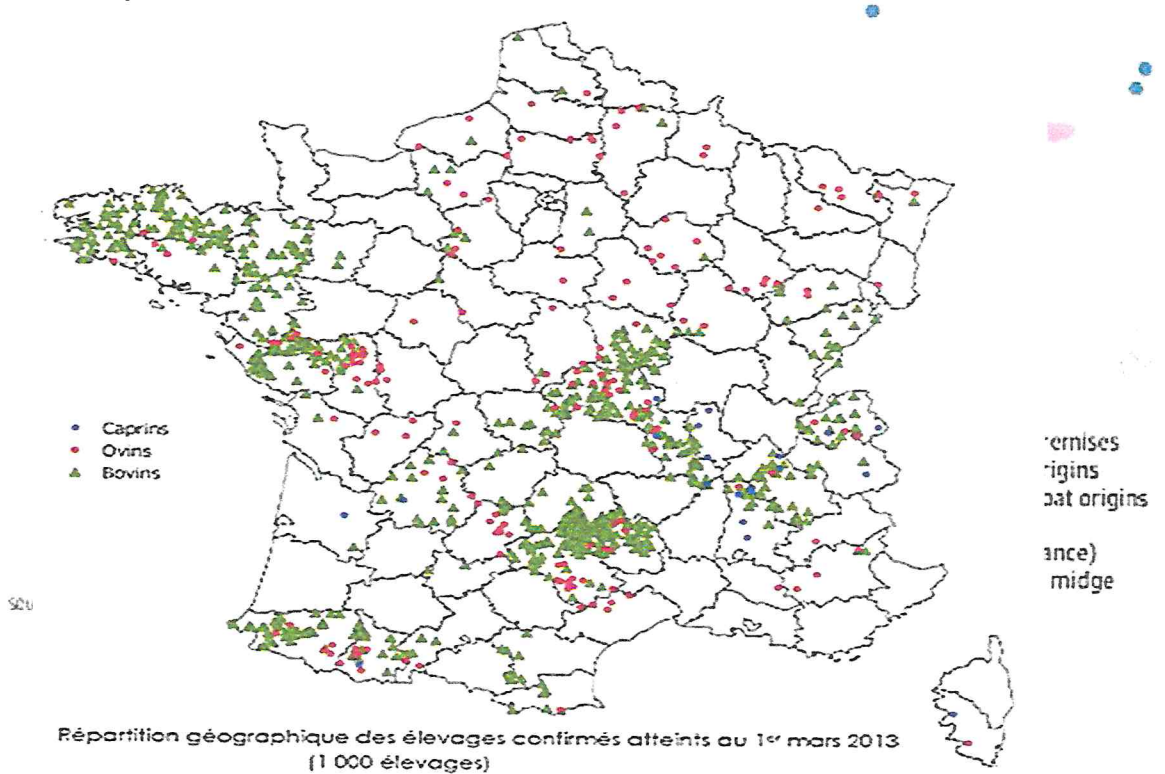
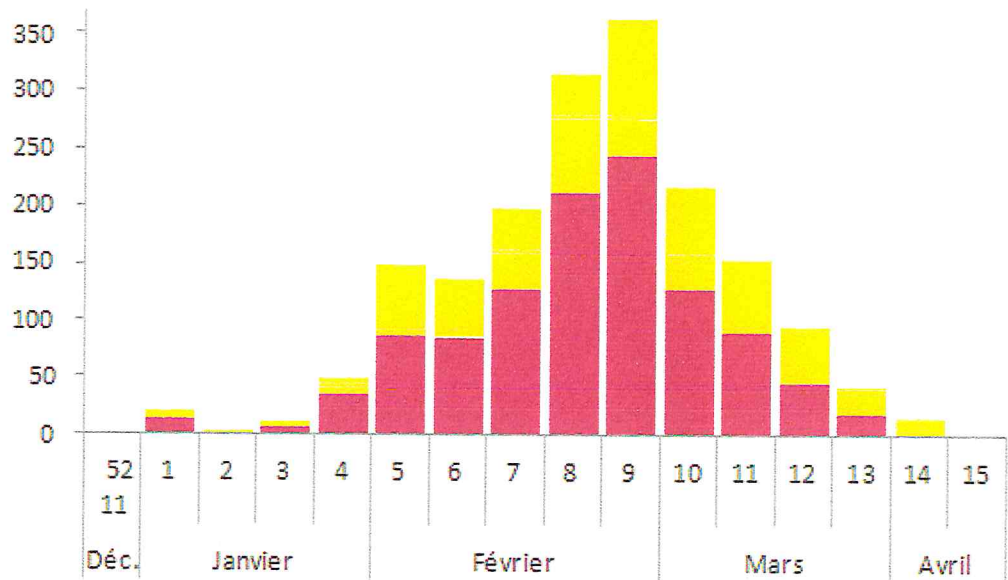


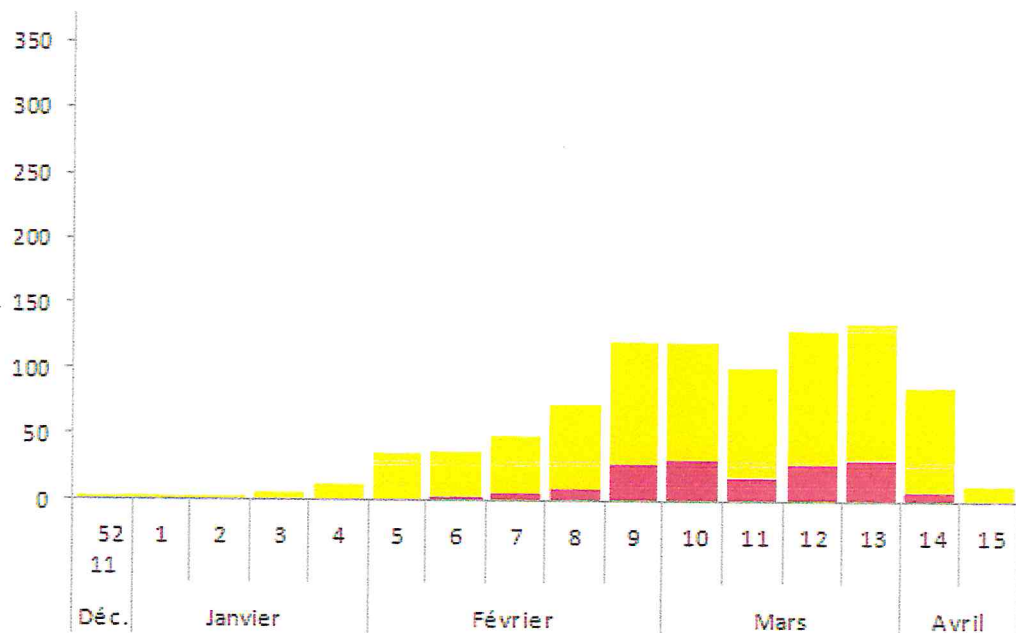
Figure 9 : Distribution de virus en Europe [46].

Figure 10 : Distribution de virus en France [47].

Petits ruminants (A)



Bovins (B)



Foyer
 Suspicion clinique non confirmée biologiquement

Figure 11 : Evolution de l'incidence des formes congénitales de SBV en France par semaine de suspicion et par espèce (A : ovins et B : bovins) [48].

3. Epidémiologie descriptive :

Les sections suivantes détaillent la chronologie de l'épizootie, étape par étape, jusqu'à la notification des cas en Italie, au Grand-Duché de Luxembourg et en Espagne. La situation épidémiologique des pays affectés au 24 avril 2012 est synthétisée dans le **tableau 2** (foyers déclarés), et la **figure 10** (distribution géographique du SBV à travers l'Europe en fonction de l'espèce).

Premiers cas cliniques aux Pays-Bas depuis août 2011, le Service de Santé Animale néerlandais à Deventer enregistrait un nombre anormalement élevé de cas de diarrhée aqueuse, fièvre (jusqu'à 41°C), et baisse de la production laitière [6].

Premiers cas en Italie, au Grand-Duché de Luxembourg et en Espagne, un premier cas de SBV a été confirmé en Italie le 16 février 2012 dans une petite exploitation de chèvres, et le février 2012 dans une exploitation ovine du Grand-Duché de Luxembourg [50].

Le premier, et pour l'instant unique cas de SBV en Espagne, a été déclaré à l'OIE le en 2012. Il s'agissait d'un agneau avorté présentant des lésions compatibles avec une atteinte par le SBV, dont la présence a été confirmée par RTqPCR [7].

Évolution de l'épizootie Les zones où le virus a été détecté pour la première fois, quel que soit le pays considéré, sont remarquablement superposables avec celles où la FCO a également fait son apparition en 2006- 2007, ce qui tend à accréditer l'hypothèse d'une transmission vectorielle par les *culicoïdes*. Si les *culicoïdes* sont effectivement les vecteurs du SBV, compte tenu de la période d'inactivité vectorielle des *Culicoides* endémiques et du pic d'atteinte clinique observé chez les bovins adultes, il est vraisemblable que la majorité des infections des mères ait eu lieu.

Par conséquent, en raison de la durée de gestation de la brebis (environ 147 jours), il était permis de postuler que la proportion d'agneaux atteints allait diminuer après le 1er février.

De plus, les brebis infectées entre les 30^{ème} et 50^{ème} jours de gestation semblent être les plus susceptibles de donner naissance à des agneaux malformés. Par contre, le service de santé de l'état de Rhénanie du Nord-Westphalie s'attendait pour les premiers mois de 2012 à un pourcentage de veaux nouveau-nés infectés de 15 à 20 %.

En outre, selon cette hypothèse, le pic de naissance de veaux atteints de lésions congénitales, ce qui est cohérent avec les données issues du terrain.

Aux Pays-Bas, les premiers résultats de la première étude de séroprévalence ont été rendus publics récemment [6].

Les échantillons sanguins testés, prélevé sur 1123 vaches laitières entre 2011 et 2012 dans le cadre de la surveillance de la FCO, ont révélé qu'environ 70 % des bovins laitiers hollandais étaient séropositifs envers le SBV. La prévalence intra troupeau peut être très élevée.

Dans deux exploitations ovines et deux exploitations bovines testées de manière exploratoire, entre 70 et 100 % des animaux possédaient des anticorps spécifiques dirigés contre le SBV. Le futur du SBV en Europe ne pourra être déterminé que lorsque la capacité du virus à passer l'hiver aura été établie, et que la séoprévalence du bétail à l'échelle européenne aura été précisée [1].

Chapitre IV :

Diagnostic

Chapitre IV :

Diagnostic

1. Diagnostic épidémiologique - clinique :

En admettant le très probable rôle des *culicoides*, dans la transmission du virus, l'atteinte clinique des adultes devrait pouvoir être observée pendant la période d'activité vectorielle, soit entre avril et novembre en Europe occidentale. L'atteinte préalable des mères peut passer inaperçue sans préjuger des conséquences sur la progéniture.

En peut suspecter une atteinte par le SBV. Chez le bovin, des épisodes anormalement fréquents de diarrhée, baisse d'appétit et de production laitière, hyperthermie associés éventuellement à des avortements, et suivi en période de vêlage par la naissance de veaux atteints d'arthrogrypose et/ ou d'hydranencéphalie (ou de troubles nerveux associés), sont évocateurs.

1.1 Adultes (Bovins) :

- Maladie probablement souvent asymptomatique, avec néanmoins quelques cas d'infection aiguë durant la période d'activité des vecteurs.
- Hyperthermie (>40°C)
- Détérioration de l'état général
- Anorexie
- Diminution du rendement laitier
- Diarrhée
- Guérison en quelques jours (au niveau individuel) et en 2 à 3 semaines (à l'échelle du troupeau)
- Avortement.

1.2 Malformations et mortalité (Veaux, agneaux et chevreaux) :

- Arthrogrypose / hydranencéphalie
- Brachygnathie inférieure
- Ankylose
- Torticolis
- Scoliose.

Le pourcentage exact de malformations est inconnu et varie selon le stade de la gestation au moment de la contamination.

➤ Lésions :

a) Chez Les Nouveau-Nés Malformés :

- Hydranencéphalie
- Hypoplasie du système nerveux central
- Porencéphalie
- Œdème sous-cutané (veaux)

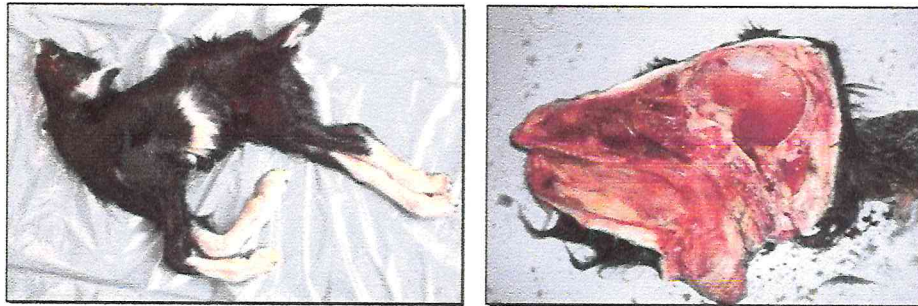


Figure 12 : Malformations (Veaux).

NB : Les symptômes peuvent être décrits succinctement par le terme de syndrome d'arthrogrypose-hydranencéphalie.

Naissance d'animaux malformés avec notamment

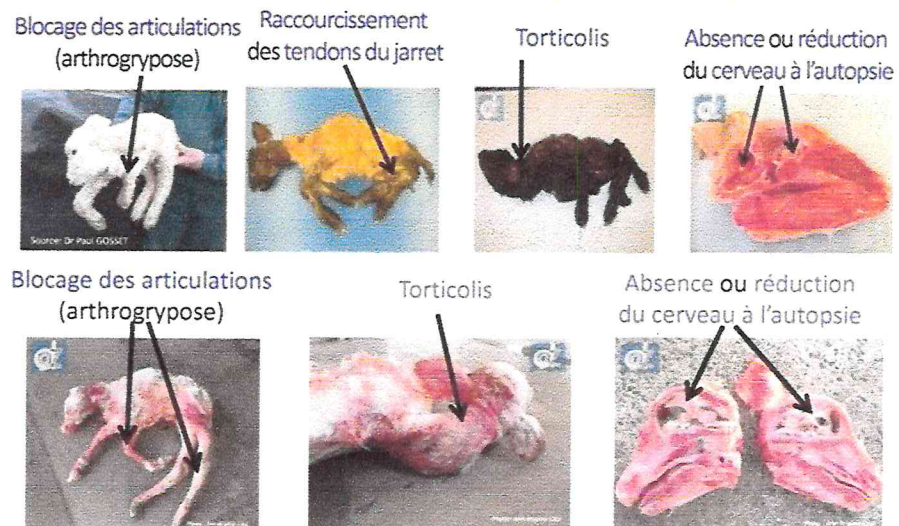


Figure 13 : Malformation congénitale (Veaux).

Des analyses épidémiologiques complémentaires seront requises pour préciser ces lésions.

2. Diagnostic différentiel :

L'atteinte par le SBV doit être distinguée d'une atteinte par d'autres *Orthobunyavirus*, tels les virus *Akabane* et *Aino*, ou le virus de Cache Valley (appartenant au séro groupe *Bunyamwera*, circulant en Amérique du Nord).

Des *Orbivirus*, comme le BTV ou le virus *Chuzan*, appartenant au séro groupe *Palyam*, isolé au Japon à la suite d'une série de naissances de veaux malformés [51], sont à inclure dans le diagnostic différentiel.

En raison des malformations congénitales qu'ils sont susceptibles de provoquer, les BVDV, BDV et le virus de la maladie de Wesselsbron sont aussi à considérer [52].

Neospora caninum est un agent d'avortement d'importance chez les bovins à travers le monde, et peut également être à l'origine d'encéphalomyélite non suppurante chez les veaux en cas d'atteinte congénitale.

Dans ce cas, l'affection se manifeste par des troubles nerveux incluant des déficits proprioceptifs, de l'arthrogrypose, et pouvant conduire jusqu'à la paralysie complète de l'animal [53].

Des causes nutritionnelles (carences des mères en sélénium et/ou manganèse en début de gestation), toxiques (ingestion de lupins entre 40 et 70 jours de gestation) ou physiques (exposition à des radiations ionisantes) peuvent être envisagées [54].

2.1 Infection aiguë chez les animaux adultes :

Les symptômes ne sont pas spécifiques. Toutes les causes possibles d'hyperthermie, de diarrhée, de baisse de la production laitière et d'avortements doivent être prises en compte.

2.2 Malformations chez les veaux, les agneaux et les chevreaux :

- Autres *Orthobunyavirus*
- Fièvre catarrhale du mouton
- Infections à Pestivirus
- Facteurs génétiques
- Substances toxiques

3. Diagnostic biologique (de laboratoire) :

Diagnostic de laboratoire mis en évidence par FLI a développé et diffusé à travers l'Europe deux nouvelles RTqPCR, ciblant soit le segment S, soit le segment L, utilisées actuellement pour détecter le SBV.

La RTqPCR est cependant limitée par la brièveté de la virémie présentée par les animaux atteints par le SBV. En effet, lors d'atteinte congénitale, les malformations peuvent être constatées bien que le virus ait pu être éliminé, rendant ainsi impossible la détection des antigènes ou des acides nucléiques du virus. En cas d'atteinte post-natale chez les bovins la virémie là aussi est brève, 2 à 5 jours d'après les premières données expérimentales.

Différents kits, ciblant les segments S ou L, sont disponibles dans le commerce (Adiavet™ Schmallenberg Virus, Adiaгене® ; TaqVet™ Schmallenberg Virus – S G ene - kit (SBVS), LSI® ; AnDiaTec® BoVir® Schmallenberg virus real time RT-PCR Kit, Andiatec®)

L'isolement viral a, pour l'instant, été réussi à partir de sang de bovin adulte cliniquement atteint.

Il est probable que, comme c'est le cas pour le virus Akabane, cet isolement soit difficile en cas d'atteinte congénitale, à moins qu'il soit réalisé sur un avorton expulsé simultanément à (ou peu de temps après) l'atteinte de sa mère ou suite à une infection in utero proche du terme.

Actuellement, l'isolement viral est réalisé après un premier passage en aveugle sur cellules KC (cellules larvaires de *Culicoides variipennis*) suivi par l'inoculation de cellules BHK-21. L'effet cytopathogène est manifeste après 5 jours d'incubation [4].

Par analogie avec les virus Aino et Akabane, l'isolement sur souriceaux (âgés de 1 à 2 jours, après inoculation intracérébrale) et sur cellules pulmonaires de hamster (HmLu-1) pourraient être des méthodes suffisamment sensibles pour le SBV [55].

Le tropisme d'autres Orthobunyavirus pour les cellules neuronales et astrogliales a été démontré, par immunohistochimie ou immunofluorescence après infection naturelle [56] ou en cultures primaires [57].

De manière intéressante, les placentomes semblent constituer un tissu au sein duquel les Orthobunyavirus sont plus fréquemment isolés en cas d'infection in utero. Parsonson et collaborateurs ont émis l'hypothèse que l'interface foeto-maternelle pourrait constituer un environnement difficile d'accès pour les anticorps neutralisants, et ainsi permettre une répllication accrue. Le système nerveux central est également constitué d'organes à privilégier en cas de recherche de SBV.

Les premiers résultats tendent à prouver par exemple que la RTqPCR est plus sensible lorsque réalisée sur le cerveau que sur le thymus [6].

Le développement d'outils sérologiques devrait permettre de confirmer l'implication du SBV dans de nombreux cas de malformations en l'absence de détection d'ARN viral [58].

4. Démarche diagnostique :

En cas de suspicion d'atteinte clinique causée par le SBV chez les adultes, l'étiologie pourra être confirmée par RTqPCR. Une ARNnémie négative, en raison de la brièveté de cette dernière, ne permet pas d'écarter définitivement le SBV. Le suivi des anticorps spécifiques du SBV par sérologie couplée à trois semaines d'intervalle (test ELISA ou séroneutralisation) peut s'avérer nécessaire pour compléter le diagnostic. En cas de suspicion d'atteintes congénitales ou d'avortements causés par le SBV, les premiers examens à réaliser seront :

- la détection d'anticorps spécifiques du SBV dans le sérum des avortons ou des nouveau-nés avant prise de colostrum (ELISA ou séroneutralisation),
- la détection de l'ARN du SBV par RTqPCR à partir d'un morceau de placente et si possible de l'encéphale des avortons ou nouveau-nés. À défaut, le sang prélevé sur EDTA et la rate peuvent être également testés par RTqPCR, mais le virus semble moins fréquemment détecté dans ces organes que dans le SNC.

Si la démarche s'inscrit dans un diagnostic d'avortement sans suspicion particulière de SBV, il peut être utile de tester le sérum de la mère pour détecter les anticorps spécifiques du SBV, leur absence permettant d'écarter ce virus de l'étiologie de l'avortement.

Pour le SBV, le FLI a déjà mis au point des tests de séroneutralisation et d'immunofluorescence indirecte. Un test ELISA est également en cours de développement [51].

Un kit ELISA indirect du commerce (ID Vet, Montpellier, France) a été récemment validé par l'ANSES et est actuellement disponible.

Les chercheurs du CVI de Wageningen ont eux aussi mis au point un test de séroneutralisation utilisé très récemment dans la première étude de séroprévalence sur le bétail d'un des pays affecté [6].

En cas de suspicion de SBV, les échantillons à prélever sont présentés dans le **Tableau 4**.

En gras, les échantillons à prélever en priorité. IHC : immunohistochimie (non disponible pour le moment). La réaction en chaîne par polymérase en temps réel (RTqPCR) et l'isolement viral seront idéalement réalisés endéans les 24-48h.

Tableau 4 : Echantillons à prélever en cas de suspicion d'atteinte par le virus *Schmallenberg* [58].

	Adulte/mère	Fœtus/avorton/ nouveau-né	Conservation	
			24-48 h	Long terme
Sérologie	Sang sur tube sec	Sang sur tube sec avant/après prise de colostrum	2-20°C	-20°C
RTqPCR	Sang sur tube EDTA	Sang sur tube EDTA avant prise de colostrum	2-8°C	-80°C
		Encéphale		
		Liquide péritonéal		
		Placentome		
		Rate		
		Liquide placentaire		
		Thymus		
		Liquide péricardique		
		Liquide pleural		
Isolement viral et IHC	Sang sur tube EDTA	Sang sur tube EDTA avant prise de colostrum	2-8°C (isolement viral) ; formol 10 % (IHC)	-80°C (isolement viral) ; formol 10 % (IHC)
	Encéphale (bovin, si mortalité)	Encéphale		
		Placentome		
		Thymus		
		Moelle épinière		
		Muscle atteint		
		Rate		
		Rein		
		Cœur		
		Poumon		
Nœuds lymphatiques				

En résumé :

- 1- Prélèvements : Les échantillons doivent être réfrigérés ou congelés pour le transport.
- 2- Détection de l'infection chez les animaux vivants :
 - Détection du virus :
 - ✓ Prélèvements de tissus encéphaliques (cerveau et tronc cérébral)
 - ✓ Liquide amniotique
 - ✓ Nouveau-nés vivants
 - Liquide amniotique et placenta
 - (Méconium)
 - Détection des anticorps
 - ✓ Liquide péricardique
 - ✓ Sang (de préférence précolostral).
- 3- Histopathologie : Examen du système nerveux central (y compris de moelle épinière) après fixation.
- 4- Procédures : Identification de l'agent par :
 - RT-PCR en temps réel (des trousse de PCR sont disponibles dans le commerce)
 - Isolement du virus sur culture cellulaire : cellules d'insectes (KC), cellules de hamsters (BHK), cellules rénales de singe (VERO) [60].

Chapitre V :

Lutte

Chapitre V :

Lutte

1. Conduit à tenir :

En cas de suspicion : le vétérinaire sanitaire de l'exploitation doit réaliser un prélèvement de 1 à 10g d'encéphale sur le nouveau-né ou l'avorton malformé, ainsi qu'une prise de sang de la mère sur tube sec (PCR).

A défaut, effectuer une prise de sang sur la mère qui devra être conservée au Laboratoire Départemental de la Haute-Corse à +4°C.

Remarque : la PCR ne donne des résultats positifs que durant la phase de virémie (2 à 5 jours), par conséquent.

En cas de confirmation : cette maladie n'a pas de statut réglementaire à ce jour. Aucune mesure administrative ne sera prise, mais une enquête épidémiologique sera effectuée.

Néanmoins, comme pour toute maladie, il est conseillé d'isoler les animaux malades et de ne pas les déplacer [61].

2. Traitement :

Seul un traitement symptomatique des animaux atteints est possible : il n'existe actuellement aucun vaccin, ni traitement spécifique pour le virus de Schmallenberg.

3. Prophylaxie Sanitaire :

Des mesures de lutte ciblant les vecteurs potentiels durant leur période d'activité pourraient réduire la transmission virale.

La programmation de la reproduction en dehors de la période d'activité vectorielle devrait réduire le nombre de malformations fœtales [62].

❖ Mesures prises par les Pays Européens infectés :

Les Services Vétérinaires des pays Européens ont mis en place une surveillance de cette pathologie basée sur une surveillance clinique des malformations chez les ruminants visant à déceler la circulation du virus Schmallerberg, la France a mis en place des mesures de surveillance renforcée dans les zones les plus à risque d'introduction du virus, à savoir les régions frontalières avec la Belgique et l'Allemagne.

La définition de cas selon les Services Vétérinaires Français :

Cas clinique suspect est défini comme l'apparition chez les bovins et/ou ovin et/ou caprin

- (i) Avorton ou nouveau-né, malformé (arthrogrypose, raccourcissement des tendons du jarret, déformation de la mâchoire, hydranencéphalie, torticolis,...) ou
- (ii) Nouveau-né présentant des troubles neurologiques (paralysie flasque, mouvements exagérés, hyperexcitabilité, difficulté à téter, ataxie,...).

❖ Notification à l'OIE :

Les foyers d'infection par le virus Schmallerberg ont fait l'objet d'une notification immédiate à l'Organisation mondiale pour la santé animale (OIE). Il n'y a aucune restriction aux échanges d'animaux vivants et de leurs produits à partir des zones atteintes, ni aucune mesure de prévention et de contrôle préconisée.

❖ Rappel et recommandations aux éleveurs :

La réglementation en vigueur interdit le mouvement d'animaux malades, ainsi que la collecte de leur semence et la mise à la consommation de leurs viandes et de leur lait.

Par ailleurs, il est conseillé aux éleveurs de ruminants dont les animaux présentent une hyperthermie, une perte d'appétit, une chute de production chez les vaches laitières, de la diarrhée, des avortements, ou dont les nouveaux-nés présentent des malformations, d'isoler les animaux malades à l'intérieur du bâtiment d'élevage, si possible dans un local d'infirmierie ou de quarantaine, et de contacter leur vétérinaire dans le cadre de la surveillance clinique mise en place [61].

4. Prophylaxie Médical :

4.1 Vaccination :

Un vaccin disponible contre la maladie de Schmallenberg en France

L'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV-Anses) a accordé le 31 juillet et le 5 août derniers deux AMM circonstances exceptionnelles pour les vaccins Bovilis® SBV du laboratoire pharmaceutique MSD Santé Animale et pour le vaccin SBVVAX® du laboratoire pharmaceutique Merial [35].

Conclusion

Conclusion

A la lumière de cette synthèse bibliographique sur la maladie à virus de Shmanllenberg, il ressort, qu'à l'heure actuelle, tous les pays du bassin méditerranéens constituent une zone à haut risque pour le SBV.

L'Algérie, dont le climat est de type méditerranéen, constitue une zone propice au développement des *Culicoides*, vecteurs biologique de SBV. De plus, les échanges commerciaux avec les pays européens et l'importation de bovins ne pourraient qu'augmenter le risque d'introduire la maladie. C'est pourquoi les services vétérinaires de notre pays sont appelés à manifester certaine une vigilance, notamment au niveau des postes frontières nord. A côté de cela, la surveillance clinique basée sur la déclaration passive des cas suspects par les acteurs de la santé animale (éleveurs, vétérinaires libéraux et étatiques... etc.) devrait être consolidée par des campagnes de sensibilisation.

Enfin, nous signalons que des études ont montré que le virus SBV n'affecte pas l'homme. Ceci sous-entend qu'il n'y a aucun risque pour la santé publique.

Les références bibliographiques

- [1] **Martinelle, L. DAL POZZO F KIRSCHVINK N DE LA GRANDIÈRE M.A THIRY E SAEGERMAN C .**
« Le virus Schmallenberg ou l'émergence du premier Orthobunyavirus du séro groupe Simbu en Europe » Ann. Méd. Vét. 156, (2012), 7- 24.
- [2] **Brugère-Picoux, J. et Angot, J.L.**
« La progression du virus Schmallenberg en Europe : une nouvelle maladie d'élevage des ruminants ». Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 165, (1), 2012.
- [3] **ProMed-mail 2012. Schmallenberg virus - Europe (75) : international impact.**
en ligne : <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20121218.1456595>, (page consultée le 15 juin 2013).
- [4] **HOFFMANN B., SCHEUCH M.,HÖPER D., JUNGBLUT R.,HOLSTEG M., SCHIRRMEIER H., ESCHBAUMER M.,GOLLER K.V., WERNIKE K.,FISCHER M., BREITHAUP T.A., METTENLEITER T.C., BEER M.**
Novel Orthobunyavirus in Cattle, Europe, 2011. Emerg. Infect. Dis.,2012, 18, 469-472..
- [5] **Communiqué de presse du CERVA et de l'AFSCA.**
« VIRUS DE SCHMALLEMBERG : PREMIER CAS CHEZ UN FOETUS BOVIN »
site internet : <http://www.coda-cerva.be/> Virus Schmallenberg. Consulté le 12/11/2013.
- [6] **International Society For Infectious Diseases Schmallenberg virus - Europe (0 9)** en ligne : <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20120123.1019416> , consulté le 26/01/2012.
- [7] **World Animal Health Information System Schmallenberg virus, Spain - Immediate notification report.**
en ligne : http://web.oie.int/wahis/public.php?page=single_report&pop=1&reportid=11740, consulté le 24/04/2012.
- [8] **ELLIOTT R.M.** Bunyaviruses and climate change. « Clin. Microbiol Infect»., , 15, 510-517. (2009).
- [9] **Hoffmann, B. 2012.** «Novel orthobunyavirus in Cattle, Europe, 2011. Emerging Infectious Diseases», 18, (3), 469-472 (2012).
- [10] **Bulletin des Services Vétérinaires Numéro spécial**
« Le virus de Schmallenberg : une nouvelle maladie émergente chez les bovins et les petits ruminants en Europe»
site internet : http://viralzone.expasy.org/all_by_protein/82.html#tab7 . Consulté le 12/11/2013.

- [11] **OIE 2013.** Fiche technique de l'OIE : le virus Schmallenberg.
en ligne : http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Our_scientific_expertise/docs/pdf/F_Schmallenberg_virus.pdf, (page consultée le 10 septembre 2013).
- [12] **Elliott, R.M. et Blakqori, G. (2011).**
Bunyaviridae : Molecular and Cellular Biology, Caister Academic Press, Norfolk, 1-39.
- [13] **Claine, F., Coupeau, D., Wiggers, L., Muylkens, B. et Kirschvink, N.**
Schmallenberg virus among female lambs, Belgium, 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 19,(7) (2013).
- [14] **Walter, C.T. et Barr, J.N.**
Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses. *Journal of General Virology*, 92, 2467–2484 (2011).
- [15] **Wernike, K., Hoffmann, B., Bréard, E., Bonter, A., Ponsart, C., Zientara, S., Lohse, L., Pozzi, N., Viarouge, C., Sarradin, P., Leroux-barc, C., Riou, M., Laloy, E., Breithaupt, A. et Beer, M.**
Schmallenberg virus experimental infection of sheep. *Veterinary Microbiology*, 166 (2013), (3-4), 461-466.
- [16] **Whitehouse, C.A. 2004.**
Crimean - Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 64, (3), 145-160
- [17] **Zientara, S. 2013.** Fièvre Catarrhale du Mouton.
en ligne : http://agriculture.gouv.fr/guide_epizooties/monographies/f-fcm.htm, (page consultée le 26 juin 2013)
- [18] **Garigliany, M.M., Bayrou, C., Kleijnen, D., Cassart, D. et Desmecht, D. 2012.**
Schmallenberg Virus in Domestic Cattle, Belgium, 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 18, (9), 1512-1514).
- [19] **Augot, D.**
Surveillance et contrôle des Culicoides vecteurs de la fièvre catarrhale du mouton en France. Centre National d'Expertise sur les Vecteurs, rapport sur l'analyse du cadre actuel de gestion et propositions d'amélioration, 4-31 (2012)
- [20] **Zimmer, J.Y., Losson, B. et Haubruge, E. 2008.**
Biologie et écologie des Culicoïdes (Diptera), vecteurs de la fièvre catarrhale ovine. *Entomologie Faunistique*, 61, (1-2), 53-57
- [21] **Mellor P.S., Boorman J., Baylis M.**
Culicoides biting midges: their role as arbovirus vector. *Annual Review of Entomology*, 45: 307-340. (2000)

- [22] **Jean-Yves Zimmer, Bertrand Losson et Eric Haubruge.**
Faunistic Entomology – Entomologie faunistique 2008 61 (1-2), 53-57
- [23] **Walzer, J.B. 2009.**
Les insectes du genre Culicoides, vecteurs de maladies animales. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Alfort n° 017, 215 pages
- [24] **Purse, B.V., Mellor, P.S., Rogers, D.J., Samuel, A.R., Mertens, P.P.C. et Baylis, M. 2005.**
Climate Change and the Recent Emergence of Bluetongue in Europe. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 171-181
- [25] **KETTLE DS. (1984)** Ceratopogonidae (Biting midges) In: *Medical and Veterinary Entomology*, Bristol, Leaper and Gard Ltd, 137-159.
- [26] **Paul, PERIE. ; René , CHERMETTE. ; Yves , MILLEMANN et Stéphan ZIENTARA .**
Les *Culicoides*, Diptères hématophages vecteurs de la fièvre catarrhale du mouton. *Bull. Acad. Vét. France - Tome 158 - N°3 (2005)*
- [27] **KREMER M, WALLER J, DELECOLLE JC. (1987)**
Systématique des *Culicoides* (Diptères, Cératopogonidés). Critères actuels. *Bulletin de la société française de parasitologie*, 5, 123-132.
- [28] **Goetghebuer M. (1952).**
Le genre *Culicoïdes* (Diptères, Cératopogonidés) et ses représentants en Belgique. *Biologisch Jaarboek*, 19, 185-191.
- [29] **Zimmer J.Y. (2007).** Contribution à l'étude de l'écologie des larves de culicoïdes, vecteurs de la fièvre catarrhale ovine en Belgique. Travail de fin d'études (option Nature et Forêt), Faculté des Sciences agronomiques de Gembloux, Université de Liège, 75 pages.
- [30] **Jamnback, H. et Wirth, W.W. 1963.**
The Species of *Culicoides* Related to *obsoletus* in Eastern North America (Diptera: Ceratopogonidae). *Annals of the Entomological Society America*, 56, (2), 185-198
- [31] **Zimmer, J.Y., Haubruge, E., Francis, F., Bortels, J., Simonon, G., Losson, B., Mignon, B., Paternostre, J., De Deken, R., De Deken, G., Deblauwe, I., Fassotte, C., Cors, R. et Defrance, T. 2008**
Breeding sites of bluetongue vectors in northern Europe. *Veterinary Record*, 162, (4), 1-31
- [32] **Zimmer, J.Y., Saegerman, C., Losson, B. et Haubruge, E. 2010.**
Breeding Sites of Bluetongue Virus Vectors, Belgium. *Emerging Infectious Diseases*, 16, (3), 575-576.

- [33] **Ninio, C., Augot, D., Dufour, B. et Depaquit, J. 2011.**
Emergence of *Culicoides obsoletus* from indoor and outdoor breeding sites. *Veterinary Parasitology*, 183, (1-2), 125-129
- [34] **Losson B., Mignon B., Paternostre J. Madder M., De Deken R., De Deken G., Deblauwe I., Fassotte C., Cors R., Defrance T., Delécolle J.-C., Baldet Th., Haubruge E., Frédéric F.**
Bortels J. & Simonon G.– Biting midges overwintering in Belgium. *Vet. Rec.*, (2007).
- [35] **Murray M.D.**
The seasonal abundance of femal biting-midges, *Culicoides brevitarsis* (Diptera, Ceratopogonidae), in coastal south-eastern Australia. *Aust. J. Zool.*, 39, 333-342. (1991).
- [36] **Braverman Y. & Chechik F.**
Air streams and the introduction of animal diseases borne on *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) into Israël. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 15, 1037-1052. (1996)
- [37] **Rieb J.P.**
Contribution à la connaissance de l'écologie et de la biologie des Cératopogonidés (Diptera, Nematocera). Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles (Diplôme d'État), U.E.R., Vie et Terre, n°10, 395 pages. (1982).
- [38] **Rasmussen, D.L., Kristensen, B., Kirkeby, C., Bruun Rasmussen., Belsham, G.J., Bødker, R. et Bøtner, A.**
Culicoids as Vectors of Schmallenberg Virus. *Emerging Infectious Diseases*, 18, (7), 1204-1206 (2012).
- [39] **Hateley, G.**
Bluetongue in northern Europe: The story so far. *In practice*, 31, (5), 202-209 (2009).
- [40] **Goller, K.V., Höper, D., Schirrmeier, H., Mettenleiter, T.C. et Beer, M. 2012.**
Schmallenberg virus as possible ancestor of Shamonda virus. *Emerging Infectious Diseases*, 18, (10), 1644-1646.
- [41] **Dominguez, M., Hendrikx, P., Zientara, S. et Calavas, D. 2012.**
Bilan de la surveillance de l'infection congénitale par le virus Schmallenberg (SBV) chez les petits ruminants [janvier – mai 2012].
en ligne : <http://www.plateforme-esa.fr/images/documents/20120801bilansbv.pdf>, (page consultée le 26 avril 2013).
- [42] **Ducomble, T., Wilking, H., Stark, K., Takal, A., Askar, M., Schaade, L., Nitsche, A. et Kurth, A. 2012.** Lack of Evidence for Schmallenberg Virus Infection in Highly Exposed Persons, Germany 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 18, (8), 1333-1335

- [43] **Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement et Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, 2010.**
- [44] **HANON J.B SAEGERMAN C., MELLOR P., UYTENHOEF A., , KIRSCHVINK N., HAUBRUGE E., DELCROIX P., HOUTAIN J.Y., POURQUIE R P., VANDENBUSSCHE F., VERHEYDEN B., DE CLERCQ K., CZAPLICKI G.**
The most likely time and place of introduction of BTV8 into Belgian ruminants. PLoS One, 2010, 5, e9405.
- [45] **EFSA 2012.** Schmallenberg virus : analysis of the epidemiological data 2012 en ligne : <http://www.efsa.europa.eu/fr/supporting/doc/360e.pdf>, (page consultée le 20 février 2013)
- [46] en ligne : <http://www.guardian.co.uk/science/2012/jan/23/schmallenberg-virus-confirmed-uk-farms>)
- [47] **Plateforme ESA 2012.** Résultats intermédiaires de l'enquête descriptive réalisée dans les élevages atteints par le virus Schmallenberg (formes congénitales) – Bovins. en ligne : http://www.plateforme-esa.fr/images/documents/12-09-2012_sbv_eqdes_bv_tt3.pdf, (page consultée le 2 juin 2013).
- [48] **Renc. Rech. Ruminants, 2012.**
- [49] **Direction générale de l'alimentation 2012.**
- [50] **WORLD ANIMAL HEALTH INFORMATION SYSTEM**
Schmallenberg virus : Immediatenotificationreport.
en ligne (2012) : https://web.oie.int/wahis/reports/en_imm_0000011660_20120220_174408.pdf, consulté le 25/02/2013.
- [51] **GOTO Y., KONO R., HIRATA M., KAJI M, IKEDA S., YANASE T., KATO T., TANAKA S., TSUTSUI T., IMADA T., YAMAKAWA M.** Bovine epizootic encephalomyelitis caused by Akabane virus in southern Japan. BMC Vet. Res., 2008, 4, 20.
- [52] **ROVID SPICKLER A.**
In : University I.S. (Ed.), Emerging and exotic diseases of animals. 4th ed. Center for Food Security and Public Health : Ames, 2010, 86-87.
- [53] **DE MEERSCHMAN F., FOCANT C., DETRY J., RETTIGNER C., CASSART D., LOSSON B.**
Clinical, pathological and diagnostic aspects of congenital neosporosis in a series of naturally infected calves. Vet. Rec., 2005, 157, 115-118.
- [54] **ORYAN A., SHIRIAN S., SAMADIAN M.R.**

- Congenital craniofacial and skeletal defects with arthrogryposis in two newborn male Holstein Friesian calves. *Comp. Clin. Path.*, 2011, 20, 43-46..
- [55] **Kurogi, H., Akiba, K., Inaba, Y. et Matumoto, M. 1987.**
Isolation of Akabane virus from the biting midge *Culicoides oxystoma* in Japan. *Veterinary Microbiology*. 15, 243–248.
- [56] **NODA Y., UCHINUNO Y., SHIRAKAWA H., NAGASUE S., NAGANO N., OHE R., NARITA M.**
Aino virus antigen in brain lesions of a naturally aborted bovine fetus. *Vet. Pathol.*, 1998, 35, 409-411.
- [57] **KITANI H., YAMAKAWA M., IKEDA H.**
Preferential infection of neuronal and astroglia cells by Akabane virus in primary cultures of fetal bovine brain. *Vet. Microbiol.*, 2000, 73, 269-279.
- [58] **Parsonson, I.M., Della-Porta, A.J., Snowdon, W.A. et O'Halloran, M.L. 1981.**
Experimental infection of bulls with Akabane virus. *Research in Veterinary Science*, 31, (2), 157-160.
- [59] **Ministère fédéral de l'Alimentation, 2012.**
- [60] **FRIEDRICH - LOEFFLER - INSTITUT Information of the Friedrich-Loeffler-Institut on "Schmallenberg virus" (European Shamonda-like Orthobunyavirus).**
en ligne : (2012): http://www.fli.bund.de/fileadmin/dam_uploads/tierseuchen/Schmallenberg_Virus/Schmallenberg-Virus-Factsheet-20120131-en.pdf, consulté le 03/02/2012.
- [61] **CNRS Source : CNRS - ENSV - DDCSPP2B - ENSV - DDCSPP2B. 2010.**
- [62] **Kristel Gache 2013.**