

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES	9
LISTE DES TABLEAUX	10
LISTE DES ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION	13
Première partie : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	15
I. LE VIRUS DE LA DIARRHÉE VIRALE BOVINE (BVD) : PRÉSENTATION	17
I.1. Historique et importance	17
I.2. Taxonomie	18
I.3. Propriétés structurales et biologiques du virus	19
II. PATHOGENÈSE, EXPRESSION CLINIQUE ET CONSÉQUENCES ÉPIDÉMIOLOGIQUES	25
II.1. Infections postnatales transitoires, hors gestation	25
II.2. Cas particulier de la maladie des muqueuses (<i>stricto sensu</i>)	28
II.3. Infection d'une femelle gravide	30
III. OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE D'UNE INFECTION PAR LE VIRUS DU BVD	34
III.1. Méthodes de détection virale	34
III.2. Méthode de détection sérologique	38
III.3. Statut de l'animal en fonction de son profil virologique et sérologique	43
Deuxième partie : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE	45
IV. RAPPEL DES OBJECTIFS DE L'ÉTUDE	47
V. MATÉRIEL ET MÉTHODES	48
V.1. Structure d'accueil	48
V.2. Animaux	48
V.3. Analyses	49
V.4. Calcul de la prévalence d'individus IPI	51
VI. RESULTATS	52
VI.1. Animaux inclus	52
VI.2. Prévalence des individus IPI à l'allotement	55
VI.3. Séropositivité initiale en centre de rassemblement et séroconversion des JB en atelier d'engraissement	55
VI.4. Circulation virale dans les lots de JB avec un IPI	57
VI.5. Contamination virale au centre d'allotement	59
VII. DISCUSSION	63
VII.1. Structure du protocole expérimental	63
VII.1. Prévalence des individus IPI	64
VII.2. Séroprévalence initiale et séroconversion	69
VII.1. Circulation virale en centre de rassemblement et en ateliers d'engraissement	71
CONCLUSION	75

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Organisation structurale d'un Flaviviridae (www.viralzone.expasy.org).....	19
Figure 2 : Organisation génomique du virus BVD (Flamant, 2006).....	20
Figure 3 : Phylogénèse et classification de Pestivirus (56 isolats, 5'NT, Npro, E2) (Liu <i>et al.</i> , 2009).....	22
Figure 4 : Pathogénie de la Maladie des Muqueuses (Maillard <i>et al.</i> , 2004).....	29
Figure 5 : Conséquences de l'infection par le virus du BVD en fonction du mois de gestation (Grooms, 2004)	30
Figure 6 : Conséquences immunitaires de l'infection pendant la gestation (Foucras, 2009)..	32
Figure 7 : Principe de la méthode ELISA capture d'antigène (ACE).....	35
Figure 8 : Principe de l'immunofluorescence appliquée à un tissu fixé au formol.....	36
Figure 9 : Principe de la réaction de séroneutralisation	39
Figure 10 : Résumé des étapes d'un test ELISA indirect.....	40
Figure 11 : Résumé des étapes d'un test ELISA de compétition pour le cas de séronégativité (patient 1) et de séropositivité (patient 2) (www.axiumcafe.fr).....	41

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Prévalence du BVD au sein de différents pays entre 1990-2003 (Goetgheluck, 2002).....	18
Tableau 2 : Principales différences entre les souches CP et NCP (Pastoret et <i>al.</i> , 1997).....	23
Tableau 3 : Caractéristiques des infections transitoires et permanentes provoquées par le virus BVD (Schelcher et <i>al.</i> , 2012).....	25
Tableau 4 : Malformations congénitales associées à l'infection du fœtus par le virus du BVD (Grooms et <i>al.</i> , 2004).....	33
Tableau 5 : Interprétation des tests virologiques (Brock, 1995).....	38
Tableau 6 : Interprétations des tests sérologiques.....	42
Tableau 7 : Interprétation des couplages sérologie-virologie (Sandvik, 1999).....	43
Tableau 8 : Résultats sérologiques et virologiques des différents lots de JB.....	54
Tableau 9 : Résultats virologiques et sérologiques des individus IPI.....	55
Tableau 10 : Taux de séroconversion et séronégativité des JB.....	56
Tableau 11 : Taux de séroconversion dans les lots de JB avec IPI.....	57
Tableau 12 : Table de contingence de la séroconversion minimale si présence d'IPI dans le lot.....	58
Tableau 13 : Table de contingence de la séroconversion moyenne si présence d'IPI dans le lot.....	58
Tableau 14 : Table de contingence de la séroconversion maximale si présence d'IPI dans le lot.....	58
Tableau 15 : Circulation virale par lot.....	60
Tableau 16 : Taux de séroconversion dans les lots sans IPI ayant été ou pas allotés la même semaine qu'un lot avec IPI.....	61
Tableau 17 : Table de contingence de la séroconversion minimale d'un lot sans IPI mais potentiellement en contact avec un animal IPI au centre d'allotement.....	62
Tableau 18 : Table de contingence de la séroconversion moyenne d'un lot sans IPI mais potentiellement en contact avec un animal IPI au centre d'allotement.....	62
Tableau 19 : Table de contingence de la séroconversion maximale d'un lot sans IPI mais potentiellement en contact avec un animal IPI au centre d'allotement.....	62
Tableau 20 : Prévalence de JB Infectés Permanents Immunotolérants (IPI) dans différents pays.....	65
Tableau 21 : Prévalence de veaux Infectés Permanents Immunotolérants (IPI) dans différents pays.....	67
Tableau 22 : Séroprévalence à l'allotement et séroconversion au BVDV des veaux dans différents pays.....	70

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

ACE : ELISA Capture d'Antigène

Ag : Antigène

ARN : Acide RiboNucléique

BDV : Virus de la Border Disease

BVDV : Virus de la Diarrhée Virale Bovine

CP : Cytopathogène

CSFV : Virus de la Peste Porcine Classique

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay ; dosage d'immunoabsorption par une enzyme liée

E. coli : *Escherichia coli*

GMQ : Gain Moyen Quotidien

IBR : virus de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine

IC : Intervalle de Confiance

IHC : ImmunoHistoChimie

IPI : Infecté Permanent Immunotolérant

JB : Jeune Bovin

JBB : Jeune Bovin Blond d'Aquitaine

IT : Infecté Transitoire

LB : Lymphocyte B

LH : Hormone Lutéinisante

LT : Lymphocyte T

MSI : Matière Sèche Ingérée

NCP : Non-Cytopathogène

Neg : Négatif

OR : Odd Ratio

P : P-value

Pos : Positif

PCR : Polymerase Chain Reaction ; réaction en chaine par polymérase

Pi3 : virus Parainfluenza 3

RSBV : Virus Respiratoire Syncytial Bovin

RT-PCR :

Séro. : Sérologie

Séro+ : Séropositif

Séro- : Séronégatif

Séroconv. : Séroconversion

Viro+ : Viropositif

Viro- : Vironégatif

INTRODUCTION

Le virus de la Diarrhée Virale Bovine (BVD) a une répartition ubiquiste mondiale, et est reconnu comme un agent infectieux à impact sanitaire et économique très important (Campbell, 2004). Une de ses particularités est la présence, aux côtés d'animaux « infectés transitoires » (IT), d'animaux « infectés permanents immunotolérants » (IPI), excréant à vie des quantités importantes de virus et facilitant l'entretien et la propagation de la maladie. De plus, le BVD se manifeste à travers une grande diversité de formes cliniques, avec des effets directs du virus sur l'état sanitaire des animaux (entérite diarrhéique, avortement, malformation fœtale, syndrome hémorragique ...), mais aussi, et surtout, des effets indirects liés à son rôle immunosuppresseur et favorisant d'autres maladies. Ainsi, le BVD est, entre autre, reconnu comme favorisant les maladies diarrhéiques du jeune veau et les maladies respiratoires des bovins d'élevage et ceux à l'engraissement (Schelcher, 1993 ; Booker, 1999 ; O'Connor, 2001 ; Shahriar, 2002 ; Fulton, 2002 ; Cambell 2004).

Les troubles respiratoires représentent de loin l'entité pathologique la plus importante dans les ateliers d'engraissement de jeunes bovins de boucherie (Richer, 1988 ; Martin, 1990). Le virus de la BVD participe à la pathogénèse des bronchopneumonies enzootiques bovines soit en tant qu'agent infectieux respiratoire principal, soit à travers l'immunosuppression qu'il engendre (effet synergique avec d'autres agents pathogènes respiratoires ; Potgieter, 1984 & 1985 ; Baker, 1987 ; Schelcher, 1993 ; Bradersen, 1998 ; Liu, 1998 ; Farshld, 2002)

L'impact négatif de la circulation du virus du BVD sur les performances sanitaires (nombre de traitements administrés, récurrences, mortalité...) et zootechniques (gain moyen quotidien, indice de consommation, durée de l'engraissement, qualité de carcasse ...) d'un lot de jeunes bovins (JB) à l'engrais a été démontré dans de nombreuses publications (Martin, 1990 ; Fulton, 2002 ; Munoz-Zanzi, 2003 ; Loneragan, 2005 ; O'Connor, 2008 ; Waldner, 2008 ; Hessman, 2009 ; Burciaga-Robles, 2010 ; Richerson, 2012). Cependant, certaines études n'ont retrouvé que peu ou pas d'associations entre présence de BVD et performances zootechniques (Stevens, 2007 ; Booker, 2008 ; Elam, 2008 ; Stevens, 2009), voire entre présence de BVD et certains critères sanitaires (Booker, 2008). Une étude montre même un éventuel effet protecteur de la présence d'animaux IPI au sein d'un lot de JB (O'Connor, 2005). La variabilité des protocoles expérimentaux et des statuts des animaux retenus dans ces études pourrait contribuer à expliquer une part importante de la discordance entre ces études. En effet, si la circulation virale est parfois clairement recherchée et démontrée (Martin, 1990

& 1999 ; Fulton, 2002), beaucoup d'études portent sur la présence d'IPI, et ne s'intéressent pas au statut sérologique initial des animaux, à la présence réelle d'une séroconversion ou à la présence de virémie (O'Connor, 2005 ; Booker, 2008 ; Elam, 2008 ; Loneregan, 2008 ; Waldner, 2008 ; Hessman, 2009 ; Burciaga-Robles, 2010 ; Richeson, 2012). Or, une infection virale sauvage de BVD apporte une protection de bonne qualité face à des contaminations ultérieures (Howard, 1990 ; Loken, 1991 ; Sandvik 1999). Le statut sérologique initial est donc un élément clé pour évaluer les effets sanitaires et zootechniques de la présence de BVD. De plus, la durée d'expérimentation varie fortement entre les études, de quelques dizaines à plusieurs centaines de jours.

Par ailleurs, en raison de la différence dans l'intensité et la durée d'excrétion virale, la présence d'un animal IT ou IPI dans un lot de JB à l'engrais pourrait avoir des impacts zootechniques et sanitaires d'intensité variable. Quelle que soit la taille de l'atelier d'engraissement, la majorité des animaux y entrant sont au préalable ré-allotés dans un centre de rassemblement. Le mélange d'animaux et le tri sur des critères généralement de poids, de race et de sexe conduisent à une redistribution des animaux IPI ou IT entrés en centre d'allotement entre les divers lots d'engraissement, et à la création de nouveaux animaux IT entrant en atelier d'engraissement, avec la contamination d'animaux sains par des IPI ou IT. Les lots d'engraissement étant généralement stables, le risque principal de contamination et de circulation virale apparaît bien au ré-allotement en centre de rassemblement, dans les systèmes d'engraissement européens et nord-américains.

Ainsi, évaluer les impacts sanitaire et zootechnique associés à la présence de BVD en atelier d'engraissement en France, et en déduire l'impact économique associé, nécessitent une définition précise de (i) la prévalence d'animaux IPI et IT entrant en centre de rassemblement et en atelier d'engraissement, (ii) la prévalence d'ateliers d'engraissement avec circulation virale ou avec séroconversion des animaux et (iii) la prévalence des animaux séropositifs à l'entrée.

La présente étude a pour ambition de déterminer ces trois prévalences dans les ateliers d'engraissement de JB de race Blonde d'Aquitaine du Sud-Ouest de la France.

Dans une première partie, seront abordées les grandes caractéristiques de la maladie nécessaires à la compréhension du complexe « Diarrhée Virale Bovine/Maladie des Muqueuses » (BVD/MD). Dans un second temps, sera présentée l'expérimentation mise en place pour répondre aux interrogations soulevées.

Première partie :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LE VIRUS DE LA DIARRHÉE VIRALE BOVINE (BVD) : PRESENTATION

I.1. Historique et importance

En 1946, Olafson décrit pour la première fois une nouvelle maladie touchant les bovins adultes, avec une forte morbidité et une faible létalité, au centre du Canada et au Nord-Est des Etats Unis (New-York). Elle provoque une diarrhée aiguë bénigne assimilée à une « grippe intestinale » contagieuse, accompagnée d'une leucopénie, hyperthermie, jetage, anorexie, et parfois avortement de certaines vaches. N'ayant pas réussi à mettre en évidence des bactéries, un virus semble responsable des symptômes. La maladie reçoit alors le nom de « viral diarrhea » ou Virus de la Diarrhée Virale Bovine (BVDV, Olafson et *al.*, 1946).

Quelques années plus tard, une maladie mortelle touchant les jeunes bovins émerge dans l'Iowa. Ramsey et Chivers décrivent la « maladie des muqueuses du bétail » (Ramsey et *al.*, 1953). Les signes cliniques rapportés sont relativement similaires à ceux du Virus de la Diarrhée Virale Bovine. Cependant le taux de morbidité est plus bas et le taux de létalité très élevé. Les autopsies révèlent des lésions d'érosion et d'ulcération des muqueuses dans le tractus gastro-intestinal. L'étiologie reste inconnue, les analyses bactériologiques étant négatives.

Ce n'est qu'en 1961 que Gillespy et ses collaborateurs mettent en évidence une parenté antigénique entre les agents viraux responsables des deux affections décrites précédemment. On parle alors du complexe virus de la « Diarrhée Virale Bovine/Maladie des Muqueuses » ou « BVD/MD » (Pritchard, 1963).

A l'heure actuelle, le BVD est présent sur les cinq continents, dans la plupart des pays, avec un pourcentage d'individus séropositifs (suite au contact du BVDV ou vaccination) compris entre 18% et 89% selon la localisation géographique (Tableau 1).

Pays	Prévalence nationale Ac estimée	Prévalence nationale IPI estimée
Royaume-Uni	64.9%	1.8%
Danemark	64%	1.1%
Suède	41%	1.3%
Norvège	18.5%	Quasi-éradiqué
Suisse	56%	0.5%
France (Rhône-Alpes)	56.6%	0.8%
Etats-Unis d'Amérique	57-89%	1.7%
Chili	74%	/
Nouvelle-Zélande	63%	/

Tableau 1 : Prévalence du BVD au sein de différents pays entre 1990-2003

(Goetgheluck, 2002)

L'importance médicale et économique de la maladie repose en partie sur les pertes directes provoquées par les signes cliniques, mais la détection des principaux individus excréteurs (individu Infecté Permanent Immunotolérant (IPI)) et les difficultés à éradiquer la maladie restent les points déterminants. Le cas particulier de la forme clinique de la maladie des muqueuses est rare, mais inexorablement létal.

I.2. Taxonomie

Le virus responsable du complexe « Diarrhée Virale Bovine/Maladie des Muqueuses », appelé Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) appartient au genre *Pestivirus*, de la famille des *Flaviridae* (Colett et al. 1988). Ce genre comprend aussi, entre autre, le virus de la Border Disease (BDV) et le virus de la Peste Porcine Classique (CSFV).

Ces trois *Pestivirus* sont étroitement apparentés sur les plans structural et antigénique.

I.3. Propriétés structurales et biologiques du virus

I.3.1. Morphologie

Les *Pestivirus* sont de petits virus sphériques, enveloppés, de 40 à 60 nm de diamètre. Ils possèdent une nucléocapside à symétrie icosaédrique, entourée d'une enveloppe lipoprotéique. Au microscope électronique, les particules virales apparaissent lisses (Figure 1).

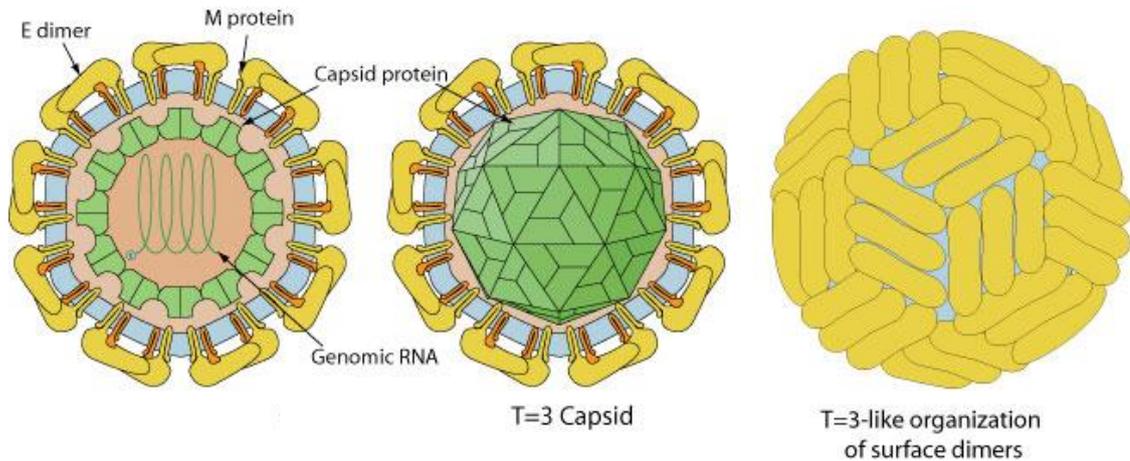


Figure 1 : Organisation structurale d'un Flaviviridae (www.viralzone.expasy.org)

Légende : C : Protéine de capsid C ; E : Protéine d'enveloppe E ; M : Protéine de membrane

I.3.2. Génome et protéines virales

Le génome du BVDV est constitué d'un simple brin d'ARN monocaténaire, à polarité positive, d'environ 12,3 kb. Il se compose d'un long cadre de lecture ouvert codant pour une polyprotéine de près de 4 000 acides aminés (Jeffrey et Wells, 1989). Après clivage, elle donne 4 protéines structurales (premier tiers à gauche du génome – extrémité 5') et 8 protéines non structurales (deux tiers restants – extrémité 3') ; les deux extrémités sont quant à elles non transcrites.

a. Protéines structurales

La protéine C (anciennement P14) est l'unité constitutive de la nucléocapside tandis que les glycoprotéines E0 (anciennement Gp48), E1 (anciennement Gp25) et surtout E2 (anciennement Gp53) sont constitutives de l'enveloppe (Figure 2).

Après une infection naturelle par le virus du BVD ou suite à l'utilisation d'un vaccin (comportant une valence BVDV), ce sont ces protéines E, et plus particulièrement E2 (plus immunogènes), qui induisent la production d'un fort taux d'anticorps neutralisants.

Ce sont également ces protéines structurales qui sont à l'origine de la grande variabilité antigénique des *Pestivirus*.

5' UTR Nouvelle nomenclature	Npro	C	E0	E1	E2	P 7	NS2-3		NS4 A	NS4 B	NS5 A	NS5 B	3'UT R
							NS 2	NS 3					
Ancienne nomenclature	P20	P14	Gp48	Gp25	Gp5 3	P 7	P125		P10	P32	P58	P75	
							P54	P80					
Non codant	Prot.	Capside	Enveloppe				Protéines non structurales (NS)					Non codant	
	NS	Protéines structurales (S)											

Figure 2 : Organisation génomique du virus BVD (Flamant, 2006)

Légende : C : protéine de la capside ; E : protéine de l'enveloppe ; Gp : glycoprotéine ; P : protéine ; NS : protéine non structurale

b. Protéines non structurales

Les protéines non-structurales sont beaucoup plus conservées au sein du genre des *Pestivirus* que les protéines structurales (Figure 2).

La protéine P7 (à la frontière entre les protéines structurales et non structurales) joue un rôle dans la maturation glycoprotéique et/ou la morphologie du virus (Elbers et al., 1996).

La première protéine non structurale de la phase de lecture est la protéine NS2/3 (anciennement P125). Elle joue sans conteste le rôle le plus important. Elle se compose de 2 protéines, la NS2 (anciennement P54) et la NS3 (anciennement P80). Son clivage est réalisé uniquement dans les biotypes cytopathogènes (cf 1.3.3).

NS3 est la protéine non structurale la plus conservée dans le genre des *Pestivirus* et est également la plus immunogène des protéines non structurales (E2 reste la plus immunogène

des protéines). NS2-3 est la protéine mise en évidence dans les tests de dépistage sérologiques (ELISA Ac) et virologiques (ELISA Ag). Néanmoins, la production d'anticorps qu'elle induit, bien qu'importante n'est pas neutralisante.

I.3.3. *Variabilité génétique*

Le BVDV, comme les autres virus à ARN, se caractérise par une importante variabilité génétique (fréquence de mutation élevée, propension à la recombinaison, pression de sélection).

Cette variabilité est marquée pour les protéines structurales (C, E0, E1, E2) alors qu'elle est très faible pour les protéines non structurales et particulièrement NS2-3 (très conservées). Grâce notamment à la variabilité élevée de la protéine E2, il est possible de différencier deux génotypes différents (Figure 3), BVDV-1 et BVDV-2, eux-mêmes divisés en 13 sous-types génétiquement distincts (1a à 1k et 2a, 2b ; Ridpath et *al.*, 1994 & Bolin et Grooms, 2004). Les souches de génotype 2 (BVDV-2) ont été associées à des formes cliniques sévères : dépression marquée, hyperthermie sévère (jusqu'à plus de 42°C), anorexie, dyspnée (broncho-pneumonie aiguë), diarrhée aqueuse parfois hémorragique (Ellis et *al.*, 1998 ; Odeon et *al.*, 1999).

Cependant la virulence d'une souche n'est pas parfaitement corrélée avec son génotype. D'une part, ces formes sévères ont aussi été rencontrées avec des souches de génotype 1 ; d'autre part, il existe des souches peu pathogènes de génotype 2. Il n'existe d'ailleurs aucun marqueur de cette hypervirulence.

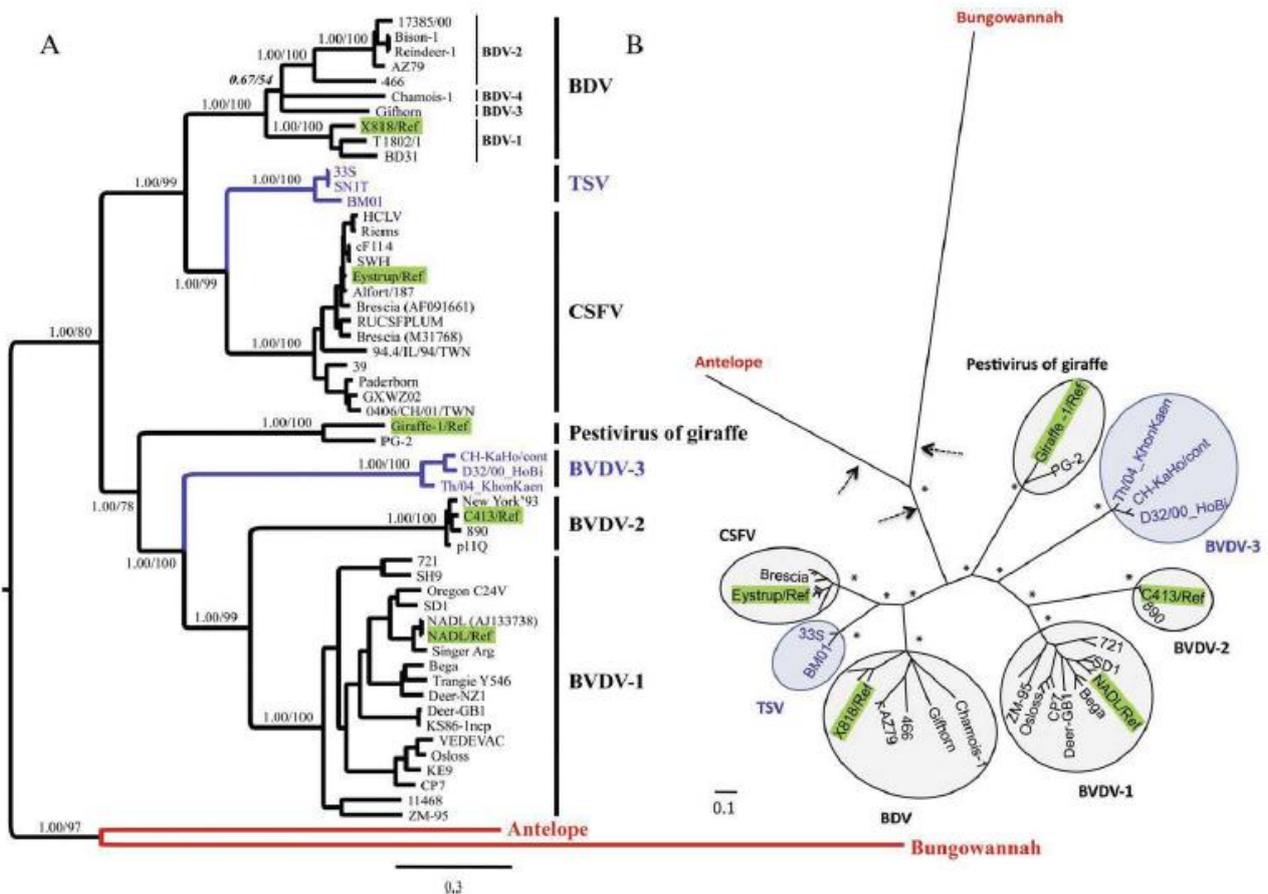


Figure 3 : Phylogénèse et classification de Pestivirus (56 isolats, 5'NT, Npro, E2)
(Liu *et al.*, 2009)

I.3.4. *Notion de biotype*

Les différentes souches de virus du BVD se répartissent en deux biotypes présents dans la nature, l'un dit cytopathogène (CP), l'autre dit non-cytopathogène (NCP). Cette distinction entre souches CP et NCP ne peut être faite que suite à la mise en culture cellulaire (*in-vitro*) du virus. Les souches cytopathogènes entraînent une vacuolisation cytoplasmique et la mort des cellules en quelques jours de culture. Les principales différences entre les souches CP et NCP sont présentées dans le tableau 2.

	Biotype Non-cytopathogène (NCP)	Biotype Cythopathogène (CP)
Transmission	Horizontale/Verticale	Strictement horizontale
Passage barrière placentaire	Oui	Non
Virémie portage	Fréquente	Rare
Clinique	Signes variables	IPI : MD ¹ Non IPI : signes minimes
Apparition d'anticorps neutralisants (réponse humorale)	Précoce : 14 ^{ième} jour post infection Taux maximal d'Ac élevé	Tardive : 25 ^{ième} jour post infection Taux maximal d'Ac faible
Localisation	Cellules sanguines et organes associés à la circulation sanguine, tractus respiratoire, système nerveux central (IPI), ...	Intestin +++

Tableau 2 : Principales différences entre les souches CP et NCP (Pastoret et *al.*, 1997)

¹ IPI : Infecté permanent immunotolérant ; MD : Maladie des Muqueuses

Les souches NCP sont plus répandues dans la nature, tandis que les souches CP sont le résultat d'une recombinaison homologue ou hétérologue d'un ARN viral non-cytopathogène. Cette recombinaison survient exclusivement dans la région génomique codant pour la protéine non structurale NS2-3 de la souche NCP. Le phénomène de recombinaison provoque un clivage de la grande protéine NS2-3 (codée par la souche NCP) en deux protéines plus petites NS-2 et NS-3 (Hamers et *al.*, 2001).

D'un point de vue épidémiologique, le biotype NCP est le seul responsable des infections persistantes (IPI) (Brownlie et *al.*, 1989). En revanche si une souche CP surinfecte un bovin infecté de manière persistante par une souche NCP, elle provoque chez lui une Maladie des Muqueuses (MD) d'évolution d'autant plus aiguë que la souche CP est homologue à la souche NCP (Brownlie et *al.*, 1987 ; Boulanger et *al.*, 1993).

Toutefois, le biotype ne peut en aucun cas préjuger de la virulence qu'aura le virus *in vivo*.

I.3.5. *Spectre d'hôte et transmission interspécifique*

Le BVDV infecte principalement les bovins, celui du virus de la Border Disease (BDV) les petits ruminants (ovins et caprins) et celui de la Peste Classique Porcine (Classical Swine Fever - CSFV) les porcins. Cependant les *Pestivirus* présentent une affinité relative pour leur hôte. En effet, certains *Pestivirus* peuvent franchir la barrière d'espèce et infecter la quasi-totalité des ongulés, à l'instar du BVDV qui peut induire des signes cliniques sur des ovins (Chappuis, 1993).

I.3.6. *Sensibilité du virus*

Les *Pestivirus* sont des virus faiblement résistants dans le milieu extérieur (persistance de 10 jours dans le fumier).

Ils sont très sensibles aux détergents du fait de la structure lipidique de leur enveloppe (Gardiner et *al.*, 1972), aux ultra-violets et à la chaleur (inactivés à 60°C pendant 90 mn), mais résistent très bien à la réfrigération (virulence conservée après 6 jours à 4°C) (Roeder et *al.*, 1980) et à la congélation (Gardiner et Barlow, 1972).

II. PATHOGENESE, EXPRESSION CLINIQUE ET CONSEQUENCES EPIDEMIOLOGIQUES

La contamination par le virus du BVD peut être verticale (de la mère au fœtus) ou horizontale (entre congénères). Les conséquences épidémiologiques et cliniques en sont multiples. C'est pourquoi sera détaillée, dans un premier temps, l'infection d'une femelle gravide par le virus du BVD et, dans un second temps, celle hors gestation.

II.1. Infections postnatales transitoires, hors gestation

Dans les conditions naturelles, la contamination horizontale par le virus du BVD est essentiellement liée aux contacts directs (oro-nasal) avec un individu excréteur, qu'il soit infecté transitoire ou IPI. Après une phase initiale de multiplication nasopharyngée, le virus envahit l'organisme par voie sanguine (forme libre dans le sérum ou liée aux sous-populations leucocytaires). Cette phase virémique transitoire, durant en moyenne 3 à 10 jours peut se prolonger jusqu'à 30 jours. Les anticorps apparaissent 8 à 15 jours plus tard, avec un taux maximal vers 10 à 12 semaines (Schelcher et *al.*, 1993).

Les différences entre un individu IPI et un individu infecté transitoirement sont présentées dans le tableau 3 ci-dessous.

	Infection permanente		Infection transitoire
Virémie	Durée	Toute la vie	Quelques jours
	Intensité	Elevée mais fluctuante	Faible à modérée
Excrétion	Durée	Toute la vie	Quelques jours (excepté le sperme)
	Intensité	Elevée	Faible à modérée
Statut sérologique	Absence d'anticorps anti-NS3/P80		Séroconversion (passage de 0 à +) (sauf en période néonatale après ingestion du colostrum)
Expression clinique	Aucune		Aucune
	Retard de croissance		Syndrome hémorragique
	Maladie des Muqueuses au sens strict		Infécondité, avortements, affections digestives, respiratoires...
	Affections digestives, pulmonaires...		

Tableau 3 : Caractéristiques des infections transitoires et permanentes provoquées par le virus BVD (Schelcher et *al.*, 2012)

L'infection par le virus du BVD provoque une immunodépression marquée qui semble être à l'origine de la plupart des effets pathogènes observés. Elle provoque une baisse marquée du nombre absolu de lymphocytes B (LB) et lymphocytes T (LT), du pourcentage de LT (Bolin SR et *al.*, 1985), une diminution de la sécrétion d'immunoglobuline par les LB (Muscoplat CC et *al.*, 1973), de la production d'anticorps (Houe H et *al.*, 1995), et la dépréciation de la chimiotaxie des monocytes (Janzen ED et *al.*, 1995).

Dans 60 à 90% des cas, l'infection par le virus du BVD est sub-clinique ou de gravité mineure (Schelcher et *al.*, 1993). Cependant, certaines infections peuvent être beaucoup plus sévères voire létales.

II.1.1. *Troubles digestifs*

a. Jeune adulte

Les animaux atteints ont une diarrhée abondante, parfois sanguinolente ou mucoïde avec altération de l'état général, une hyperthermie (40-41°C), une dysorexie et une chute de la production laitière. L'érosion des muqueuses gingivale et linguale est observée tardivement (5-10 jours) ; elle provoque un ptyalisme proportionnel à l'étendue des lésions. La morbidité est généralement élevée tandis que la mortalité reste faible (Schelcher et *al.*, 1993)

b. Nouveau-né

Il est difficile d'apprécier l'imputabilité du BVDV lors de diarrhées néonatales, compte tenu des difficultés de diagnostic. Il est admis que dans les conditions de terrain, tous les cas de figures sont envisageables. La circulation de BVDV dans un élevage peut provoquer un épisode diarrhéique chez les veaux de moins de 15 jours, avec hyperthermie et mucus dans les fèces, d'évolution parfois mortelle.

Néanmoins, le BVD semble le plus souvent jouer un rôle de co-infectant du fait de l'immunosuppression qu'il induit. Il favorise le développement des autres agents infectieux fréquemment isolés dans les entérites néonatales (Coronavirus, Rotavirus, *E. Coli*, Cryptosporidies) et en aggrave le tableau clinique (Schelcher et *al.*, 1993).

II.1.2. *Troubles respiratoires*

Les troubles respiratoires se retrouvent surtout chez les bovins d'élevage et dans les lots de bovins à l'engraissement. Ils sont en général la résultante d'une cascade d'événements :

- stress, à l'instar de celui provoqué par le transport, l'allotement ou le changement alimentaire (bovins à l'engrais)
- surdensité, mélange d'animaux de tous âges, condition de logement dégradée type ventilation (veaux d'élevage, broutards), mélange de microbisme d'animaux d'origine différente (bovins à l'engrais)
- prédisposition des animaux aux infections virales, dont les principaux sont les virus du BVD, virus Respiratoire Syncytial Bovin (RSBV), virus de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR), virus Parainfluenza 3 (Pi3)
- surinfections bactériennes de l'appareil respiratoire

Bien que le virus du BVD soit le virus le plus souvent isolé dans les infections virales multiples des jeunes bovins présentant des troubles respiratoires (Richard et *al.*, 1988), son rôle n'est pas clairement défini. En effet, certaines souches ont un rôle pathogène direct, pouvant causer à elles seules des troubles respiratoires chez les jeunes bovins (Archambault et *al.*, 2000 ; Baule et *al.*, 2001) avec des lésions touchant moins de 2% du poumon (Schelcher et *al.*, 1993) tandis que d'autres jouent un rôle synergique et potentialisent les agents pathogènes majeurs responsables de troubles respiratoires sévères tels que les virus de l'IBR (Potgieter et *al.*, 1984), le Pi3 (Schelcher et *al.*, 1993), le RSB (Brodersen et *al.*, 1998), les bactéries comme *Mannheimia haemolytica* (Potgieter et *al.*, 1982, 1984 & 1985) et les mycoplasmes (Farshld et *al.*, 2002). Cette synergie s'expliquerait par le rôle immunosuppresseur du BVDV. Il agit sur les macrophages alvéolaires en diminuant de façon significative l'expression des récepteurs Fc, la fusion phagosome-lysosome et la sécrétion de facteurs chimiotactiques (Liu et *al.*, 1998).

II.1.3. *Troubles hémorragiques*

Les signes cliniques observables sont alors du purpura, de l'épistaxis, une diarrhée hémorragique, des suffusions sur les muqueuses génitales, oculaires et les séreuses (intestinale, cardiaque et respiratoire) ainsi que des saignements persistants au niveau des sites d'injection. Un tableau fébrile y est également associé. Expérimentalement, des essais de reproduction de cette affection ont été conduits, afin de mettre en évidence le mécanisme à l'origine de ces troubles hématologiques. L'explication la plus probable serait une thrombocytopenie sévère due à une destruction massive des plaquettes par le virus. Cependant, lors de cet essai, ce sont des cellules sanguines mononuclées infectées par le BVDV qui avaient été administrées par transfusion intraveineuse, ce qui ne correspond pas à la réalité de l'infection. D'autres essais sont donc nécessaires pour confirmer cette hypothèse. L'évolution est mortelle dans la quasi-totalité des cas.

II.2. **Cas particulier de la maladie des muqueuses (*stricto sensu*)**

Il s'agit de la forme initialement observée par Ramsey en 1953. La clé de la compréhension du mystère de la Maladie des Muqueuses n'a été découverte qu'en 1968 quand deux souches de BVDV (une NCP et l'autre CP) ont été isolées sur un même veau présentant ces symptômes.

II.2.1. *Pathogénèse*

La maladie ne se déclenche que lorsqu'un individu IPI (immunotolérant d'une souche NCP) est infecté par une souche CP (Brownlie et *al.*, 1984 ; Bolin et *al.*, 1985) suffisamment proche génétiquement de la souche NCP. La Maladie des Muqueuses est observée majoritairement sur des animaux de 6 mois à 2 ans. Les trois cas de figure envisageables sont retranscrits dans la figure 4.

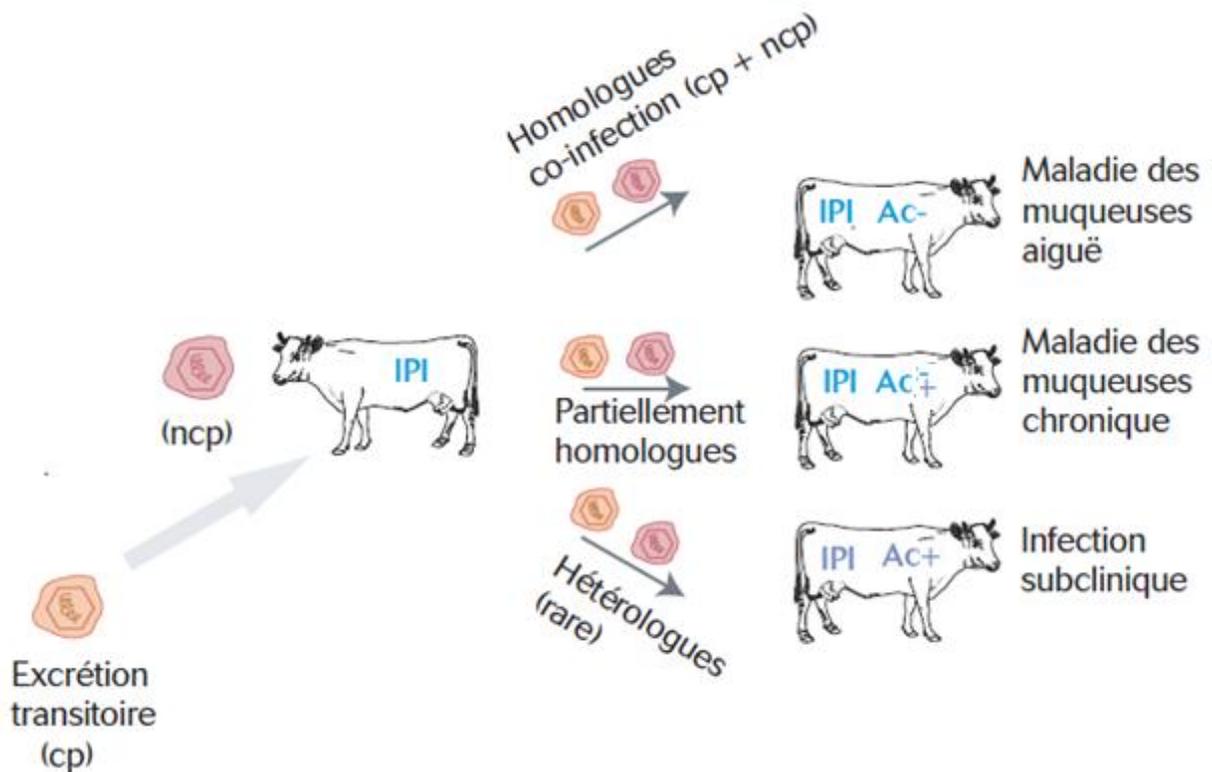


Figure 4 : Pathogénie de la Maladie des Muqueuses (Maillard et al., 2004)

- Si les deux biotypes sont hétérologues, il y a alors production d'anticorps neutralisants dirigés contre les antigènes de la souche CP. L'infection est subclinique, l'animal ne déclarera pas la Maladie des Muqueuses.
- Si la souche CP est partiellement homologue à celle NCP, alors il y a production d'anticorps neutralisants dirigés contre les antigènes de la souche CP n'étant pas présents sur la souche NCP. Il y a alors une course entre la souche CP du virus du BVD et la création d'anticorps neutralisants. L'animal présente une Maladie des Muqueuses chronique avec une issue d'autant plus rapidement défavorable que les souches NCP et CP sont proches (situation rare).
- Si les deux biotypes sont homologues (l'hypothèse d'une mutation de la souche NCP au cours de la réplication virale chez l'animal IPI est mise en avant par Bolin, 1995), l'animal immunotolérant acceptera l'intrusion virale et déclarera la Maladie des Muqueuses avec une évolution létale aiguë (situation la plus fréquente).

II.2.2. Clinique

La forme aiguë de la Maladie des Muqueuses est d'évolution courte, environ 8 à 10 jours (période s'étendant de quelques jours à deux semaines). Les symptômes sont du ptyalisme (lié aux ulcérations buccales) avec dysorexie, une légère hyperthermie transitoire, une diarrhée aqueuse à mucoïde, parfois sanguinolente (sang en nature ou digéré), un piétinement (coliques) associé à un déplacement avec précaution (l'animal « marche sur des œufs » à cause d'ulcères entre les onglons). La muqueuse buccale est congestionnée. On peut y observer des lésions ulcéreuses en coup d'ongle caractéristiques sur la langue, le palais, les joues et les gencives.

La forme chronique donne lieu aux mêmes symptômes, mais avec une intensité plus faible et une durée d'évolution plus longue (quelques semaines à quelques mois). Ils donnent l'impression de s'améliorer avant de réapparaître et conduisent à la mort de l'animal. L'animal est alors amaigri, avec un retard de croissance. Des ulcères buccaux et interdigitaux, ainsi qu'une diarrhée intermittente ou continue mais incurable, sont observés.

II.3. Infection d'une femelle gravide

En fonction de la période de gestation où la vache est infectée par le virus du BVD et de la souche du virus, les conséquences sur la reproduction sont très variables (Figure 5).

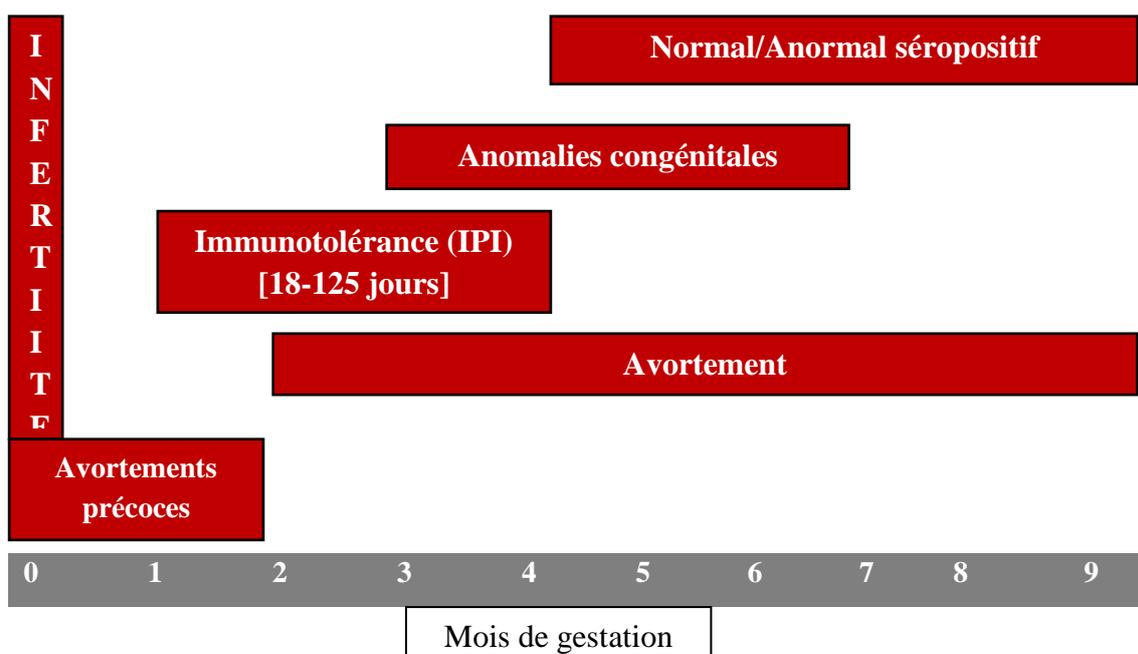


Figure 5 : Conséquences de l'infection par le virus du BVD en fonction du mois de gestation (Grooms, 2004)

II.3.1. *Infection entre 0 et 42 jours de gestation (embryon)*

Le BVDV a un impact reconnu sur les performances de reproduction en début de gestation (Virkul et *al.*, 1988 et *al.*, 1993 & Houe et *al.*, 1993). Par exemple, dans 3 groupes de bovins séronégatifs où un individu IPI a été introduit, le taux de conception des vaches était de 78.6%, 44.4% et 22.2% selon si les vaches ont séroconverti respectivement avant, pendant ou après la mise à la reproduction (Virkul et *al.*, 1988). Cette réduction des taux de conception est attribuée à un échec de la fécondation ou de la mortalité embryonnaire.

Les mécanismes ne sont pas clairs mais deux hypothèses sont retenues à l'heure actuelle. La première reposerait sur un effet direct du virus sur les ovocytes en développement. Le virus du BVD (souche CP et NCP) a été isolé dans le tissu ovarien, même longtemps après l'infection (Grooms et *al.*, 1998), ainsi que dans le liquide folliculaire recueilli à l'abattoir (Bielanski et *al.* 1993). Au cours de la phase de segmentation (de l'œuf à la morula), la zone pellucide protège l'embryon en développement des effets directs du virus du BVD. Au stade blastocyte (retrait de la zone pellucide), les souches CP ont un effet néfaste sur la survie de l'embryon. Les souches NCP (les plus fréquemment rencontrées) ont, quant à elles, un effet plus tardif sur l'embryon. La seconde hypothèse reposerait sur des changements dans l'environnement local de l'ovocyte (action indirecte). Une modulation de la sécrétion de l'hormone ovarienne (LH) a été démontrée à la suite d'une infection aiguë par le BVDV. De plus, suite à une infection par la souche CP du BVDV, une ovarite interstitielle a été décrite avec des lésions pouvant durer jusqu'à 60 jours post-infection (Grooms et *al.*, 1998).

II.3.2. *Infection entre 42 et 175 jours de gestation (fœtus)*

a. Avortement

Bien que le mécanisme de l'infection fœtale ne soit pas clair, il semblerait que le virus du BVD puisse provoquer des vascularites sur le placenta maternel et avoir ainsi accès à la circulation sanguine fœtale (Fredriksen et *al.*, 1999). La mort fœtale après une infection par le virus du BVD peut se produire à n'importe quel stade de gestation, mais elle semble beaucoup plus fréquente durant le premier trimestre de gestation (Roeder et *al.*, 1986 & Casaro et *al.*, 1971). Elle a généralement lieu 10 à 27 jours post-exposition et est suivie par l'expulsion fœtale jusqu'à 50 jours post-exposition.

b. Individu Infecté Permanent Immunotolérant (IPI)

Les fœtus qui survivent à l'infection de la mère par une souche NCP du virus du BVD entre 18 et 125 jours de gestation développent une immunotolérance au virus (Bolin et *al.*, 1985 ; cf. Figure 6). Ils sont qualifiés d'individus Infectés Permanents Immunotolérants (IPI). Pour ce faire, il faut que le virus circule dans le sang maternel ou soit présent dans le milieu utérin au cours de la période de gestation où l'immunocompétence du fœtus est en développement (90-125 jours de gestation).

Une immunotolérance des lymphocytes B et T se développe alors. Ainsi, chez ces individus IPI, le taux d'anticorps neutralisant du BVD dans le sang provient uniquement de l'immunité passive conférée par le colostrum maternel. Ce taux diminuera rapidement (4 à 10 semaines chez un IPI ayant reçu le colostrum maternel, contre 5 à 9 mois chez un individu sain ayant reçu celui d'une vache séropositive).

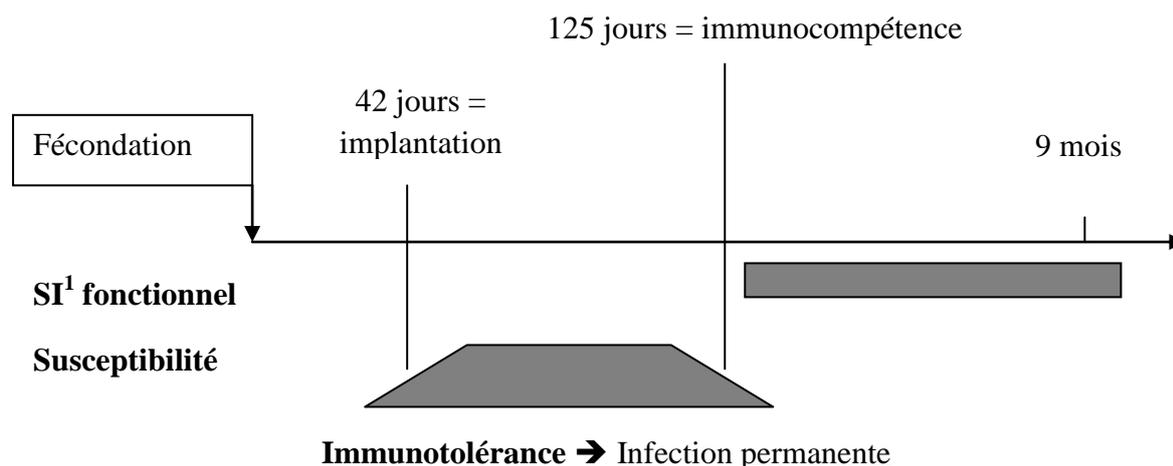


Figure 6 : Conséquences immunitaires de l'infection pendant la gestation (Foucras, 2009)

¹ SI : système immunitaire

Il est difficile de connaître avec exactitude le stade de gestation à partir duquel les fœtus contaminés par le virus du BVD développent systématiquement une immunotolérance. Néanmoins, expérimentalement, 86% et 100% des veaux issus de vaches infectées par le virus (intra-nasal) à respectivement 18 et 30 jours de gestation ont été IPI, suggérant que l'induction systématique d'une immunotolérance débute lors de contamination autour de ce stade (Kirkland et *al.*, 1993). Après 100 jours de gestation, les infections fœtales persistantes sont

rare mais un cas a été rapporté à 125 jours de gestation, suggérant que cette période est la fin de l'induction d'IPI (Baker et *al.*, 1995).

c. Malformations congénitales

Les malformations congénitales apparaissent lors d'infections fœtales entre 100 et 150 jours de gestation, période où l'organogénèse est en cours d'achèvement et le système immunitaire est en train de devenir pleinement fonctionnel. Les mécanismes pathogéniques ne sont pas clairs mais seraient la résultante de dommages cellulaires directs par le virus du BVD et la réponse inflammatoire dirigée contre le virus (Gastucci et *al.*, 1990). Les lésions sont majoritairement nerveuses mais peuvent également atteindre nombre d'autres organes (Tableau 4).

Anomalie impliquant de système nerveux central	Anomalie impliquant le système oculaire	Autres anomalies
Hypoplasie cérébelleuse	Cataracte	Hypoplasie thymique
Microencéphalopathie	Microphthalmie	Hypotrichose/alopécie
Hydrocéphalie	Dégénérescence rétinienne	Malformations osseuses
Hydranencéphalie	Névrite optique	Brachygnathisme mandibulaire
Porencéphalie		Retard de croissance
Hypomyélinisation		
etc...		

Tableau 4 : Malformations congénitales associées à l'infection du fœtus par le virus du BVD (Grooms et *al.*, 2004)

II.3.3. Infection entre 125 et 285 jours de gestation

Dans la deuxième moitié de gestation, l'organogénèse et l'immunocompétence sont généralement complètes. Les fœtus sont donc normalement capables d'avoir une réponse immunitaire efficace contre le virus du BVD et l'infection est dite asymptomatique, bien que des avortements aient été rapportés en fin de gestation. Les veaux naissent alors avec un taux d'anticorps pré-colostraux neutralisants contre le BVD correct mais ils seraient deux fois plus enclins à contracter une maladie grave dans leurs dix premiers mois de vie (Munoz et *al.*, 2003).

III. OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE D'UNE INFECTION PAR LE VIRUS DU BVD

Les éléments épidémiocliniques seuls ne permettent pas d'établir un diagnostic de certitude, seuls les tests de laboratoire s'en approchent. Ils permettent de détecter soit le virus du BVD directement, soit les anticorps produits suite à l'infection par le virus ou à la vaccination.

III.1. Méthodes de détection virale

Historiquement, la détection du virus du BVD se faisait par identification après culture cellulaire (« gold standard »). C'est une méthode très sensible pour détecter les animaux infectés permanents de plus de 3 mois (disparition des anticorps maternels). Elle reste également la seule pouvant déterminer le caractère cytopathogène ou non d'une souche de BVD. Le résultat reste cependant long à obtenir.

Aujourd'hui, pour des questions de temps et de nombre d'analyses, cette technique est peu à peu délaissée au profit des techniques immuno-enzymatiques de détection de protéine antigénique virale (ELISA Ag) et des techniques d'amplification génique (RT-PCR).

III.1.1. Isolement viral en culture cellulaire

La technique consiste à inoculer une culture de cellules-cibles (préférentiellement les cellules embryonnaires de cornets nasaux ou celles de testicules bovins) à l'aide de l'échantillon à tester. Une période d'incubation de 4 à 5 jours est, la plupart du temps, suffisante pour l'isolement du BVDV. Puis, les cellules sont testées par techniques immunologiques (immunofluorescence, immunopéroxydase) pour identifier le virus du BVD.

L'échantillonnage de choix pour l'isolement du BVDV est un prélèvement de sang total à partir duquel la fraction de cellules blanches sera extraite et servira d'inoculum. Si l'animal est mort, les organes lymphoïdes (rate, plaques de Peyer de l'intestin grêle, nœuds lymphatiques mésentériques, thymus) sont les meilleurs échantillons à prélever (Saliki et *al.*, 2004). Néanmoins, chez les animaux IPI, la quantité de virus présents dans l'organisme est tellement élevée que n'importe quel échantillon permet de l'isoler.

La conservation du virus est très bonne, et l'envoi d'échantillons congelés ou réfrigérés pendant quelques jours ne compromet pas la culture cellulaire.

La méthode reste néanmoins moins sensible que celle de la RT-PCR et le risque de fournir des résultats faussement négatifs est grand non seulement avant l'âge de 3 mois (anticorps neutralisants d'origine colostrale chez les IPI) mais aussi dans certains cas d'infectés transitoires où la réponse immunitaire est en place (Brock et *al.*, 1998 ; Zimmer et *al.*, 2004).

III.1.2. Détection des antigènes viraux (ELISA Ag)

L'ELISA Ag (« Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay » ou « dosage d'immunoabsorption par une enzyme liée ») permet la détection d'antigènes viraux.

Cette détection est simple, plus rapide, et moins coûteuse que la culture sur cellules et l'identification du virus. Elle est cependant moins sensible pour la détection d'animaux infectés transitoires. Pour la détection d'un IPI dont le titre viral est très élevé, la sensibilité reste très bonne (proche de celle du gold standard) (Schelcher et *al.*, 1993).

Deux méthodes existent, l'ELISA capture d'antigène (ACE) et la coloration immunohistochimique sur tissus frais (Figure 7).

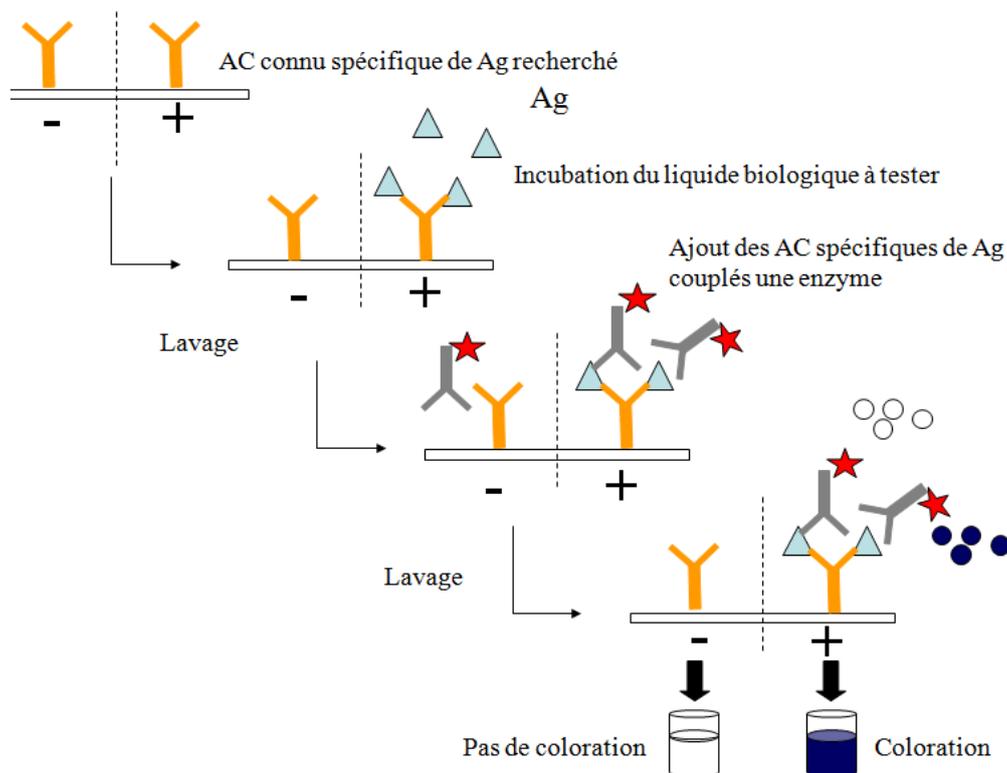


Figure 7 : Principe de la méthode ELISA capture d'antigène (ACE)

Pour l'ACE, les échantillons à tester (sérum, cellules leuco-plaquettaires, ...) sont déposés sur les puits d'une plaque de micro-titrage tapissée par un mélange d'anticorps monoclonaux. Ensuite, d'autres anticorps monoclonaux conjugués à l'enzyme peroxydase (révélateur) assurent la capture de l'antigène viral en « sandwich » (Entrican et *al.*, 1994). Les antigènes recherchés sont principalement NS2-3 (protéine non structurale la plus conservée chez les *Pestivirus*), E0 et E2 (protéines structurales variant au fur et à mesure des mutations au cours des réplifications virales).

Ces dernières années, la technique de détection de l'antigène du virus du BVD par coloration immunohistochimie (IHC) a connu un essor dans le dépistage des IPI (Njaa et *al.*, 2000 & Grooms et *al.*, 2002). Le prélèvement (biopsie d'oreille : « ear notch » test) est en premier fixé dans le formol (transport), ensuite paraffiné en vue de le débiter en fines lamelles ; après l'avoir déparaffiné, réhydraté, il est coloré par IHC, et enfin analysé par lecture microscopique (Figure 8).

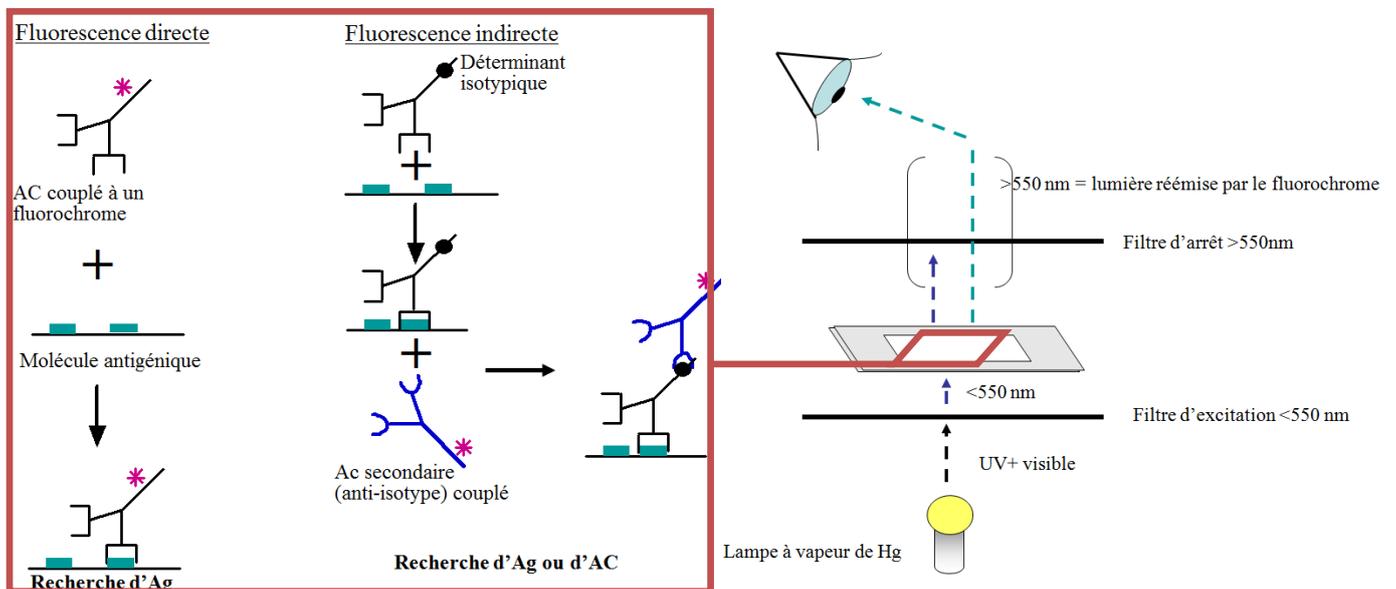


Figure 8 : Principe de l'immunofluorescence appliquée à un tissu fixé au formol

III.1.3. *Détection des acides nucléiques (PCR)*

La PCR (Polymerase Chain Reaction ou réaction en chaîne par polymérase) est utilisée pour amplifier le génome ARN du virus, passant ainsi d'un échantillon contenant peu de matériel viral à d'importantes quantités de fragments du génome viral. Néanmoins, elle nécessite une amorce capable de reconnaître tous les types antigéniques (type 1a, 1b, 2, etc...) afin de pouvoir les amplifier.

La détection des produits d'acides nucléiques suite à l'amplification par PCR était généralement faite par une électrophorèse, suivie d'une photographie. La variante actuelle RT-PCR permet de conduire les phases d'amplification et de révélation simultanément.

Les échantillons à préférer seront les fluides acellulaires (sérum, plasma, surnageant de culture cellulaire), ou du sang total prélevé sur tube EDTA. Les échantillons cellulaires (lait, organe, cellules blanches,...) pourront également servir de matrice à la détection du virus.

La PCR est plus sensible (10 à 1000 fois supérieure) et plus spécifique que l'isolement viral (Hamers et *al*, 2000). Par ailleurs, elle permet de s'affranchir de l'interférence des anticorps maternels avec le virus.

Enfin, grâce à son potentiel amplificateur, elle permet de détecter une quantité infime de génome viral. De ce fait, elle permet la réalisation d'analyse en pools (mélange) de 10 à 20 échantillons de sang ou sur lait de grand mélange directement prélevé dans le tank.

III.1.4. *Interprétation des résultats des tests virologiques*

Un animal avec un test virologique positif est soit infecté transitoire, soit infecté permanent immunotolérant. Les animaux IPI ont toute leur vie une virémie avec un titre très élevé (exception faite de la période immunitaire couverte par transfert colostrale maternel, soit un maximum de 4 à 10 semaines (Sandvik, 1999), variant de façon cyclique au cours du temps). Dans le cadre d'individu infecté transitoire, la virémie est intermittente et quasi systématiquement inférieure à 3-4 semaines (Adwars et *al.*, 1991).

En règle générale, un test négatif signifie que l'animal n'est ni IPI, ni virémique transitoire au moment du test. L'interprétation du statut de l'animal en fonction des résultats virologiques est décrite dans le tableau 5.

	Animal IPI	Animal infecté transitoire (IT)	Animal sain
1 ^{er} test virologique	+	+	-
2 ^{ième} test virologique (3 à 4 semaines après)	+	-	X

Tableau 5 : Interprétation des tests virologiques (Brock, 1995)

III.2. Méthode de détection sérologique

Il existe deux catégories de techniques couramment utilisées pour mettre en évidence les anticorps spécifiques du virus du BVD, qu'ils soient produits suite à l'exposition naturelle à une souche sauvage ou par le biais d'une vaccination d'un individu immunocompétent : les tests immunoenzymatiques (Elisa indirect ou Elisa de compétition) et la séroneutralisation.

III.2.1. *Test de séroneutralisation*

La séroneutralisation est une méthode quantitative (Figure 9). Elle permet de déterminer le taux d'anticorps dirigés contre le BVDV dans le sérum testé. Cette méthode consiste à mettre en contact une quantité constante et connue de virus BVD (de préférence une souche CP) avec une quantité de sérum diluée de façon croissante. Puis on met en culture sur cellules chacun des mélanges. La concentration en anticorps du premier milieu de culture où le virus est mis en évidence (par lyse cellulaire si une souche CP a été utilisée, ou par immunofluorescence directe ou indirecte si une souche NCP a été utilisée), c'est-à-dire où l'ensemble du virus n'a pu être neutralisé par les anticorps (Figure 9, cas B), permet de calculer la concentration en anticorps anti-BVD sérique de l'animal testé.

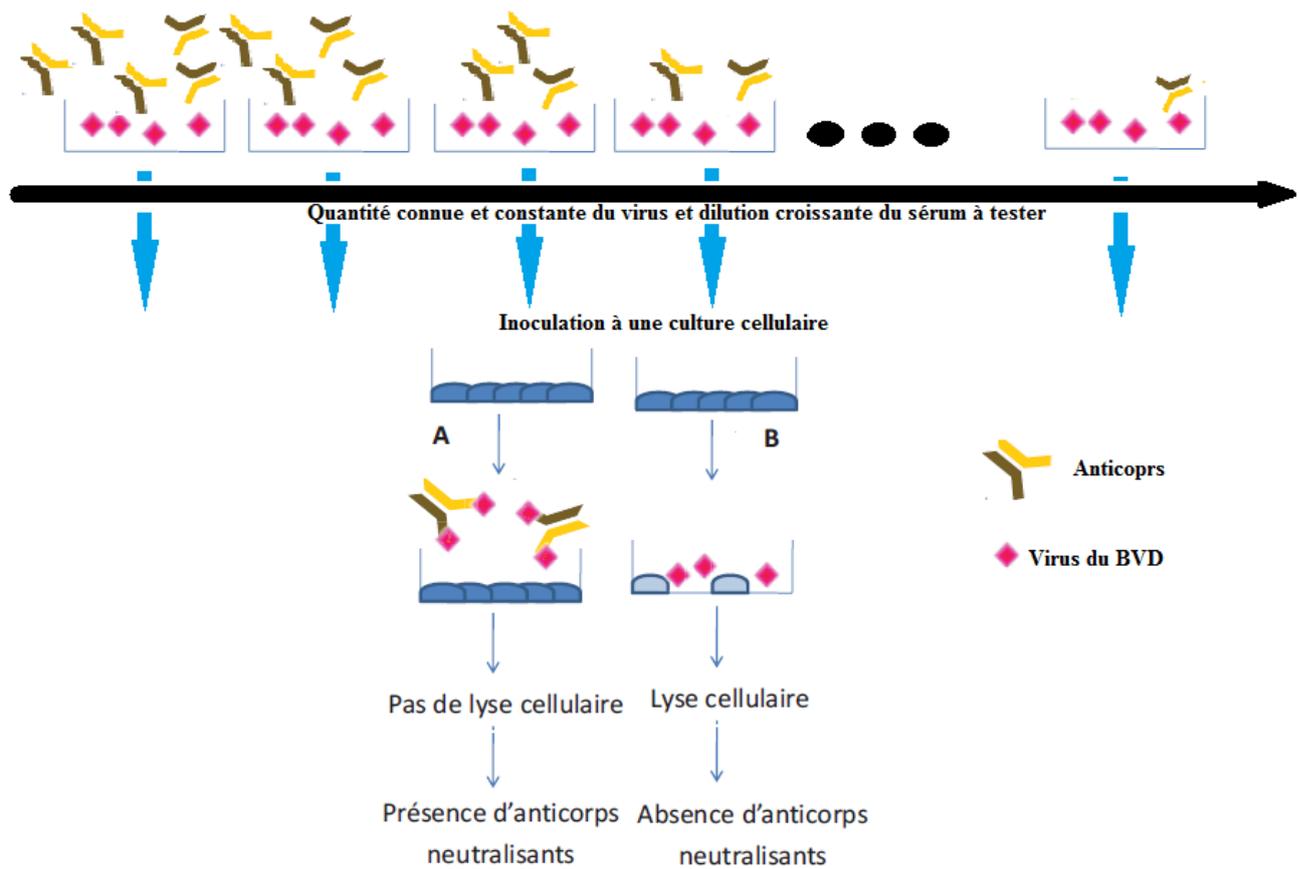


Figure 9 : Principe de la réaction de séroneutralisation

La séroneutralisation est considérée comme la méthode de référence car sensible et spécifique, mais elle reste coûteuse, longue (délai de 5 à 7 jours) et difficile à mettre en place à grande échelle. Elle est donc délaissée pour les tests de routine au profit des tests immunoenzymatiques.

III.2.2. Tests immunoenzymatiques (ELISA)

Ces tests, utilisés pour la recherche des anticorps totaux, sont très fiables, rapides (affranchissement de la culture cellulaire) et peu chers. Ils s'effectuent sur un échantillon individuel de sérum et constituent le type de test le plus couramment utilisé en routine (Hamers, 2000). Les deux principales techniques sont : l'ELISA indirect et l'ELISA de compétition.

a. ELISA indirect

Le sérum à tester est versé sur une microplaque tapissée d'antigènes (1) (souvent ceux d'une protéine très conservée telle NS2-3). Si le sérum à tester contient des anticorps spécifiques (2), ceux-ci se fixent sur les antigènes. Après rinçage, les anticorps recherchés sont révélés par des antiglobulines spécifiques d'espèces conjuguées à une enzyme peroxydase qui agit sur un substrat chromogène (3). On obtient un signal lumineux proportionnel à la quantité d'enzymes présentes et donc à la concentration d'anticorps recherchés (Figure 10). La lecture se fait au spectrophotomètre.

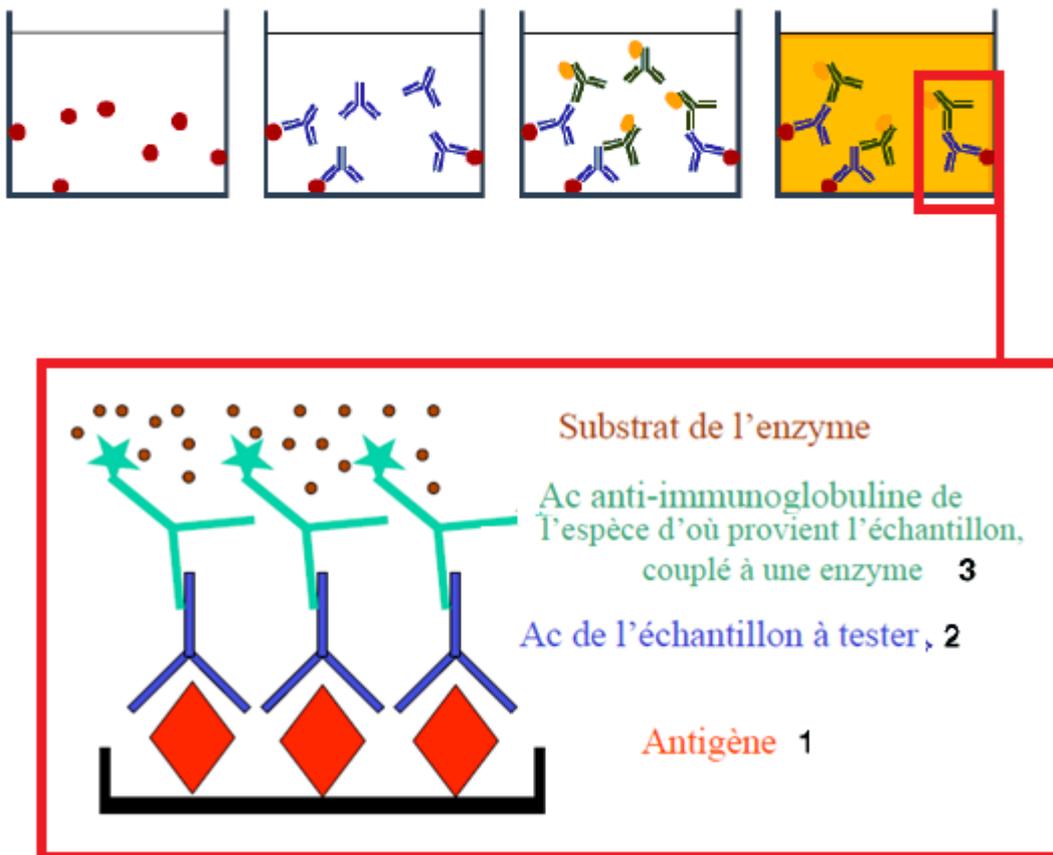


Figure 10 : Résumé des étapes d'un test ELISA indirect

b. ELISA de compétition

Aussi appelé test « blocking ELISA », il est le plus couramment utilisé et aurait une excellente spécificité de l'ordre de 99%, et une très bonne sensibilité de l'ordre de 95% (Thibault et *al.*, 1993).

Un mélange d'anticorps monoclonaux « WB112 » anti-NS2-3 marqués à la peroxydase et des anticorps à doser (non-marqués) sont déposés sur une plaque où sont fixés des antigènes (en défaut). La compétition s'exerce alors entre les anticorps marqués (en quantité connue) et non-marqués (en quantité à déterminer) pour leur liaison aux antigènes qui sont en

défaut. Ainsi plus les anticorps à doser sont nombreux, plus leur proportion parmi les anticorps retenus par les antigènes après rinçage est grande et, par conséquent, plus le signal sera faible (Paton et *al.*, 1991 & Sandvik, 1999). Inversement, si la concentration initiale de l'anticorps est faible, le signal sera fort.

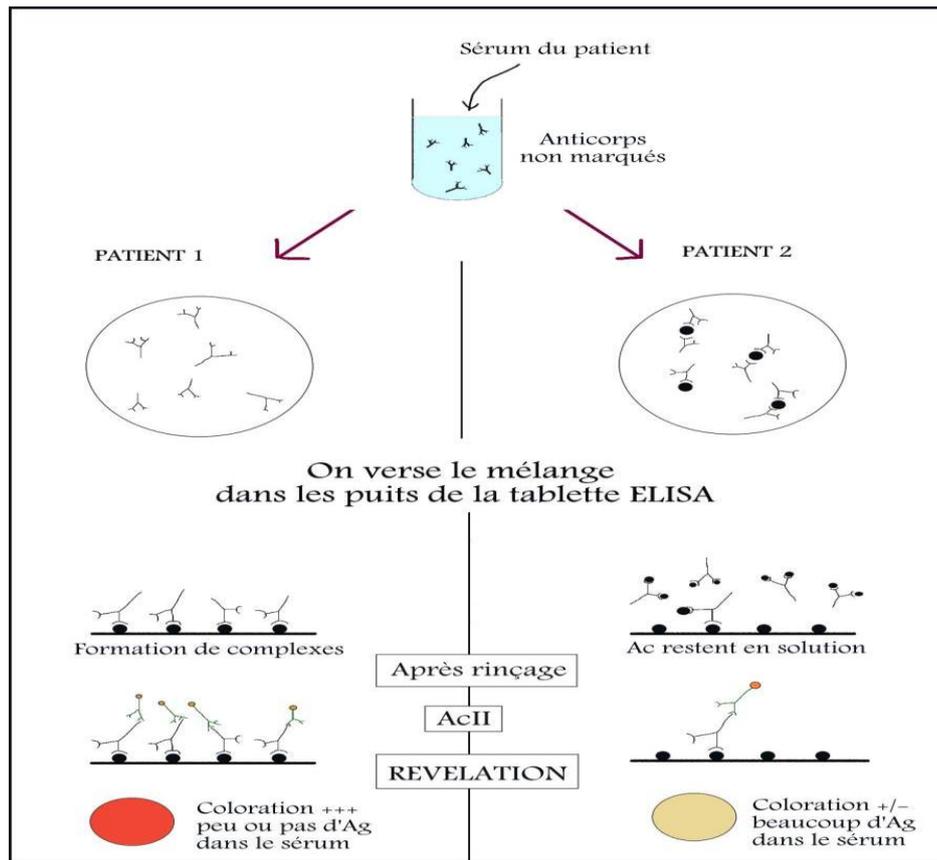


Figure 11 : Résumé des étapes d'un test ELISA de compétition pour le cas de séronégativité (patient 1) et de séropositivité (patient 2) (www.axiumcafe.fr)

III.2.3. *Interprétations des résultats sérologiques*

Le statut sérologique définitif d'un individu vis-à-vis du virus du BVD peut, dans certains cas, nécessiter deux tests sérologiques réalisés à 3-4 semaines d'intervalle (Sandvik, 1999).

L'interprétation des tests sérologiques est résumée dans le tableau 6. Cette interprétation est générale à toutes les méthodes.

Sérologie positive	Sérologie négative
Veau ayant bénéficié d'un transfert passif de l'immunité par le colostrum maternel (détectable durant 5 à 9 mois si non IPI et 4 à 10 semaines si IPI)	Animal sain, jamais contaminé ni vacciné
Animal immunisé après une infection naturelle aiguë ou par un vaccin vivant (apparition dès 2 semaines et plateau vers la 10 ^{ème} semaine ; persistant jusqu'à 3 ans, Howard et <i>al.</i> , 1990 ; Loken et <i>al.</i> , 1991)	Animal infecté depuis peu, en cours de séroconversion
Individu IPI infecté par une souche en partie hétérologue à celle qu'il abrite	Individu IPI n'ayant pas été contaminé par une autre souche

Tableau 6 : Interprétations des tests sérologiques

III.3. Statut de l'animal en fonction de son profil virologique et sérologique

Il convient de pouvoir associer un profil virologique et sérologique à un statut épidémiologique de l'animal. Ainsi, plusieurs cas de figure sont envisageables (Tableau 7), sous réserve de faux-positifs ou faux-négatifs liés à des erreurs analytiques de laboratoire.

Résultat sérologique ELISA 1	Résultat sérologique ELISA 2	Résultat virologique PCR 1	Résultat virologique PCR 2	Statut JB	Commentaires
-	-	-	-	Sain	Animal naïf
		+	+	IPI ¹	Excréteur à vie de BVDV
	+	-/+	-	Séroconversion vraie suite à infection transitoire
+	-	-	-	Séronégation...	... suite à disparition des anticorps maternels anti BVDV ²
	+	-	-	Statut flou	JB infecté entre 150 jours de gestation (système immunitaire fœtal mature) et 4 jours avant allotement ou possible réinfection pendant allotement suite à disparition des anticorps maternels

Tableau 7 : Interprétation des couplages sérologie-virologie (Sandvik, 1999)

¹ Un individu IPI est défini par isolement du BVDV (virus) sans séroconversion pour la souche qu'il abrite (présence d'anticorps) deux fois à un mois d'intervalle

² Les anticorps colostraux dirigés contre le BVD sont détectables dans le sérum d'un veau immunocompétent pendant une période de 5 à 9 mois et dans celui d'un veau IPI de 4 à 10 semaines

Deuxième partie :

ETUDE EXPERIMENTALE

IV. RAPPEL DES OBJECTIFS DE L'ETUDE

Le premier objectif de l'étude est d'évaluer la prévalence des individus infectés permanents immunotolérants (IPI) et infectés transitoires (IT) qui entrent dans les centres d'allotement et les ateliers d'engraissement du Sud-Ouest de la France. En effet, ces deux catégories d'animaux sont susceptibles d'entraîner une circulation virale dans les ateliers d'engraissement, s'ils entrent en contact avec des animaux naïfs vis-à-vis du BVD, et donc d'entraîner des troubles sanitaires et des baisses de performances. Au-delà de la description de la prévalence des IPI et IT en centre de rassemblement, il convient de s'intéresser à leur distribution dans les différents lots d'animaux entrant en ateliers d'engraissement.

Le second objectif est d'analyser la circulation virale de BVD au sein des ateliers d'engraissement. Une circulation du virus dans un atelier peut être liée à la présence d'IPI ou d'IT détectés en centre de rassemblement, mais aussi à la présence d'IT créés en centre d'allotement par les IPI et IT déjà présents. Aussi, ce second objectif est associé à l'analyse intra et inter lots de la séroconversion des animaux.

Enfin, le troisième objectif est de définir les statuts sérologiques vis-à-vis du BVD des animaux à l'entrée, et de les relier aux éventuelles circulations virales.

V. MATERIEL ET METHODES

V.1. Structure d'accueil

Cette étude est une collaboration du laboratoire PFIZER Santé Animale, de la Coopérative des Eleveurs des Pyrénées Atlantiques (CELPA) et de l'Institut National Polytechnique - Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (INP-ENVT).

La CELPA est un centre d'allotement. Elle reçoit, annuellement, environ 4 000 jeunes bovins de race Blonde d'Aquitaine en provenance d'élevages naisseurs locaux, les ré-allote et les place en ateliers d'engraissement chez ses adhérents. La très grande majorité des animaux est collectée et réceptionnée sur site chaque mercredi matin, et replacée en atelier l'après-midi même. Ceci est permis en raison de la proximité des ateliers d'engraissement des jeunes bovins (Pyrénées Atlantiques, Landes et Hautes Pyrénées). Une fois l'engraissement des jeunes bovins terminé (6 à 10 mois), ils sont abattus à Pau.

V.2. Animaux

V.2.1. *Allotement et prophylaxie médicale*

Chaque semaine, entre 60 et 100 JB mâles transitent par la CELPA ; ils y sont pesés, reçoivent un traitement antiparasitaire à base d'IVERMECTINE (Virbamec D® pour-on), une injection sous-cutanée de TULATHROMYCINE (Draxxin®), une vaccination Rispoval Intranasal®, une vaccination Rispoval Pasteurella® en injection sous-cutanée et allotés en fonction du poids avant d'être redirigés vers les ateliers d'engraissement. Certains jeunes bovins (mauvaise conformation, femelles, ...) sont exclus du circuit d'engraissement de la CELPA et sont revendus à un tiers.

V.2.2. *Prélèvements*

Test 1 : à l'allotement (CELPA), un prélèvement de sang (tube EDTA et tube sec) est réalisé sur chaque JB à la veine coccygienne.

Test 2 : au minimum 8 semaines après l'allotement, un second prélèvement de sang (EDTA et sec) est réalisé sur 50% des individus de chaque parc composant chacun des lots suivis. Ces individus sont choisis aléatoirement dans chaque lot à l'exception des individus viropositifs à l'allotement.

V.3. *Analyses*

V.3.1. *Sérologie*

a. *Gestion des prélèvements*

Le tube sec du test 1 est envoyé à l'ENVT, sous 48 heures, où il est centrifugé. Le sérum est réparti entre deux aliquotes, puis congelé (sérothèque) immédiatement après réception. Il correspond au statut sérologique initial du JB.

Le tube sec du test 2 est acheminé à l'ENVT et traité selon le même protocole dans les 12 heures suivant le prélèvement.

Seuls les sérums des JB ayant fait l'objet de deux prélèvements sanguins sont analysés.

b. *Kits utilisés*

Les aliquotes de chaque individu sont appariés (test 1 et test 2) pour être analysés simultanément, avec le même kit (Kit Elisa de compétition Symbiotics, détectant la protéine P80-125 des souches de type 1 et 2). Les résultats se déclinent en positif, douteux, négatif. Les animaux avec un résultat sérologique douteux sont exclus de l'étude (n=5).

V.3.2. *Virologie*

a. *Gestion des prélèvements*

Le tube EDTA du test 1 est transféré à un Laboratoire Vétérinaire sous 48 heures. L'analyse est réalisée par pools de 20, le jour même ou le lendemain de la réception. Chaque pool positif est repris individuellement. Un résultat positif ou négatif individuel est alors

rendu, avec en cas de positivité, la valeur de CT (cycle seuil) nécessaire à la positivité de l'échantillon.

Le tube EDTA du test 2 est traité selon le même protocole que le tube du test 1.

b. Kits utilisés

Les échantillons sont tous analysés par RT-PCR temps réel, par pools de 20 (Kit Taquet BVDV Screening). La méthode utilisée détecte les génotypes 1 et 2 sans pouvoir les distinguer. Les résultats fournis se déclinent en positif, douteux, négatif. Les animaux avec un résultat virologique douteux sont de nouveau prélevés la semaine suivante (n=0).

V.3.3. Calcul des taux de séroconversion

Trois taux de séroconversion ont été calculés.

Le taux de « séroconversion minimale » correspond strictement au passage de la séronégativité en test 1 à celui de la séropositivité en test 2.

$$\begin{array}{l}
 \text{Nombre de JB} \\
 \text{séronégatifs au test 1 et séropositifs} \\
 \text{au test 2} \\
 \\
 \text{Taux séroconversion} \\
 \text{minimale} \\
 \\
 \text{Nombre de JB prélevés}
 \end{array}
 = \frac{\text{-----}}{\text{-----}} \times 100$$

Le taux de « séroconversion maximale » prend en compte le taux de « séroconversion minimale » auquel est ajouté le taux de séropositifs persistants depuis l'allotement. Cette expression tient compte du fait qu'un animal séropositif au test 2 peut avoir connu une circulation virale, les anticorps du test 1 étant d'origine colostrale.

$$\begin{array}{l}
 [(\text{Nombre de JB séronégatifs au test 1} \\
 \text{et séropositifs au test 2) + (Nombre de} \\
 \text{JB séropositifs aux tests 1 et 2)] \\
 \\
 \text{Taux séroconversion} \\
 \text{maximale} \\
 \\
 \text{Nombre de JB prélevés}
 \end{array}
 = \frac{\text{-----}}{\text{-----}} \times 100$$

Le dénominateur est automatiquement fixé au nombre total d'animaux prélevés compte tenu du fait que chaque individu séropositif initialement l'est potentiellement suite à l'ingestion du colostrum maternel (4-9 mois post-ingestion, Sandvik, 1999).

Le taux de « séroconversion moyenne » prend en compte les animaux séronégatifs au test 1. Il est défini par :

$$\text{Taux séroconversion moyenne} = \frac{\text{Nombre de JB séronégatifs au test 1 et séropositifs au test 2}}{\text{Nombre de JB séronégatifs au test 1}} \times 100$$

V.4. Calcul de la prévalence d'individus IPI

Un individu est qualifié d'IPI s'il a deux virologies positives espacées au minimum de 4 semaines, sans séroconversion. Le taux de prévalence des individus IPI est donc défini par :

$$P_{IPI} (\text{prévalence}) = \frac{\text{Nombre de JB séronégatifs et viropositifs aux tests 1 et 2}}{\text{Nombre de JB allotés}} \times 100$$

L'intervalle de confiance (IC) est calculé par la méthode de Clopper Pearson, bien plus précise lorsque la prévalence d'individus infectés est faible que la méthode approchée (communément utilisée) définie par :

$$IC (\text{intervalle confiance}) = P_{IPI} \pm 1.96 \times \left(\frac{P_{IPI}(1-P_{IPI})}{\text{Nombre de JB allotés}} \right)^{1/2}$$

VI. RESULTATS

VI.1. Animaux inclus

L'étude a débuté le 13 janvier 2009 et s'est terminée le 27 mai 2009.

1 353 JB mâles de race Blonde d'Aquitaine, en bonne santé, âgés en moyenne de 182 jours (Min-Max = 79-322 jours ; écart-type = 19,35 jours) avec un poids vif moyen de 237 kg (Min-Max = 141-347 kg, écart type = 30 kg) ont été inclus. Ils sont issus de 550 élevages naisseurs et ont été répartis en 65 lots chez 38 des 105 engraisseurs affiliés à la CELPA. L'introduction en ateliers d'engraissement a eu lieu sur une période de 20 semaines.

Tous les animaux (n=1 353) sont inclus pour la détermination de la prévalence des individus IPI en centre d'allotement. Cependant, seuls 914 JB sont inclus dans l'étude sur la circulation virale. Au-delà des animaux de mauvaise conformation, non intégrés dans le circuit d'engraissement de la CELPA (revendus à un tiers), certains éleveurs ont refusé de participer à l'étude (contention difficile, motivation insuffisante ...) et certains lots ont été exclus en raison de leur faible taille (nombre d'animaux allotés inférieur à 5).

Le second prélèvement sanguin (test 2) a été réalisé en moyenne 107 jours (Min-Max = 59-194 jours) après l'allotement.

Les résultats globaux par lot sont rapportés dans le tableau 8 et détaillés par la suite.

N° lot	Statut acheteur	Nombre de JB	Numéro de la semaine d'entrée	Nombre JB avec tests 1 & 2	Age moyen des JB à l'entrée (test 1)	Nombre de JB séro+ test 1 (%)	Nombre de JB viro+ & séro-test 1	Nombre de JB viro+ & séro+ test 1	Délai entre tests 1&2 (jours)	Nombre de JB séro+ test 2	Nombre de JB viro+ & séro-test 2	Nombre de JB viro+ & séro+ test 2	Nombre de séro-négativations	Nombre et taux de séro-conversion minimale (-→+)
2	E	55	3	25	192	2 (8%)	0	0	105	0	0	0	2	0 (0%)
4	E	30	4	16	202	4 (25%)	1	0	95	15	1	0	0	11 (73.3%)
5	NE	12	4	6	231	0 (0%)	0	0	194	0	0	0	0	0 (0%)
6	E	30	4	11	179	1(9%)	0	0	66	0	0	0	1	0 (0%)
7	E	12	5	7	211	0 (0%)	0	0	170	0	0	0	0	0 (0%)
8	E	9	5	4	165	2 (50%)	0	0	163	0	0	0	2	0 (0%)
10	E	50	5	14	171	0 (0%)	0	0	59	0	0	0	0	0 (0%)
13	NE	12	6	5	224	0 (0%)	0	0	84	0	0	0	0	0 (0%)
15	NE	16	6	10	182	2 (20%)	0	0	84	3	0	0	0	1 (10%)
16	NE	16	6	11	159	1 (9%)	0	0	83	0	0	0	1	0 (0%)
18	NE	18	7	8	141	2 (25%)	0	0	164	0	0	0	2	0 (0%)
19	NE	40	9	18	196	3 (17%)	0	0	146	1	0	0	2	0 (0%)
23	E	30	9	13	176	1 (8%)	1	0	150	10	1	0	0	9 (75%)
25	E	49	10	23	188	3 (13%)	0	0	129	2	0	0	1	0 (0%)
27	E	18	11	7	187	0 (0%)	0	0	107	0	0	0	0	0 (0%)
32	E	6	12	3	160	0 (0%)	0	0	118	0	0	0	0	0 (0%)
34	E	34	13	16	179	2 (12%)	0	0	90	3	0	0	1	2 (12.5%)
35	E	35	13	16	158	1 (6%)	1	0	108	14	1	0	0	13 (87.7%)
36	NE	25	13	12	203	2 (17%)	0	0	150	2	0	0	1	1 (8.3%)
38	NE	20	14	11	185	0 (0%)	0	0	132	0	0	0	0	0 (0%)
39	E	100	14	49	182	7 (14%)	0	0	118	6	0	0	4	3 (6.1%)
43	E	20	16	10	185	1 (10%)	0	0	129	2	0	0	0	1(10%)
45	E	32	17	16	154	1 (6%)	0	0	105	0	0	0	1	0 (0%)
47	E	10	17	5	156	0 (0%)	0	0	80	0	0	0	0	0 (0%)

N° lot	Statut acheteur	Nombre de JB	Numéro de la semaine d'entrée	Nombre JB avec tests 1 & 2	Age moyen des JB à l'entrée (test 1)	Nombre de JB séro+ test 1 (%)	Nombre de JB viro+ & séro-test 1	Nombre de JB viro+ & séro+ test 1	Délai entre tests 1&2 (jours)	Nombre de JB séro+ test 2	Nombre de JB viro+ & séro-test 2	Nombre de JB viro+ & séro+ test 2	Nombre de séro-négativations	Nombre et taux de séro-conversion minimale (-→+)
48	E	20	18	10	180	1 (10%)	0	0	104	2	0	0	1	2 (20%)
50	E	15	18	8	197	0 (0%)	0	0	104	0	0	0	0	0 (0%)
51	NE	29	18	13	192	1 (8%)	0	0	95	0	0	0	1	0 (0%)
55	E	32	19	15	170	1 (7%)	0	0	92	3	0	0	0	2 (13.3%)
56	E	9	20	5	186	0 (0%)	0	0	66	0	0	0	0	0 (0%)
57	E	54	20	31	182	2 (6%)	0	0	85	5	0	0	0	3 (9.7%)
58	E	20	20	9	193	0 (0%)	0	0	65	0	0	0	0	0 (0%)
59	E	27	21	14	176	4 (3%)	0	0	59	4	0	0	0	0 (0%)
60	NE	9	21	5	162	2 (40%)	0	0	94	2	0	0	0	0 (0%)
64	E	20	22	10	177	1 (10%)	0	0	86	2	0	0	0	1 (10%)
Bilan		914		436	182*	47	3	0	107*	76	3	0	20	49

Tableau 8 : Résultats sérologiques et virologiques des différents lots de JB

Test 1 : phase de prélèvement en centre de rassemblement

Test 2 : phase de prélèvement en élevage

Séro+ : séropositif ; Séro- : séronégatif ; Viro+ : viropositif ; Viro- : vironégatif

E : engraisseur spécialisé ; NE : naisseur engraisseur + acheteur de JB

* : moyenne pondérée

VI.2. Prévalence des individus IPI à l'allotement

Identification du JB	N° lot	Age test 1 (mois)	Age abattage (mois)	Sérologie test 1	Virologie test 1	Sérologie test 2	Virologie test 2	Délai tests 1 & 2 (jours)	Statut du JB
FR 64 1213 8417	4	7.0	15.5	Neg	Pos (ct = 28,9)	Neg	Pos	95	IPI
FR 64 1213 3706	23	6.5	16.0	Neg	Pos (ct = 28,7)	Neg	Pos	150	IPI
FR 64 1213 3711	35	5.5	16.0	Neg	Pos (ct = 28,9)	Neg	Pos	108	IPI

Tableau 9 : Résultats virologiques et sérologiques des individus IPI

¹ ct : cycle threshold = cycle seuil d'amplification

Sur les 1 353 JBB testés par virologie, seuls trois animaux sont viropositifs et séronégatifs à l'allotement (test 1). Lors du prélèvement en élevage (test 2), en moyenne 118 jours plus tard [Min-Max = 95-150 jours], leurs profils virologique et sérologique étaient identiques. La prévalence d'IPI calculée dans cette population est donc de 0,22% (3/1 353) [Intervalle de confiance 95% = 0,081-0,647%].

Aucun des 3 IPI n'a déclaré la Maladie des Muqueuses, aucun n'est mort au cours de l'engraissement.

VI.3. Séropositivité initiale en centre de rassemblement et séroconversion des JB en atelier d'engraissement

Sur les 914 JB inclus dans l'étude en élevage, 436 (47.7%) ont été prélevés deux fois à 107 jours [Min-Max = 59-194 jours] d'intervalle (test 1 à l'allotement et test 2 en élevage). L'âge moyen à l'allotement est de 182 jours [79-322]. Les calculs de séroconversion et de séronégativisation (Tableau 10) excluent les 3 animaux IPI (donc 433 animaux).

Nombre de JB	Nombre de tests réalisés (hors IPI)	Nombre de JB séropositifs allotement (test 1) (%)	Nombre de JB avec séro-négatation (%)	Nombre de JB avec séroconversion		
				Minimale (%)	Moyenne (%)	Maximale (%)
914	433	47/433 (10,8%)	20/433 (4,6%)	49/433 (11,3%)	49/386 (12,7%)	76/433 (17,5%)

Tableau 10 : Taux de séroconversion et séronégatation des JB

Le pourcentage de JB séropositifs à l'allotement est de 10,7% si calculé sur les 436 animaux (3 IPI inclus) ou 10,8% si les 3 IPI sont exclus.

Sur les 47 JB séropositifs au test 1, 20 animaux (43%) ont un résultat négatif au test 2 (séronégatation) et 27 (57%) sont restés positifs (Tableau 10).

Le taux de « séroconversion minimale » (passage du statut séronégatif à séropositif) est de 11,3% (49/433) [Intervalle de confiance 95% = 9,2-13,4%]. Le taux de « séroconversion maximale » (nombre de séroconversion minimale auquel s'ajoute celui des séropositifs persistants) est de 17,5% (76/433) [Intervalle de confiance 95% = 14,9-20,1%]. Le taux de « séroconversion moyenne » est de 12,7% (49/386) [Intervalle de confiance 95% = 10,3-15,1%].

VI.4. Circulation virale dans les lots de JB avec un IPI

Lots	Nombre de JB	Nombre d'IPI	Nombre de tests sérologiques réalisés (hors IPI)	Nombre de JB avec séroconversion			Délai moyen entre les deux tests (jours)
				Minimale (%)	Moyenne (%)	Maximale (%)	
N° 4	30	1	15	11/15 (73,3%)	11/11 (100%)	15/15 (100%)	95
N° 23	30	1	12	9/12 (75,0%)	9/11 (81,8%)	10/12 (83,3%)	150
N° 35	35	1	15	13/15 (86,7%)	13/14 (92,8%)	14/15 (93,3%)	108
Total lots avec IPI (4+23+35)	95	3	42	33/42 (78,5%)	33/36 (91,7%)	39/42 (92,8%)	107 [95-150]
Total lots sans IPI (témoin)	819	0	391	16/391 (4,1%)	16/350 (4,6%)	37/391 (9,5%)	113 [59-194]
Total (tous animaux)	914	3	433	49/433 (11,3%)	49/386 (12,7%)	76/433 (17,5%)	112 [59-195]

Tableau 11 : Taux de séroconversion dans les lots de JB avec IPI

L'étude met en avant de grosses disparités de circulation du virus du BVD au sein des lots avec et sans IPI. Le taux de « séroconversion moyenne » dans les lots avec IPI est 20 fois plus important que celui des lots sans IPI (respectivement 91,7% et 4,6%) (Tableau 11).

Lorsqu'un individu IPI se trouve dans un lot de JB à l'engrais, le taux de séroconversion au virus du BVD varie entre 73,3 et 100 %, selon les méthodes de calcul (Tableau 11).

Lorsqu'aucun individu IPI ne se trouve dans un lot de JB à l'engrais, le taux de séroconversion au virus du BVD global, calculé sur toute la population varie entre 4,1 et 9,5%, selon les méthodes de calcul (Tableau 11).

Les odd-ratios de séroconversion des JB si présence d'IPI dans le lot sont de 86 [Intervalle de confiance 95% = 35-210], 230 [Intervalle de confiance 95% = 64-830] et 124 [Intervalle de

confiance 95% = 37-421], pour la séroconversion respectivement minimale, moyenne et maximale (Tableaux 12, 13 et 14).

		Présence d'un IPI dans le lot		
		+	-	Total
Séroconversion minimale	+	33	16	49
	-	9	375	384
	Total	42	391	433

Tableau 12 : Table de contingence de la séroconversion minimale si présence d'IPI dans le lot

		Présence d'un IPI dans le lot		
		+	-	Total
Séroconversion moyenne	+	33	16	49
	-	3	334	337
	Total	36	350	386

Tableau 13 : Table de contingence de la séroconversion moyenne si présence d'IPI dans le lot

		Présence d'un IPI dans le lot		
		+	-	Total
Séroconversion maximale	+	39	37	76
	-	3	354	357
	Total	42	391	433

Tableau 14 : Table de contingence de la séroconversion maximale si présence d'IPI dans le lot

VI.5. Contamination virale au centre d'allotement

Les taux de séroconversion minimale, moyenne et maximale intra-lot sont rapprochés des semaines d'allotement dans le tableau 15. Les taux de séroconversion intra-lot des lots sans IPI constitués les mêmes semaines que des lots avec IPI (lots 5, 6, 34 et 36, semaines 4 et 13, sur fond grisé et encadré de noir) varient entre 0 et 12,5% (calcul minimal), 0 et 14% (calcul moyen) et entre 0 et 18,7% (calcul maximal). Ils n'atteignent donc pas les valeurs les plus élevées observées dans les lots sans IPI. En effet, les taux de séroconversion minimale et moyenne intra-lot varient de 0 à 20%, et le taux de séroconversion maximale intra-lot varie de 0 à 40%, tous lots sans IPI confondus.

Numéro de semaine allotissement	N° lot	Statut acheteur	Nombre de JB	Nombre d'IPI	Nombre JB suivi en sérologie (hors IPI)	Nombre sérologie + au test 1	Nombre séroconversion minimale (%)	Nombre séroconversion moyenne (%)	Nombre séroconversion maximale (%)
3	2	E	55	0	25	2	0	0	0
4	4	E	30	1	15	4	11 (73,3%)	11 (100%)	15 (100%)
4	5	NE	12	0	6	0	0	0	0
4	6	E	30	0	11	1	0	0	0
5	7	E	12	0	7	0	0	0	0
5	8	E	9	0	4	2	0	0	0
5	10	E	50	0	14	0	0	0	0
6	13	NE	12	0	5	0	0	0	0
6	15	NE	16	0	10	2	1 (10%)	1 (12.5%)	3 (30%)
6	16	NE	16	0	11	1	0	0	0
8	18	NE	18	0	8	2	0	0	0
8	19	NE	40	0	18	3	0	0	1 (5,5%)
9	23	E	30	1	12	1	9 (75%)	9 (81.8%)	10 (83%)
10	25	E	49	0	23	3	0	0	2 (8,3%)
11	27	E	18	0	7	0	0	0	0
12	32	E	6	0	3	0	0	0	0
13	34	E	34	0	16	2	2 (12,5%)	2 (14%)	3 (18,7%)
13	35	E	35	1	15	1	13 (87,7%)	13 (92.9%)	14 (93,3%)
13	36	NE	25	0	12	2	1 (8,3%)	1 (10%)	2 (16,7%)
14	38	NE	20	0	11	0	0	0	0
14	39	E	100	0	49	7	3 (6,1%)	3 (7.1%)	6 (12,2%)
16	43	E	20	0	10	1	1 (10%)	1 (11.1%)	2 (20%)
17	45	E	32	0	16	1	0	0	0
17	47	E	10	0	5	0	0	0	0
18	48	E	20	0	10	1	2 (20%)	2 (20%)	2 (20%)
18	50	E	15	0	8	0	0	0	0
18	51	NE	29	0	13	1	0	0	0
19	55	E	32	0	15	1	2 (13,3%)	2 (14.3%)	3 (20%)
20	56	E	9	0	5	0	0	0	0
20	57	E	54	0	31	2	3 (9,7%)	3 (10.3%)	5 (16.1%)
20	58	E	20	0	9	0	0	0	0
21	59	E	27	0	14	4	0	0	4 (28,6%)
21	60	NE	9	0	5	2	0	0	2 (40%)
22	64	E	20	0	10	1	1 (10%)	1 (11.1%)	2 (20%)
Bilan			914	3	433	47	49	49	76

Tableau 15 : Circulation virale par lot

Test 1 : phase de prélèvement en centre de rassemblement ; Test 2 : phase de prélèvement en élevage

E : engraisseur spécialisé ; NE : naisseur engraisseur + acheteur de JB

Les taux de séroconversion globaux en fonction de la présence d'un IPI la semaine de l'allotement sont synthétisés dans le tableau 16. Les taux de séroconversion parmi les lots sans IPI sont près de 2 fois supérieurs pour les lots allotés la même semaine qu'un IPI comparés aux lots allotés une semaine sans IPI (respectivement 7.5% et 4.2% pour le taux moyen).

Présent la même semaine qu'un IPI à la CELPA	Nombre de JB	Nombre de tests sérologiques	Nombre de JB séropositif au test 1 (%)	Nombre de JB avec séroconversion		
				Minimale (%)	Moyenne (%)	Maximale (%)
Oui	101	45	5 (11,1%)	3/45 (6,7%)	3/40 (7,5%)	5/45 (11,1%)
Non	718	346	36 (10,4%)	13/346 (3,8%)	13/310 (4,2%)	32/346 (9,2%)

Tableau 16 : Taux de séroconversion dans les lots sans IPI ayant été ou pas allotés la même semaine qu'un lot avec IPI

Les 42 animaux des lots avec IPI sont exclus

Cependant, les odd-ratios de séroconversion des JB d'un lot sans IPI mais ayant été potentiellement en contact avec un animal IPI au centre d'allotement sont de 1,83 [Intervalle de confiance 95% = 0,50-6,69], 1,85 [Intervalle de confiance 95% = 0,33-4,52] et 1,23 [Intervalle de confiance 95% = 0,46-3,36], pour les séroconversions minimale, moyenne et maximale, respectivement (Tableaux 17, 18 et 19). Dans les trois cas, la différence n'est pas statistiquement significative.

Présent le même jour qu'un IPI
 au centre d'allotement
 (hors lot IPI)

		+	-	Total
Séroconversion (minimale)	+	3	13	16
	-	42	333	375
	Total	45	346	391

Tableau 17 : Table de contingence de la séroconversion minimale d'un lot sans IPI mais potentiellement en contact avec un animal IPI au centre d'allotement

Présent le même jour qu'un IPI
 au centre d'allotement
 (hors lot IPI)

		+	-	Total
Séroconversion (moyenne)	+	3	13	16
	-	37	297	334
	Total	40	310	350

Tableau 18 : Table de contingence de la séroconversion moyenne d'un lot sans IPI mais potentiellement en contact avec un animal IPI au centre d'allotement

Présent le même jour qu'un IPI
 au centre d'allotement
 (hors lot IPI)

		+	-	Total
Séroconversion (maximale)	+	5	32	37
	-	40	314	354
	Total	45	346	391

Tableau 19 : Table de contingence de la séroconversion maximale d'un lot sans IPI mais potentiellement en contact avec un animal IPI au centre d'allotement

VII. DISCUSSION

VII.1. Structure du protocole expérimental

La CELPA représente l'un des principaux groupes d'élevage de bœufs du Sud-Ouest de la France. Ses caractéristiques d'approvisionnement en bœufs (allotement un jour par semaine) et la forte concentration géographique de ses adhérents (réalisation des prélèvements en élevage) ont facilité les procédures liées à cette étude.

La durée a été définie par le nombre de JB souhaités dans l'étude (n=1 000), lui-même défini en fonction de la prévalence d'IPI attendue (0,1-0,5%). L'hypothèse d'une absence de variation saisonnière de la prévalence d'animaux IPI entrant en atelier d'élevage a été réalisée mais n'a pas été vérifiée.

Les choix des tests virologiques et sérologiques ont été effectués selon plusieurs critères. Le test par RT-PCR a été préféré à un test d'antigénémie pour des raisons économiques (analyses poolées, faibles pourcentages de pools positifs attendus) et des raisons techniques (meilleure sensibilité avec affranchissement des anticorps colostraux sur des animaux âgés d'environ 4-6 mois ; Brock *et al.*, 1998 & Zimmer *et al.*, 2004).

Pour la sérologie, un test individuel par ELISA compétition a été retenu en raison de sa grande sensibilité et spécificité, de son faible coût et du nombre d'échantillons conséquent à traiter simultanément (Saliki *et al.*, 2004).

En raison de l'âge des animaux à l'entrée en centre d'allotement, une ambiguïté sur l'origine des anticorps des animaux séropositifs était possible, conduisant à une ambiguïté sur l'identification des séroconversions. En effet, au vu des tests sériques réalisés, il est impossible de différencier un individu avec une vraie persistance de séropositivité d'un individu avec présence d'Ac maternels au test 1 et une réponse à une contamination autour de l'allotement au test 2. Dans le premier cas, une contamination sauvage (voire vaccinale dans certains cas) antérieure à l'allotement conduit à une séropositivité aux 2 tests, et à une protection au moins partielle lors d'une nouvelle infection. En effet, la persistance des anticorps suite à une infection sauvage est rapportée jusqu'à 3 ans (Howard *et al.*, 1990 & Loken *et al.*, 1991). Dans le second cas, un résultat de sérologie positif au test 1 pourrait être associé à une origine maternelle (colostrum), avec persistance sérique pouvant aller jusqu'à 5 à 9 mois d'âge dans certains cas (Sandvik, 1999). Le second test pourrait alors être positif suite à une circulation du virus du BVD au sein du lot de JB. Ceci a justifié les 3 calculs de séroconversion dans cette étude. Habituellement, le taux de séroconversion est calculé comme

le taux de « séroconversion moyenne » de cet essai. Cependant, le taux de « séroconversion moyenne » est toujours inclus dans un intervalle défini par une borne inférieure dite de « séroconversion minimale » et une supérieure dite de « séroconversion maximale », et les 3 résultats apparaissent relativement proches.

VII.1. Prévalence des individus IPI

La prévalence des JB IPI à l'entrée en atelier d'engraissement rapportée dans cette étude est de 0,22 % [Intervalle de confiance 95% = 0,081-0,647%]. Ces résultats sont globalement en accord avec ceux présents dans la littérature (Tableau 20). La prévalence des animaux IPI sevrés en élevages naisseurs, entrant en centre de rassemblement ou entrant en atelier d'engraissement semble du même ordre de grandeur et varie entre 0.1% et 0.7%, selon les études (Tableau 20). Celles-ci portent sur des effectifs relativement importants, bien qu'hétérogènes, et semblent bien représenter la situation des animaux au carrefour de la filière (le sortir de l'élevage naisseur et l'entrée en centre de rassemblement ou en atelier d'engraissement).

Population engraissement étudiée (pays)	Nbre de bovins suivis	Type d'animaux / âge allotement	Nombre IT / IPI	Prévalence IPI (%)	Méthodes utilisées et interprétation	Références
Veaux non sevrés (Sud Pays de Galles)	NC	NC	NC	1 %	1 prise de sang virologique et 1 sérologique	Littlejohns et Homer (1990) ¹
Taurillons (centre de sélection Belgique)	NC	NC	NC	1 % (1987) 0.7% (1988) 0.6% (1989) 0.7% (1990)	2 prises de sang virologiques	Waxweiler (1992) ¹
JB, allaitants, centre rassemblement post-marchés (Canada)	1 029 des 5 129 JB allotés	JB sevrés, 7-10 mois d'âge et 250-350 kg	1 IPI sur 1 029 suivis + 3 morts MD dans les non-suivis	< 0.1 %	Isolement viral sur microplaque ou antigénémie ELISA	Taylor (1995)

Population engraissement étudiée (Pays)	Nombre de bovins suivis	Type d'animaux / âge allotement	Nombre IT / IPI	Prévalence IPI (%)	Méthodes utilisées et interprétation	Références
JB, 128 troupeaux (Etats-Unis)	18 931	JB sevrage, environ 6 mois d'âge	33 IPI confirmés	0.17 %	Antigénémie (isolement sur plaque) 1 ^{ère} avant 4 mois d'âge et 2 ^{ème} à 6 mois d'âge	Wittum (2001)
JB, allaitants, 1 centre d'engraisement post marchés (Etats-Unis)	5 041(50 enclos)	JB, sevrés, <360 kg PV	10 IPI	0.20%	Immunohistochimie (IPI si aspects caractéristiques sur les follicules pileux) 1 seul test	O'Connor (2005)
Allaitants, 2 centres de rassemblement (Etats-Unis)	938	JB sevrés	3 IPI	0.33% [IC95% = 0.29-0.36%]	Immunohistochimie et RT-PCR	Larson (2005)
JB, allaitants, 7 ateliers d'engraisement post marchés (Etats-Unis)	2 000 (20 enclos) / 1383 malades chroniques (MC) / 1585 morts	JB 318.1+/- 0.62 kg	6 IPI	0.3% (IC95% = 0.14-0.65%) / 2.6% des MC / 2.5% des morts	Immunohistochimie (IPI si aspects caractéristiques sur les follicules pileux) 1 seul test	Loneragan (2005)
JB, allaitants, 1 centre de rassemblement (France)	1 177 (25 enclos)	JB, sevrés, mâles et femelles 246 jours [112-463]	supposés 4 IPI (3 confirmés, 1 mort)	supposée entre 0.34 et 0.42%	RT-PCR pools de 20 puis BVD ELISA E0 si mélange positif 2 tests viro à 3 semaines	Fanuel (2005)
Laitiers, 2 centres de rassemblement, issus d'un centre de sevrage (Etats-Unis)	836	JB laitiers sevrage, 3-4 mois d'âge	2 IPI confirmés et 1 IPI ou IT (mort)	0.20% [IC95 = 0.03-0.90%]	Antigénémie ELISA	Hoar (2007)
JB, allaitants, 61 élevages naisseurs (Canada)	1782 (30 broutards par troupeau)	Broutard, au sevrage, 227+/-43 jours d'âge	12 IPI	0.67%	Immunohistochimie (IPI si aspects caractéristiques sur les follicules pileux) 1 seul test	Waldner (2008)
JB, Allaitants, 3 ateliers d'engraisement post marchés (Canada)	7 132 (25 enclos)	JB, sevrés	13 IPI	0.18%	Immunohistochimie et PCR à l'entrée IT : PCR + et IHC – IPI : PCR + et IHC +	Booker (2008)
JB, allaitants, 1 centre de rassemblement post marchés (Etats-Unis)	21 743	JB, sevrés 233 kg [175-289]	86 IPI	0.40%	Antigénémie ELISA (ACE) + PCR et IHC dans les 3 jours qui suivent si positif	Hessman (2009)

Tableau 20 : Prévalence de JB Infectés Permanents Immunotolérants (IPI) dans différents pays.

¹ : selon Boulanger et al., 1993

NC : information non analysée/communiquée dans la publication

IHC : ImmunoHistoChimie

La prévalence d'IPI chez des animaux plus jeunes, de la naissance au sevrage, paraît beaucoup plus variable et plus élevée que sur les animaux sevrés (Tableau 21), que ce soit en système laitier ou allaitant. Le risque plus élevé de mortalité des animaux IPI comparé aux animaux non IPI contribue beaucoup à la différence de prévalence des animaux IPI selon l'âge. Par exemple, dans une étude portant sur un seul élevage d'environ 500 vaches, la prévalence des animaux IPI est estimée autour de 10% sur des veaux à la naissance et à la moitié (5,3%) sur des animaux au sevrage, la différence étant expliquée par la plus forte mortalité chez les IPI et par une vente anticipée chez les IPI avec faible croissance (Taylor, 1997).

De même, le pourcentage d'IPI détectés dans des populations à risque est plus élevé : 2,6% [Intervalle de confiance 95% = 1,9-3,6%] d'IPI (n=36) sont rapportés lorsque qu'ils sont recherchés sur 1 383 JB malades chroniques et 2,5% [Intervalle de confiance 95% = 1,8-3,5%] d'IPI (n=39) sont rapportés lorsqu'ils sont recherchés sur 1 585 JB morts (Loneragan, 2005).

Population engraissement étudiée (Pays)	Nombre de bovins suivis	Type d'animaux/ âge allotement	Nombre IT / IPI	Prévalence IPI (%)	Autre	Méthodes utilisées et interprétation	Références
Allaitants, 1 exploitation (Etats-Unis)	552	Veaux nouveaux	51 IPI confirmés + 20 IPI non confirmés (morts)	9,1-12.1%		Antigénémie et/ou culture 1 test entre naissance et sevrage, ou si mort	Taylor (1997)
Allaitants, 128 exploitations (Etats-Unis)	18 931 veaux	Veaux avant sevrage,	56 positifs au test 1 ; 33 IPI confirmés, 23 IT/IPI non confirmés (morts, réforme)	0.27 % pour veaux	IT et/ou IPI dans 10.1% (13/128) des fermes ; IPI dans 7.8% (10/128) des fermes	Antigénémie (isolement sur plaque) Test 1 < 4 mois ; test 2 ≈ 6 mois d'âge	Wittum (2001)
Laitiers, 2 exploitations (Etats-Unis)	437	Veaux nouveaux, avant prise colostrale	5 IT, 2 IPI confirmés	1.14%	IT et/ou IPI dans 2/2 fermes ; IPI dans 1/2 fermes	RT-PCR	Munoz-Znazi (2003)
Allaitants, 102 exploitations (Etats-Unis)	10 030	Veaux avec mères, 1 à 6 mois d'âge	8 IT, 12 IPI confirmés et 4 IPI supposés (non confirmés)	0.09% [IC95% = 0.05-0.16%]	IT et/ou IPI dans 10.8% (11/102) fermes ; IPI dans 3.9% (4/102) fermes	Antigénémie ELISA	O'Connor (2007)
Laitiers, 4 exploitations (Etats-Unis)	961	Veaux nouveaux, avant prise colostrale	17 IT, 8 IPI confirmés	0.83%	IT et/ou IPI dans 4/4 fermes ; IPI dans 3/4 fermes	RT-PCR	Schefers (2008)

Tableau 21 : Prévalence de veaux Infectés Permanents Immunotolérants (IPI) dans différents pays.

Bien que les prévalences d'IPI parmi les animaux en entrée d'atelier d'engraissement soient du même ordre de grandeur, des variations importantes sont observées selon les essais (Tableau 20).

Les intervalles de confiance des prévalences calculées sont relativement importants, suggérant de retenir une prévalence d'IPI des animaux en entrée d'atelier d'engraissement entre 0.1 et 1%. Les résultats obtenus dans le Sud-Ouest de la France témoignent aussi d'une précision modérée [Intervalle de confiance 95% = 0,081-0,647%], à relier à la faible prévalence et donc au nombre très important d'animaux à inclure pour affiner l'estimation.

En raison des intervalles de confiance larges et des différences dans l'échantillonnage et les populations étudiées, les résultats de prévalence du tableau 20 ne permettent pas d'analyser l'évolution dans le temps des prévalences des animaux IPI à l'entrée en atelier d'engraissement, même si les prévalences rapportées dans les années 1990 semblent plus élevées que celles rapportées dans les années 2000.

Les outils diagnostics utilisés et les méthodes d'interprétation retenues varient aussi entre les essais et diffèrent de la méthode retenue ici. La prévalence d'IPI définie dans cet essai a été établie avec deux tests virologiques RT-PCR à plus de 8 semaines d'intervalle couplés à deux tests sérologiques ELISA de compétition, suggérant une bonne identification des animaux IPI et une absence de confusion entre IPI et IT. Cependant, la prévalence n'a pas été corrigée par les performances des tests utilisés. Les sensibilités et spécificités des tests utilisés dans différents essais (antigénémie) sont inférieures à celles utilisées dans cet essai (Saliki *et al.*, 2004). De plus, le diagnostic d'IPI repose sur un seul prélèvement dans plusieurs essais (Taylor, 1995 ; O'Connor, 2005 ; Lanneragan 2005 ; Waldner, 2008 Booker, 2008), même si l'utilisation combinée de PCR et d'immunohistochimie (IHC) semble être à même d'identifier de manière adéquate les IPI. Un animal viropositif par analyse PCR sur prélèvement sanguin mais vironégatif par IHC sur biopsie cutanée (oreille) peut être considéré comme infecté transitoire (IT) alors qu'un animal viropositif à la fois par PCR sur échantillon sanguin et IHC (coloration typique détectée dans les follicules pileux et dans les cellules épithéliales de l'isthme folliculaire et de l'infundibulum) sur biopsie cutanée peut être considéré comme infecté permanent (IPI) (Njaa, 2000).

Dans cet essai, le pourcentage de lots avec au moins un IPI (3/34, soit 8.8% des lots) apparaît faible comparé aux données de la littérature où le pourcentage de lots avec au moins un IPI est de 16% (8/50) (O'Connor, 2005), 36% (9/25) (Hessaman, 2008) et 43% (74/172) (Hessaman, 2008). La distribution des IPI dans les lots reste cependant limitée ici par le faible nombre d'IPI et la taille limitée des ateliers d'engraissement.

De même, au cours de cette étude, les performances sanitaires des individus IPI n'ont pas été inférieures à celles des autres jeunes bovins Blonds d'Aquitaine mis à l'engrais puisqu'aucun n'est mort, ou n'a déclaré la maladie des muqueuses. Dans la littérature, près de 75% (Taylor, 1995), 25% (Fanuel, 2005), 33% (Hoar, 2007) des animaux IPI sont morts au cours des études soit de bronchopneumonie, soit après avoir déclaré la maladie des muqueuses.

VII.2. Séroprévalence initiale et séroconversion

Dans cet essai, 47 des 436 JB étaient séropositifs au départ, soit une séroprévalence initiale de 10,8%. Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés dans la littérature, variant de 10% à 40% (Tableau 20). Diverses hypothèses pourraient expliquer ces résultats.

Les méthodes utilisées varient largement selon les études et comparer les résultats s'avère donc difficile. Toutefois, dans l'étude (Douart, 2004) utilisant une méthode analytique proche de celle retenue dans le présent essai, le taux de séropositivité initiale est du même ordre de grandeur (Tableaux 8 et 20).

L'utilisation de vaccins chez les animaux dans l'élevage naisseur pourrait aussi influencer le pourcentage d'animaux séropositifs à l'entrée en atelier d'engraissement. La plupart des essais ne renseignent pas les éventuelles vaccinations des animaux avant les tests de séroprévalence initiale, souvent par manque d'information (Tableau 22). La détection d'anticorps vaccinaux dépend des caractéristiques du vaccin et de celles de la méthode diagnostique. Par exemple, la vaccination avec le vaccin Rispoval RS/BVD® n'induit pas de séroconversion détectable par une technique d'ELISA compétition ciblée sur les anticorps anti P-80 (Anon, 1997), mais ce n'est pas forcément le cas pour d'autres couples vaccins/méthodes diagnostiques.

Les variations inter-lots du pourcentage d'animaux séropositifs sont généralement importantes, à l'instar des résultats de cet essai (Tableau 8). Dans un essai sur 62 élevages allaitants canadiens, seulement 10 et 25% des élevages naisseurs n'avaient aucun animal séropositif au sevrage (Waldner, 2008).

Population engraissement étudiée (Pays)	Nombre de bovin suivis	Type d'animaux/ âge allotement	% Séropositifs entrée	Séroconversion	Méthodes utilisées et interprétation	Références
2 ateliers d'engraissement (Canada)	496, 14 lots	JB, sevrés	37 % [20-50% selon lots]	31 % [1-70% selon lots]	Séroneutralisation, positif si titres en anticorps x9, durée de 28 jours, pas de vaccins	Martin (1990)
Race allaitante, 1 atelier d'engraissement (Canada)	5129, 20 lots	JB, sevrés, 7-10 mois d'âge, 250-350 kg	NC	ELISA : 27 % [0-63% selon lots] Séroneutralisation : 40 % [0-100% selon lots]	ELISA Gp53 et séroneutralisation, positif si titres en anticorps x4, durée de 96 jours, pas de vaccins	Taylor (1995)
11 élevages avec épidémie respiratoire (Canada)	28	Veaux	29%	57%	Séroneutralisation, positif si titres en anticorps x4, durée de 3 semaines, pas de vaccins	Richer (1998)
3 ateliers d'engraissement, post-marchés (Canada)	852	JB, sevrés	39 % [3-56% selon lots]	45 %	Séroneutralisation, SC positif si titres en anticorps x4, durée de 28 jours, vaccinés (Pyramide 4® lot 1 et Bovishield 4®, lot 2)	O'Connor (2001)
Allaitants, 2 centres de rassemblement (Canada)	325	JB, sevrés	BVD1a : 20-35% BVD 2 : 20%	BVD1a : 25-40% BVD 2 : 22-25%	Séroneutralisation, positif si titres en anticorps x4, durée de 30 jours, pas de vaccin BVD	Fulton (2002)
Race allaitante, 18 ateliers d'engraissement, post-marchés (France)	496	JB, sevrés, 112-463 jours d'âge	13%	47 % [0-100% selon lots]	ELISA Compétition P80, kit LSI, positif si - →+, durée de 5 mois, vaccin non marquant en P80	Douart (2004)
Race allaitante, 61 élevages naisseurs (Canada)	1782 (30 broutards par troupeau)	Broutards, au sevrage, 227+/- 43 jours d'âge,	BVD1 : 44 % [0-100% selon lots] BVD2 : 28 % [0-97% selon lots]	NC	Séroneutralisation x 2 (type 1 et 2 différenciés)	Waldner (2008)

Tableau 22 : Séroprévalence à l'allotement et séroconversion au BVDV des veaux dans différents pays

La séroconversion moyenne observée dans cet essai (13%, 49/386 animaux) reste relativement faible, comparée aux données de la littérature (Tableau 22). Là encore, les techniques diagnostiques, le génotype viral, l'utilisation de vaccins entre les 2 prélèvements pourraient contribuer aux différences observées. Cependant, seul un des 7 résultats de séroconversion rapportés (O'Connor, 2001) semble dépendant d'une vaccination vis-à-vis du BVD ayant potentiellement contribué au taux de séroconversion. Concernant les critères de définition de la présence d'une séroconversion, ils semblent homogènes entre les essais (augmentation du titre en anticorps anti BVD par 4 en 1 mois pour la majorité des essais). Les durées prises en compte lors d'ELISA sont plus élevées. Au final, la séoprévalence dans cet essai semble faible, lorsqu'on la compare aux autres essais (à l'exception de Douart, 2004 utilisant une technique analytique proche et une durée d'analyse du même ordre de grandeur (112 jours en moyenne dans cet essai).

La variabilité intra-lots des résultats de séroconversion observée dans cet essai est en accord avec les résultats de la littérature (Tableaux 15 et 22).

VII.1. Circulation virale en centre de rassemblement et en ateliers d'engraissement

La différence des taux de « séroconversion moyenne » entre les lots de JB avec IPI (91.7% en moyenne, de 73.3 à 100%) et les lots de JB sans IPI (4.6% en moyenne, de 0 à 20%), apparaît très importante. Peu de données semblent disponibles sur les taux de séroconversion des lots avec ou sans IPI dans la littérature.

Dans une étude sur 864 JB répartis en parcs, un taux de séroconversion entre 0 et 63% (96 jours d'allotement) est rapporté (Taylor, 1995). Pour les lots avec IPI, les taux de séroconversion intra-lots sont de 12, 34, 39, 43, 43 et 63% (38,3% en moyenne), contre 9, 12, 15, 17, 22, 30, 35 et 55% (26,1% en moyenne) pour les lots sans IPI (détection d'IPI par PCR et séroconversion déterminée par ELISA Gp53). Dans une autre étude menée sur une année, aucun lien n'apparaît entre les séroconversions intra-lots (test de séroneutralisation) et la présence d'IPI ou d'IT (culture sur cellules). Cependant, les virus isolés sont de génotype 1b et les tests de séroconversion sont dirigés contre les BVDV1a et BVDV2 (Fulton, 2002). Pour l'autre population du même essai, 33% (19/56) et 17% (10/58) des animaux séroconvertissent (BVDV1a) dans les lots, respectivement avec ou sans IT détectés (BVDV 1a et 1b).

La possibilité de présence d'IT non détectés dans le groupe avec 17% de séroconversion ne peut cependant être exclue.

Dans cet essai, la présence d'IPI est donc étroitement associée à une séroconversion massive (Tableau 11). Parmi les lots sans IPI, beaucoup n'ont aucun animal avec séroconversion, alors que la majorité des animaux sont séronégatifs au test 1 ; ceci démontre l'absence de circulation virale dans ces lots. Quelques lots sans IPI ont des taux de séroconversion non nuls, faibles (10%) à modérés (20% pour la « séroconversion moyenne ») (Tableau 15). Dans tous les cas, le nombre d'animaux avec séroconversion reste faible (2-3 dans la majorité des lots). Les pourcentages de séroconversion modérés doivent être nuancés en raison du faible nombre d'animaux dans les lots.

L'absence d'IPI a été clairement démontrée dans ces lots, vu le fort taux de séroconversion des lots avec IPI.

L'absence d'IT dans les lots à taux de séroconversion nulle ou très faible est probable.

Pour les lots avec un taux de séroconversion plus élevé (20%), l'origine de la circulation virale peut être discutée. Cependant, la présence d'IT non décelés dans ces lots aurait très probablement été associée à la séroconversion d'un nombre plus important d'animaux du lot ; et ce d'autant plus que le pourcentage d'animaux séropositifs au test 1 est faible.

L'absence de circulation virale dans les lots sans IPI allotés la même semaine que ceux avec IPI (lots 5, 6, 34 et 36) reste surprenante (Tableau 15). En effet, les contacts étroits permis au centre d'allotement auraient du faciliter la diffusion du virus aux animaux séronégatifs, qui représentent la majorité des animaux des lots 5, 6, 34 et 36. Le temps de contact possible en centre d'allotement est compris entre 3 et 10 heures (temps passé dans des parcs où avaient lieu des mouvements d'animaux pour la pesée et la prophylaxie, avant qu'ils soient allotés et dirigés vers les ateliers engraisseurs). Expérimentalement, un contact direct dans une cage pendant 1 heure avec un individu IPI suffit à transmettre le virus à un veau sain, âgé de 24 à 58 jours dans 100% des cas (n=6) (Travén, 1990). Si le contact est ici moins étroit, l'absence totale de transmission reste étonnante.

Les dimensions des parcs du centre d'allotement et la rapidité des transferts des animaux pourraient être impliquées dans cette absence de transmission du virus des IPI aux animaux naïfs. Ces conditions de gestion des JB en centre de rassemblement pourraient être prises en compte et étendues pour diminuer la diffusion du virus dans les différents lots et les conséquences sanitaires et zootechniques associées.

La dynamique de contamination du BVD à partir d'IPI en centre d'allotement et la distribution des individus dans les ateliers d'allotement n'est que rarement rapportée (Booker, 2008). Dans un de ses essais sur 25 lots en atelier d'engraissement, 9/25 comprenaient au moins un des 13 IPI/7132 JB et 16/25 ne comprenaient aucun IPI ; chez ces derniers 9/16 comprenaient au moins un IT et 7/16 n'en comprenaient pas le jour de l'entrée en atelier d'engraissement. Sur ces 7 lots sans IT le jour de l'entrée en atelier d'engraissement, 4 n'ont pas eu de signes de circulation virale mais 3 ont eu des IT détectés dans le mois post-entrée (Booker, 2008). La présence de 16/25 lots sans IPI mais avec des IT détectés le jour de l'allotement suggère une contamination précoce en centre d'allotement ou les jours qui ont précédé. La présence de 3/25 lots sans IPI mais avec circulation virale sans IT détecté le jour de l'allotement suggère une contamination tardive en centre d'allotement.

Les résultats obtenus dans les 34 lots du Sud-Ouest de la France qui constituent cet essai, suggèrent d'exclure une contamination précoce ou tardive en centre d'allotement ou auparavant.

L'origine des animaux allotés à la CELPA n'a pu être reconstituée, et l'analyse des taux de séropositivité des animaux issus de mêmes lots d'élevage que les IPI n'a pu être réalisée. De plus, les groupes d'animaux éventuellement transportés simultanément dans un même camion n'ont pas été notés.

Les écarts de résultats dans la dynamique de contamination, entre cet essai et celui de Booker, pourraient provenir d'une différence (i) dans la quantité de virus excrété (l'excrétion virale des IPI, bien qu'élevée, est fluctuante) et (ii) dans la virulence de la souche de virus du BVD hébergée par l'IPI. La virulence et la pathogénie des souches de BVD varient en effet fortement, comme le suggèrent les différences cliniques entre 2 lots d'animaux infectés pendant le même laps de temps et par un même individu IPI à 3 semaines d'intervalle. Le premier lot a essentiellement présenté des troubles diarrhéiques mais, le second, des troubles respiratoires ; tous deux ont séroconverti. La cyclicité de la virémie des IPI a été retenue pour expliquer ces différences de pathogénie (Travén et *al.*, 1990).

Néanmoins, l'étude conduite dans le Sud-Ouest et celle conduite en milieu expérimental (Travén et *al.*, 1990) confortent toutes les deux le fait que le contact direct étroit est la principale voie de contamination, au détriment de la dissémination des excréments de l'individu IPI par aérosol.

CONCLUSION

Cet essai rapporte une prévalence des individus IPI très faible (0.22%, Intervalle de confiance 95% = 0,081-0,647%) dans les centres d'engraissement du Sud-Ouest de la France. Les taux de séroconversion sont très élevés lors de présence d'IPI dans le lot (91,7% en moyenne, de 73,3 à 100%) et faible en cas d'absence (4,6% en moyenne, de 0 à 20%). Ces résultats s'inscrivent dans la continuité de la littérature déjà présente.

Etonnamment, aucun IT n'a été créé par les IPI en centre d'allotement et la circulation virale n'a été observée que dans les lots avec IPI. La gestion des lots d'animaux entrants et sortants ainsi que la durée courte de transit en centre d'allotement pourraient justifier ce résultat. Ceci amène à s'interroger sur la conduite à tenir dans la gestion des flux d'animaux dans la filière JB à l'engrais. En raison des conséquences sanitaires et zootechniques de la circulation du virus du BVD au sein d'un lot de JB, limiter les mélanges d'animaux, accélérer le processus de gestion des animaux et réduire la durée de transit en centre d'allotement pourraient en limiter la diffusion du BVD.

Ni l'utilisation de vaccin pour maîtriser la circulation virale, ni la diffusion du virus entre différents lots d'un même atelier d'engraissement, n'ont été évaluées dans cet essai ; elles ne faisaient pas partie des objectifs.

Un autre volet de l'étude s'attache aux conséquences économiques engendrées par la présence d'un individu IPI et par la circulation virale au sein d'un lot de jeunes bovins à l'engrais. Ces résultats seront présentés dans un travail conjoint (G. Pons).

L'ensemble de ces données devrait permettre d'améliorer la gestion du BVD dans les systèmes d'engraissement du Sud-Ouest de la France. Définir la prévalence des IPI, la séroprévalence initiale et la séroconversion au sein des lots, devraient permettre d'améliorer la prise de décisions dans la gestion sanitaire, et d'en évaluer, au moins sommairement, les intérêts économiques.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

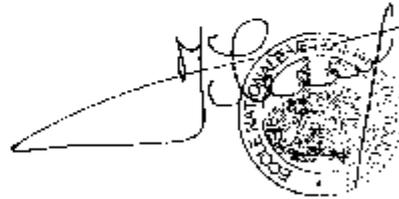
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Didier RABAOISSON**, enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **CHABALGOITY Simon** intitulée « *Caractéristiques de la circulation du virus BVD en centre d'engraissement de jeunes bovins de race Blonde d'Aquitaine du Sud-Ouest de la France* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 15/11/2012
Docteur **Didier RABAOISSON**
Enseignant chercheur
de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse



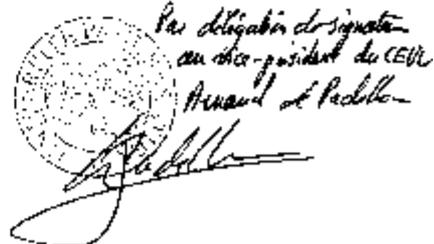
Vu :
Le Directeur de l'École Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur **Alain MILON**



Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Jacques IZOPE**



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur **Bertrand MONTHUBERT**

Par délégation de signature
au vice-président du CEVU
Arnaud et Pédelle


M. Simon CHABALGOITY
a été admis(e) sur concours en : 2007
a obtenu son Diplôme d'Études fondamentales vétérinaires le : 30/06/2011
a validé son année d'approfondissement le : 07/06/2012
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Page 1 sur 1

Références bibliographiques

- ARCHAMBAULT D, BELIVEAU C, COUTURE Y, CARMAN S, 2000. Clinical response and immunomodulation following experimental challenge of calves with type 2 noncytopathogenic bovine viral diarrhea virus. *Vet. Res.*31:215-27.
- BAKER JC, 1987. Bovine viral diarrhea virus: A review. *J Am Vet Med*, 190:1399-458.
- BAKER JC, 1995. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*11:425-45.
- BAULE C, KULCSAR G, BELAK K, 2001. Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhea virus type 1. *J. Clin. Microbiol.*39:146-53.
- BIELANSKI A, LOEWEN K, DELCAMPO M, SIRARD M, WILLADSEN S, 1993. Isolation of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) and bovine viral diarrhea (BVDV) in association with the in vitro production of bovine embryos. *Theriogenology* 40:531-8.
- BOLIN SR, 1985. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus by surinfection with cytopathic bovine viral diarrhea virus. *Am. J. Vet. Res.* 46:573-576.
- BOLIN SR, MCCLURKIN AW, CUTLIP RC, CORIA MF, 1985. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus by surinfection with cytopathic bovine viral diarrhea virus. *Am. J. Vet. Res.* 46:573-6.
- BOLIN SR, MCCLURKIN AW, CORIA MF, 1985. Effects of bovine viral diarrhea virus on the percentages and absolute numbers of circulating B and T lymphocytes in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 46: 884 886.
- BOLIN SR, VM D, D Ph? 1995. The pathogenesis of mucosal disease. *Veterinary clinics of north America : Food Animal Practice* 11(3):489-97.
- BOOKER CW, GUICHON PT, JIM GK, SCHUNICHT OC, HARLAND RJ, MORLEY PS, 1999. Seroepidemiology of undifferentiated fever in feedlot calves in western Canada. *Can. Vet. J.* 40:40-8.
- BOOKER CW, ABUTARBUSH SM, MORLEY PS, GUICHON PT, WILDMAN BK, JIM GK, SCHUNICHT OC, PITTMAN, TJ, PERRETT T, ELLIS JA, APPELYARD G, HAINES DM, 2008. The effect of bovine viral diarrhea virus infections on health and performance of feedlot cattle. *Can. Vet. J.* 49:253-60.

BOLIN SR, GROOMS DL, 2004. Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20(1):51-68.

BOULANGER D, QUATPERS D, MIGNON B, HOFMANS J, PIU F, PASTORET P, 1993; Transmission du virus BVD/MD et aspects épidémiologiques de l'infection. *Bulletin des GTV 4BV447*:14-17.

BROCK KV, 1995. Diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Vet. Clin. North Am.* 11(3):549-61.

BROCK KV, GROOMS DL, RIDPATH J, BOLIN SR, 1998. Changes in levels of viremia in cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 10:22-26.

BROWNLIE J, CLARKE MC, HOWARD CJ, 1984. Experimental production of fatal mucosal disease in cattle, *Vet. Rec.* 114:535-36.

BROWNLIE J, CLARKE MC, HOWARD CJ, POCOCK DH, 1987. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *An. Rech. Vet.* 18:157-66.

BROWNLIE J, CLARKE MC, HOWARD CJ, 1989. Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. *Res. Vet. Sci.* 46:307-311.

BURCIAGA-ROBLES L, KREHBIEL C, STEP D, HOLLAND B, RICHARDS C, MONTELONGO M, 2010. Effects of exposure to calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus type 1b and *Mannheimia haemolytica* challenge on animal performance, nitrogen balance, and visceral organ mass in beef steers. *J. of Anim. Sci.*, 88:2179-218.

CAMPBELL, 2004. Effect of bovine viral diarrhoea virus in the feedlot. *Vet. Clin. Food Anim.* 20:39-50.

CASARO AP, KENDRICK JW, KENNEDY PC, 1971. Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus. *Am. J. Vet. Res.* 32:1543-62.

CASTRUCCI G, FRIGERI F, OSBURN BI, FERRARI M, SAWYER MM, ALDROVANDI V, 1990. A study of some pathogenetic aspects of bovine viral diarrhoea virus infection. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 13:41-9.

CHAPPUIS G, 1993. Caractéristiques du virus BVD-MD. *Bulletin des GTV*, 4:7-10.

COLLETT MS, ANDERSON DK, RETZEL E, 1988. Comparisons of the pestivirus bovine viral diarrhoea virus with members of the flaviviridae. *J. Gen. Virol.* 69 (10):2637-43.

COUVREUR B, DEHAN P, LETELLIER C, LEWALLE P, PASTORET PP, KERKHOFS P, 2000. Differences in experimental virulence of bovine viral diarrhoea virus strains isolated from haemorrhagic syndromes. *Vet. J.* 160:250-58.

DOUART A, ASSIE S, THEVENOT C, FANUEL P, SAULNIER R, GASNIER R, 2004; Circulation du virus BVD (BVDV) dans les ateliers d'engraissement de jeunes bovins en région Pays de la Loire. Poster Journée Bovine Nantaise.

ELAM NA, THOMSON DU, GLEGHORN JF, 2008. Effects of long- or short-term exposure to a calf identified as persistently infected with bovine viral diarrhoea on feedlot performance of freshly weaned, transport-stressed beef heifers. *J. Anim. Sci.*, 86:1917-24.

ELBERS K, TAUTZ N, 1996. Processing in the pestivirus E2-NS2 region : identification of proteins p7 and E2p7. *Journal of virology* 70:4131-35.

ENTRICAN G, DAND A, NETTLETON PF, 1994. A double monoclonal-antibody ELISA for detecting pestivirus antigen in the blood of viraemic cattle and sheep. *Vet. Microbiol.* 43: 65-74.

FANUEL P, LEMARCHAND F, TRESSE C, RISSON K, CHEVAL JL, LETARD S, COUROUSSE C, 2005. Recherche du virus BVDV sur des jeunes bovins de boucherie issus d'un centre d'allotement en région Pays de Loire.

FLAMANT S, 2006. Les pestivirus dans les populations de chevreuils (*Capreolus capreolus*) en France. Thèse vétérinaire Lyon.

FREDRIKSEN B, PRESS CM, LOKEN T, ODEGAARD SA, 1999. Distribution of viral antigen in uterus, placenta and foetus of cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Microbiol.* 64:109–22.

FULTON RW, RIDPATH JF, SALIKI JT, BRIGGS RE, CONFER AW, BURGE LJ, PURDY CW, LOAN RW, DUFF GC, PAYTON ME, 2002. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1b : predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. *Can. J. Vet. Res.* 66:181-90.

GARDINER AC, BARLOW RM, 1972. Experiments in border disease : some epidemiological considerations with reference to the experimental disease. *J. Comp. Pathol.* 82:29-35 & 159-161.

GOETGHELUCK V, 2002. Bilan comparatif des plans de lutte contre le syndrome BVD/MD dans les troupeaux bovins en France et en Europe. Thèse Méd. Vet., Alfort n°2987.

GROOMS DL, BROCK KV, WARD LA, 1998. Detection of cytopathic bovine viral diarrhoea virus in the ovaries of cattle following immunization with a modified live bovine viral diarrhoea virus vaccine. *J. Vet. Diagn. Invest.* 10:130–4.

GROOMS DL, BROCK KV, WARD LA, 1998. Detection of bovine viral diarrhoea virus in the ovaries of cattle acutely infected with bovine viral diarrhoea virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 10:125–9.

GROOMS DL, KEILEN ED, 2002. Screening of neonatal calves for persistent infection with bovine viral diarrhoea virus by immunohistochemistry on skin biopsy samples. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9(4):898-900.

GROOMS DL, 2004. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clin. Food Anim.* 20:5–19

HAMERS C, 2000. Differences in experimental virulence of Bovine Viral Diarrhoea viral strains isolated from haemorrhagic syndromes. *Vet. J.* 160:250-58.

HAMERS C, DEHAN P, COUVREUR B, 2001. Diversity among bovine pestiviruses. *Vet. Journal* 161:112-22.

HESSMAN BE, FULTON RW, SJEKLOCHA BD, MURPHY TA, RIDPATH JF, PAYTON ME, 2009. Evaluation of economic effects and the health and performance of the general cattle population after exposure to cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus in a starter feedlot. *Am. J. Vet. Res.* 2009 70:73-85.

HOAR BR, MCQUARRY AC, HIETALA SK, 2007. Prevalence of *Neospora caninum* and persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in dairy-breed steers in a feedlot. *JAVMA.* Vol 230, N°7 1038

HOUE H, 1992. Age distribution of animals persistently infected with bovine virus diarrhoea virus in twenty-two Danish dairy herds. *Can. J. Vet. Res.* 56:194-8.

HOUE H, MYRUP-PEDERSEN K, MEYLING A, 1993. The effect of bovine virus diarrhoea virus infection on conception rate. *Prev. Vet. Med.* 15:117–23.

HOUE H, 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 11:521-47.

JANZEN ED, CLARK EG, 1995. Thrombocytopenia in weaned beef calves. *Can. Vet. J.* 36:45-6.

JEFFREY M, WELLS GAH, 1989. Immunohistochemical topography and cellular localization of BDV in the central nervous system in experimental Border disease of sheep. *Neuropath. and applied Neurobiol.* 15:590-1.

KIRKLAND P, MCGOWAN M, MACKINTOSH S, 1993. Factors influencing the development of persistent infection of cattle with pestivirus. The 2nd symposium on pestiviruses, Lyon, France 117–21.

LARSON RL, MILLER RB, KLEIBOEKER SB, MILLER MA WHITE BJ, 2005. Economic cost associated with two testing strategies for screening feeder calves for persistent infection with bovine viral diarrhea virus. *JAVMA*, Vol 226, 249.

LIU L, HOWARD D, LEHMKUHL, MERLIN L, KAEBERLE, 1998. Synergistic effects of bovine respiratory syncytial virus and non-cytopathic bovine viral diarrhea virus infection on selected bovine alveolar macrophage functions.

LOKEN T, KROGSRUD J, BJERKAS I, 1991. Outbreaks of border disease in goats induced by a pestivirus-contaminated orf vaccine, with virus transmission to sheep and cattle. *J. Comp. Pathol.* 104:195-209.

LONERAGAN GH, THOMSON DU, MONTGOMERY DL, MASON GL, LARSON RL, 2005. Prevalence, outcome, and health consequences associated with persistent infection with bovine viral diarrhea virus in feedlot cattle. *JAVMA*, 226(4):595-602.

MARTIN SW, BATEMAN KG, SHEWEN PE, ROSENDAL S, BOHAC JG, THORBURN M, 1990. A group level analysis of the associations between antibodies to seven putative pathogens and respiratory disease and weight gain in Ontario feedlot calves. *Can J Vet Res*, 54:337-42

MAILLAD R, VANDAËLE E, 2004. Choix d'un plan de lutte contre le BVD-MD. *Le Point Vétérinaire* 249:48-50

MUNOZ-ZANZI CA, HIETALA SK, THURMOND MC, JOHNSON WO, 2003. Quantification, risk factors, and health impact of natural congenital infection with bovine viral diarrhea virus in dairy calves. *Am. J. Vet. Res.* 64:358–65.

MUSCOPLAT CC, JOHNSON DW, TEUSCHER E, 1973. Surface immunoglobulin of circulating lymphocytes in chronic bovine diarrhea : abnormalities in cell population and cell function. *Am. J. Vet. Res.* 34:1101-4.

NJAA BL, CLARK EG, JANZEN E, ELLIS JA, HAINES DM, 2000. Diagnosis of persistent bovine viral diarrhea virus infection by immunohistochemical staining of formalin-fixed skin biopsy specimens. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12(5):393-9.

O'CONNOR AM, NAGY SW, MENZIES E, HARLAND P, 2001. The relationship between the occurrence of undifferentiated bovine respiratory disease and titer changes to bovine coronavirus and bovine viral diarrhoea virus in 3 Ontario feedlots. *Can. J. Vet.* 65:137-142.

O'CONNOR AM, SORDEN SD, APLEY MD, 2005. Association between the existence of calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus and commingling on pen morbidity in feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.* 66:2130-4.

O'CONNOR AM, REED MC, DENAGAMAGE TN, YOON KJ, SORDEN SD, COOPER VL, 2007. Prevalence of calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus in beef cow-calf herds enrolled in a voluntary screening project. *JAVMA*, Vol 230, N° 11, 1691:96.

OLAFSON P, MAC CALLUM AD, FOX A, 1946. An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornellvet.* 36 :205-13.

PASTORET P, HAMERS C, LECOMTE C, LAMBOT M, 1997. Le point vétérinaire, 28:187.

POTGIETER LN, MCCRACKEN MD, HOPKINS FM, WALKER RD, GUY JS, 1984. Experimental production of bovine respiratory tract disease with bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.* 45:1582-5.

POTGIETER LN, MCCRACKEN MD, HOPKINS FM, WALKER RD, 1984. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *Am. J. Vet. Res.* 45:687-90.

POTGIETER LN, MC CRACKEN MD, 1985. Comparison of the pneumopathogenicity of two strains of bovine diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.* 46:151-3.

PRITCHARD WR, 1963. The bovine viral diarrhoea-mucosal disease complex. *Adv. Vet. Sci.* 8:1-47.

RAMSEY FK, CHIVERS WH, 1953. Mucosal disease of cattle. *North. Am. Vet.* 34:629-33.

ROEDER P, JEFFREY M, CRANWELL M, 1986. Pestivirus fetopathogenicity in cattle : changing sequella with fetal maturation. *Vet. Rec.* 118:44-8.

RICHARD L, MAROIS P, LAMONTAGNE L, 1988. Association of Bovine Viral Diarrhoea Virus with Multiple Viral Infections in Bovine Respiratory Disease Outbreaks. *Can. Vet. J.* 29:713-7.

RICHER L, MAROIS P, LAMONTAGNE L, 1998. Association of bovine viral diarrhoea virus with multiple viral infections in bovine respiratory disease outbreaks. *Can. Vet. J.* vol 29.

RICHESON JT, KEGLEY EB, POWELL JG, BECK PA, VANDER LEY BL, RIDPATH JF, 2012. Weaning management of newly received beef calves with or without continuous exposure to a persistently infected bovine viral diarrhoea virus pen mate : effects on health, performance, bovine viral diarrhoea virus titers, and peripheral blood leukocytes. *J. Anim. Sci.* 90:1972-85.

SANDVIK T, 1999. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Veterinary Microbiology* 64:123-34

SCHEFERS J, MUNOZ-ZANZI C, COLLINS JE, GOYAL SM, AMES R, 2008. Serological evaluation of precolostral serum samples to detect bovine viral diarrhoea virus infections in large commercial dairy herds. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20 :625-8.

SCHELCHER F, VALARCHER JF, NAVETAT H, ESPINASSE J, 1993. Aspect clinique de l'infection des bovins par le virus de la maladie des muqueuses. *Bulletin des GTV* 4:23-29.

SCHELCHER F, GOURREAU JM, 2012. Guide pratique des maladies des bovins. France Agricole Production.

SHARIAR FM, CLARK EG, JANZEN E, WEST K, WOBESER G, 2002. Co-infection with bovine viral diarrhoea virus and *Mycoplasma bovis* in feedlot cattle with chronic pneumonia. *Can. Vet. J.* 43:863-8.

STEVENS ET, THOMSON DU, LONERAGAN GH LINDBERG N, Effects of short-term exposure of feeder cattle to calves persistently infected with bovine viral diarrhoea. *The bovine practitioner* vol 41(2) 151-155

STEVENS ET, THOMSON DU, REINHARDT CD, LINDBERG N, 2009. Effect of testing and removal of feeder calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus at the time of feedlot arrival and outcome on health, performance, and carcass characteristics

TAYLOR LF, VAN DONKERSGOED J, DUBOVI EJ, HARLAND RJ, VAN DEN HURK JV, RIBBLE CS, JANZEN ED, 1995. The prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection in a population of feedlot calves in western Canada. *Can. J. Vet. Res.* 59:87:93

TAYLOR LF, JANZEN DJ, ELLIS JA, VAN DEN HURK JV, WARD P, 1997; Performance, survival, necropsy, and virological findings from calves persistently infected with the bovine viral diarrhoea virus originating from a single Saskatchewan beef herd. *Can. Vet. J.* 38:29-37.

TAYLOR LF, JANZEN ED, DONKERSGOED JV, 1997. Losses over a 2-year period associated with fetal infection with the bovine viral diarrhoea virus in a beef cow-calf herd in Saskatchewan. *Can. Vet. J.* Vol. 38.

THIBAULT JC, CREVAT D, 1993. Caractéristiques et performances de nouvelles techniques de diagnostic en BVD/MD. Bulletin des GTV 4:53-9.

TRAVEN M, ALENTUS S, FOSSUM C, LARSSON B, 1991. Primary bovine viral diarrhoea virus infection in calves following direct contact with a persistently viraemic calf. J. Vet. Med. 38:453-62.

VAAST RR, 1986. Les pestivirus des ovins en Aveyron (1984-1986). Pestivirus des Ovins et des Bovins, Ste Française de Buiatrie, Paris, France 27:23-31.

VIRAKUL P, FAHNING M, JOO H, ZEMJANIS R, 1988. Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. Theriogenology 29:441-9.

WALDNER CL, KENNEDY RI, 2008. Associations between health and productivity in cow-calf beef herds and persistent infection with bovine viral diarrhoea virus, antibodies against bovine viral diarrhoea virus, or antibodies against infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. AJVR, vol 69, n° 7.

WITTUM TE, GROTELUESCHEN DM, BROCK KV, KVANICKA WG, FLOYD JG, KELLING CL, ODDE KG, 2001. Persistent bovine viral diarrhoea virus infection in US beef herds. Prev. Vet. Med. 49:83-94.

ZIMMER GM, VAN MAANEN C, DE GOEY I, BRINKHOF J, WENTINK GH, 2004. The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples. Vet Microbiol 100:145-9.

Toulouse, 2012

NOM : CHABALGOITY

PRENOM : Simon

TITRE : **Caractéristiques de la circulation du virus BVD en centre d'élevage de jeunes bovins de race Blonde d'Aquitaine du Sud-Ouest de la France**

RESUME :

L'objectif de l'essai est de déterminer l'importance du virus du BVD dans les ateliers d'élevage du Sud-Ouest de la France.

Sur les 1 363 jeunes bovins de race Blonde d'Aquitaine prélevés en centre d'allotement, seulement 914 ont pu être suivis en sérologie dans les ateliers d'élevage. Le statut IPI a été déterminé par 2 RT-PCR (Kit Taquet BVDV Screening) positives à plus de 8 semaines d'intervalle, en l'absence de séroconversion. La séroprévalence et la séroconversion ont été réalisées par ELISA de compétition (Kit ELISA de compétition Symbiotics, détectant la protéine P80-125 des souches de type 1 et 2 du BVDV). La séroconversion au sein des lots a été déterminée sur un échantillon d'au moins 50% des animaux de chaque lot, choisis aléatoirement.

La séroprévalence vis-à-vis du BVD des jeunes bovins à l'entrée en atelier d'élevage est proche des 11% (n=47). La prévalence des animaux infectés permanents immunotolérants (IPI) entrant en atelier d'élevage a été déterminée à 0.22% [3/1353 ; Intervalle de confiance 95% = 0,081-0,647%].

Au terme des 107 premiers jours d'allotement [95-150 jours], les taux de séroconversion sont très élevés en présence d'individus IPI dans le lot (91,7% en moyenne, de 73.3 à 100%) et faibles en leur absence. Ces résultats s'inscrivent dans la continuité de la littérature déjà présente.

L'absence de contamination virale, au centre de rassemblement, pour les 4 lots sans IPI allotés la même semaine que ceux avec IPI reste surprenante.

Cette étude laisse supposer qu'une gestion rigoureuse des flux d'animaux en atelier d'allotement (limiter les mélanges d'animaux, réduire leur durée de transit et accélérer le processus de gestion) pourrait limiter la diffusion du BVD en ateliers d'élevage.

MOTS CLES : BVD/MD, infecté permanent immunotolérant (IPI), infecté transitoire (IT), prévalence, circulation virale, séroprévalence, séroconversion.

ENGLISH TITLE : **Characteristics of BVD virus circulation in cattle fattening units of south-western France**

ABSTRACT :

The goal of this experiment is to determine the importance of BVD virus in fattening units of south-western France.

Out of the 1363 young Blonde d'Aquitaine steers sampled in gathering center, only 914 could be serologically followed in fattening units. The persistent infected (PI) status was determined by no seroconversion between two positive RT-PCR (kit Taquet BVDV Screening), at an eight-week interval. Seroprevalence and seroconversion were measured by competition ELISA (Competition ELISA kit of Symbiotics detecting the P80-125 protein from BVDV strains 1 and 2). Seroconversion within batches was determined on a representative sample of at least 50 % of animals in each batch, chosen randomly.

Seroprevalence of BVDV in young cattle entering the fattening unit was close to 11 % (n=47). Prevalence of persistent infected and immunotolerant animals (PI) entering the fattening workshop/unit was determined at 0.22 % [3/1353, 95 % confidence interval = 0.081 – 0.647 %].

After the first 107 days of fattening (95-150 days), seroconversion rate was very high in case of the presence of an PI in the batch (average of 91.7%, from 73.3 to 100 %) and low when there was no PI in the batch. These results are in accordance with the literature already established.

In the gathering center, the absence of viral circulation inside free PI batches gathered the same week of batches having an IPI is surprising.

It seems that the management of animal flows in fattening units (limiting the mixing of animals, speeding up management processes, decreasing transit time to a minimum) could limit the spreading of BVDV from animals at risk (such as PI and IT) to the whole batch (infection by direct contact).

KEY WORDS : BVD/MD, persistent infected (PI), transient viral infected (IT), prevalence, viral circulation, seroprevalence, seroconversion.