

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	13
I. LES PESTIVIRUS	14
1.1. Taxonomie	14
1.2. Historique.....	14
1.3. Composition et structure.....	15
1.3.1. Génome	
1.3.2. Protéines	
1.4. Phénotype.....	19
1.4.1. Biotypes	
1.4.1.1. BVDV	
1.4.1.2. BDV	
1.4.1.3. CSFV	
1.4.2. Sérotypes	
1.4.3. Pathotypes	
1.5. Propriétés biologiques.....	22
1.5.1. Spectre d'hôte	
1.5.2. Tropisme cellulaire	
1.5.3. Variabilité antigénique	
1.5.4. Immunogénicité	
1.5.5. Pathogénèse et pouvoir pathogène	
1.6. Propriété physico-chimique.....	24
II. LA DIARRHÉE VIRALE BOVINE	25
2.1. Epidémiologie et transmission du BVDV.....	25
2.1.1. Sources de BVDV	
2.1.2. Transmission horizontale	
2.1.3. Transmission verticale	
2.2. Aspects cliniques.....	26
2.2.1. Infections transitoires.....	26
2.2.1.1 Troubles de la reproduction	
2.2.1.2 Troubles digestifs	
2.2.1.3 Autres troubles	
2.2.2. Infection permanente.....	28

2.2.2.1. Cas des IPI	
2.2.2.2. La maladie des muqueuses au sens strict	
2.3 Méthodes diagnostiques.....	30
2.3.1.Généralités.....	31
2.3.1.1. Propriétés d'un test	
2.3.1.2. Tests de référence	
2.3.2. Méthode de détection des anticorps.....	31
2.3.2.1. Séroneutralisation	
2.3.2.2. Techniques ELISA	
2.3.2.3. Autres techniques	
2.3.3. Méthodes de détection virale	34
2.3.3.1. Isolement sur culture cellulaire	
2.3.3.2. Détection de protéines virales	
2.3.3.3. Détection de l'ARN viral	
III. INFECTION DE LA FAUNE SAUVAGE PAR LES PESTIVIRUS.....	37
3.1. Infections naturelles des animaux sauvages.....	37
3.1.1 Etudes sérologiques et antigéniques.....	37
3.1.1.1. CSFV	
3.1.1.2 BVD et BDV	
3.1.2. Isolement viral chez les animaux sauvages.....	56
3.1.2.1. Isolement du CSFV chez les animaux sauvages	
3.1.2.2. Isolement du « Girafe - Pestivirus »	
3.1.2.3. Isolement du BVDV et du BDV chez les animaux sauvages	
3.2. Infections expérimentales des animaux sauvages	60
3.2.1. Transmission transplacentaire.....	60
3.2.2. Durée d'incubation.....	60
3.2.3. Signes cliniques.....	61
3.2.3.1. Signes généraux	
3.2.3.2. Signes locaux	
3.2.3.3. Absence de signes cliniques	
3.2.4. Lésions observées.....	63
3.2.4.1. Tête	
3.2.4.2. Tractus respiratoire	
3.2.4.3. Tube digestif	

3.2.4.4. Autres organes

IV. ANALYSE PHYLOGÉNÉTIQUE DES PESTIVIRUS ISOLÉS CHEZ LES ANIMAUX SAUVAGES.....	66
4.1. Génotypage des CSFV isolés chez les animaux sauvages.....	68
4.2. Génotypage des BVDV isolés chez les animaux sauvages.....	72
4.3. Génotypage des BDV isolés chez les animaux sauvages.....	73
4.3.1 BDV-2 isolé chez un renne	
4.3.2. BDV-4 isolé chez un isard	
4.4. Les pestivirus isolés chez les animaux sauvages formant de nouveaux groupes	74
4.4.1. Girafe - Pestivirus	
4.4.2. Pronghorn - Pestivirus	
V. TRANSMISSION DES PESTIVIRUS ENTRE FAUNES SAUVAGE ET DOMESTIQUE : CONSÉQUENCES ÉPIDÉMIOLOGIQUES.....	77
5.2. Transmission inter espèces du CSFV.....	77
5.3. Transmission inter espèces du BVDV et du BDV.....	77
CONCLUSION.....	80
BIBLIOGRAPHIE.....	82

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Organisation structurale d'un <i>Flavivirus</i>	16
Figure 2 : Génome des pestivirus.....	16
Figure 3 : Ulcères sur la langue d'une génisse charolaise de deux ans atteinte de BVD.....	29
Figure 4 : Schématisation de l'ELISA indirect	33
Figure 5 : Schématisation de l'ELISA de compétition.....	33
Figure 6 : Schématisation de l'ELISA de capture.....	35
Figure 7 : Carte des régions de la Sardaigne.....	40
Figure 8 : Résultats de l'étude sérologique, menée en Sardaigne, recherchant les anticorps dirigés contre le CSFV chez les sangliers sur la période de décembre 1988 à janvier 1992.....	41
Figure 9 : Séroprévalence du CSFV chez les sangliers en Sardaigne en fonction de l'âge.....	41
Figure 10 : Distribution des sérums de cervidés récoltés entre 1990 et 1992 en fonction des différentes régions d'Allemagne.....	44
Figure 11 : résultats sérologiques en <i>Pestivirus</i> obtenus sur les isards (N=207) de 1994 à 2001 dans la réserve d'Orlu.....	48
Figure 12 : Comparaison des pourcentages d'isards non séronégatifs (séropositif + douteux) en pestivirus prélevés au printemps selon leur sexe et leur âge.....	49
Figure 13 : Comparaison des pourcentages d'isards non séronégatifs (séropositifs + douteux) en automne selon leur sexe et leurs âge.....	50

Figure 14 : Pourcentages d'isards non séronégatifs (séropositifs + douteux) envers les pestivirus selon les années. (Intervalle de confiance au risque d'erreur 5%).....	51
Figure 15 : Image en microscopie électronique des pestivirus isolés sur ces chevreuils.....	58
Figure 16 : Arbre phylogénétique construit à partir de l'analyse d'une séquence de 210 nucléotides du gène NS5b de 115 isolats de CSFV.....	69
Figure 17 : Arbre phylogénétique construit à partir de l'analyse d'une séquence de 190 nucléotides du gène E2 de 115 isolats de CSFV.....	70
Figure 18 : Arbre phylogénétique représentant toutes les familles de pestivirus. Cet arbre est basé sur l'analyse de la séquence de nucléotide de la région N ^{pro}	76

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Liste des espèces où des anticorps dirigés contre le BVDV ont été enregistrés dans cette étude et pourcentage de sérums positifs par espèces.....	53
Tableau 2 : Pourcentage de sérums positifs au BVDV dans une population de buffle vivant en liberté au Botswana entre 1965 et 1976.....	55
Tableau 3 : Liste de pestivirus isolés sur des animaux sauvages et leur géotypage.....	66

INTRODUCTION

Les *Pestivirus* sont des virus à ARN monocaténaire, responsables d'importantes maladies en élevage : diarrhée virale bovine, maladie des muqueuses, « border disease » et peste porcine classique.

La première description clinique eut lieu au milieu du siècle dernier, depuis, ces virus et les affections engendrées ont été bien décrits. Toutefois, il en existe de nombreuses souches et chaque année, de nouvelles sont mises en évidence.

Les pestiviroses sont un sérieux problème pour l'économie de l'élevage. Depuis quelques années, les études phylogénétiques et les recherches sur ces viroses ont montré que des pestivirus pouvaient être trouvés dans quasiment toutes les espèces artiodactyles sauvages et domestiques.

Le travail accompli dans cette étude a pour but de faire un bilan sur les pestivirus des animaux sauvages et de poser le problème des contaminations possibles entre espèces domestiques et sauvages.

I. LES PESTIVIRUS

1.1. Taxonomie

Les *Pestivirus* appartiennent à la famille des *Flaviviridae*. Cette famille comprend trois genres, les *Flavivirus* (ex : virus de la fièvre jaune, virus de la Dengue), les *Hepacivirus* (virus de l'hépatite C) et les *Pestivirus* (ex : virus de la maladie des muqueuses, virus de la border disease, virus de la peste porcine classique).

Parmi les *Pestivirus* on distingue le **BVDV** (Bovine Viral Diarrhea Virus ou virus de la diarrhée virale bovine) qui a pour espèce cible les bovins, le **BDV** (Border Disease Virus) qui atteint préférentiellement les ovins et le **CSFV** (Classical Swine Fever Virus ou virus de la peste porcine classique) chez les porcins.

Cependant ces trois espèces ne sont pas parfaitement spécifiques, des réactions immunitaires croisées sont constatées, et certains pestivirus peuvent franchir la barrière d'espèce et infecter la quasi- totalité des ongulés (Paton et al., 1992).

1.2. Historique

Le premier génotype de pestivirus identifié fut le **CSFV**, mis en évidence au **XIX^{ème}** siècle aux **USA**.

Le virus du **BVD** a été isolé et identifié pour la première fois en **1946** (Olafson et al., 1946), dans le cadre d'une infection de nature épidémique, avec des diarrhées aiguës de gravité moindre sur des bovins adultes. On parlait alors de « **grippe intestinale** ».

Quelques années plus tard, ce virus a de nouveau été isolé mais cette fois-ci sur de jeunes bovins de 6 mois à 2 ans. L'infection était alors de nature sporadique, avec une létalité de 100%, de la diarrhée et des ulcères buccaux. A l'autopsie, les lésions étaient nombreuses caractérisées par une stomatite marquée et des ulcères sur tous les épithéliums pavimenteux malpighiens. Ce tableau clinique et lésionnel fut appelé « **maladie des muqueuses** » (Ramsey et al., 1953). Dans les années 60, les deux entités que sont la maladie des muqueuses et la diarrhée virale bovine sont reconnues comme étant dues à un même agent (Jubb et al., 1963).

En **1959**, la **border disease** ou **maladie des frontières** fut décrite pour la première fois chez des moutons (Hugues et al., 1959). En 1967, Dickinson et Barlow ont obtenu la transmission expérimentale de cette maladie en inoculant des brebis pleines avec des broyats de rate et de cerveau d'agneaux atteints. Cette expérience a démontré l'étiologie infectieuse de la border disease (Dickinson et Barlow, 1967).

Dans le début des années 1960, la **parenté antigénique** entre le CSFV et le BVDV est établie (Darbyshire, 1962). Quelques temps après, des réactions immunitaires croisées entre la peste porcine classique, la diarrhée virale bovine et la border disease sont mises en évidence (Plant et al., 1973).

En 1971, Ward inocule le virus de la maladie des muqueuses (virus BVD/MD) à des brebis ce qui provoque chez ces dernières des troubles de la reproduction. Il a ainsi démontré que les pestivirus peuvent **franchir la barrière des espèces** (Ward et al., 1971).

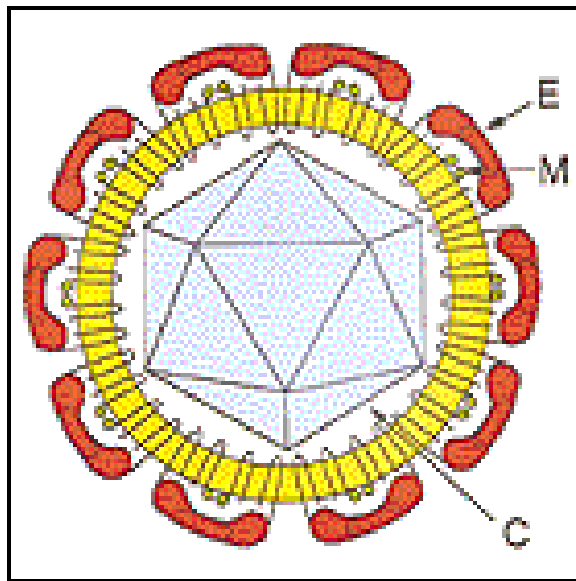
En 1984, la genèse et le rôle épidémiologique des animaux **infectés permanent immunotolérant** (IPI) sont mis en évidence. Vers la fin des années 80 début des années 90, un important développement des outils diagnostiques ont permis de révolutionner la compréhension de la diarrhée virale bovine et de mettre au point des méthodes de diagnostic et de dépistage. Maintenant, depuis le début des années 2000, on évolue peu à peu vers la maîtrise collective dans les élevages.

Cependant, les pestivirus n'atteignent pas seulement les animaux domestiques, ils peuvent également infecter les **animaux sauvages** (Vilcek et Nettleton, 2006). Ils ont été mis en évidence chez de nombreuses espèces d'artiodactyles.

1.3. Composition et structure

Les pestivirus sont des petits virus **sphériques enveloppés** de **40 à 60 nm** de diamètre. Ils possèdent une capsidie à **symétrie icosaédrique** entourée d'une **enveloppe lipoprotéique** (Gardiner et al., 1972). Ils possèdent des spicules en surface mais ceux-ci sont difficilement visibles en microscopie électronique ; ainsi les particules virales apparaissent lisses.

Figure 1 : Organisation structurale d'un Flaviviridae (<http://www.thaimd.net/>)



E : protéine d'enveloppe E
 M : Protéine de membrane M
 C : Protéine de capside C

1.3.1. Génome

Les pestivirus sont des virus **monocaténaire**s à **ARN positif** d'environ **12,3 kb** (Vilcek et Nettleton, 2006). Il possède une **coiffe en 5'** mais pas de poly A en 3'.

Leur génome est composé d'un **long cadre de lecture ouvert** (open reading frame ou ORF) codant pour une **polyprotéine** de près de 4000 acides aminés (Vantsis et al., 1990 ; Jeffrey et Wells, 1989). Celle-ci après clivage donne **4 protéines structurales** (extrémité N terminale) et **8 protéines non structurales** (extrémité C terminale) et est flanquée de régions non transcrites (Jeffrey et al., 1990).

Figure 2 : Génome des Pestivirus (Flamant, 2006)

5'UTR <small>nouvelle nomenclature</small>	Npro	C	E0	E1	E2	p7	NS2	NS3	NS4a	NS4b	NS5a	NS5b	3'UTR
							NS2/3						
ancienne nomenclature	P20	P14	Gp 48	Gp25	Gp53	P7	P54	P80	P10	P32	P58	P75	
							P125						
Non codant	Protéine non structurale	Capside	Enveloppe			Protéines non structurales						Non codant	
		Protéines structurales											

1.3.2. Protéines

L'expression des gènes se traduit par la synthèse d'une polyprotéine. Celle-ci sera ensuite **clivée** par des enzymes virales et cellulaires permettant ainsi la production des **protéines virales matures**.

La première protéine de la phase de lecture est la protéine **Npro** (ou p20). C'est une **autoprotéase**, son activité consiste à cliver le premier site. Elle est spécifique du genre *Pestivirus* et ne se retrouve pas chez les autres flavivirus.

Les quatre protéines suivantes de la phase de lecture sont des protéines structurales. Des enzymes cellulaires permettent leur production par clivage des sites 2, 3, 4 et 5. Ces protéines sont la **protéine C** (ou p14) qui est la **protéine de capsid** et trois **glycoprotéines d'enveloppe** : **E0** (ou gp 48), **E1** (ou gp 25) et **E2** (ou gp 53).

La protéine C est une protéine de la nucléocapsid qui se lie à l'ARN et est impliquée dans la constitution du core (Rumenapf et al., 1993). Les glycoprotéines d'enveloppe E0, E1 et E2 participent à la composition de l'enveloppe des virions.

La protéine **E0** possède une **action ribonucléasique** avec une spécificité pour les résidus uridines mais son rôle dans la réplication est inconnu.

La protéine **E2** est une glycoprotéine transmembranaire de 53 kDa constituée d'un ectodomaine N-terminal et d'une ancre membranaire C-terminal. Elle est présente à la surface des virions matures (Weiland et al., 1999) où elle forme des homodimères ou des hétérodimères avec la glycoprotéine E1 (Lazar et al., 2003). Elle est à l'origine de la **variabilité antigénique** des pestivirus.

Plusieurs observations suggèrent que E2 pourrait être impliquée dans **l'attachement et la pénétration du BVDV** dans la cellule hôte:

- C'est une protéine immunodominante qui induit une forte réponse en anticorps neutralisants lors d'infection naturelle ou suite à l'utilisation de vaccins (Pante et al., 2005).
- La réduction des ponts disulfures au sein des homodimères E2-E2 et des hétérodimères E1-E2 semble nécessaire à la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane des endosomes de la cellule infectée (Krey et al., 2005).
- L'incubation de cellules avec de la protéine E2 recombinante avant et pendant une épreuve infectieuse avec une souche cytopathogène (CP) de BVDV semble inhiber la pénétration des virions (Pante et al., 2005).

Cependant, jusqu'à présent aucune interaction entre la glycoprotéine E2 et un récepteur cellulaire n'a clairement été démontrée.

En outre E2 semble jouer un rôle primordial dans le phénomène d'inhibition de la surinfection (Lee et al., 2005). En effet :

- Si on transfecte une cellule avec le génome complet de la souche non cytopathogène (NCP), la surinfection avec une souche homologue est impossible.
- Si on transfecte une cellule avec le génome de la souche NCP délété pour E2, la surinfection avec une souche homologue devient possible.

Le gène codant pour la protéine **p7** forme la jonction entre les gènes structuraux et non structuraux.

La proximité spatiale d'E2 et p7 dans la polyprotéine ainsi que la formation d'une protéine fusionnée E2p7 suggère que la p7 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** (ou p125). Elle se compose de 2 protéines la NS2 (ou p54) et la NS3 (ou p80). Son clivage est réalisé uniquement dans les biotypes cytopathogènes.

La **NS3** possède des séquences d'acides aminés caractéristiques de trois activités enzymatiques :

- une **ARN hélicase** qui est une enzyme impliquée dans le désenroulement de l'ARN durant la réplication du génome viral par une ARN polymérase ARN dépendante (Warrener et al., 1995).
- une **sérine protéase** qui est responsable du clivage des sites 6, 7, 8, 9 et 10 permettant ainsi la production des protéines non structurales (Millet, 1999).
- une **nucléoside triphosphatase** (NTPase)

Ainsi, l'activité sérine protéase de la NS3 permet la production des protéines non structurales: **NS4a** (p10), **NS4b** (p32), **NS5a** (p58) et **NS5b** (p75).

La **NS5b** (p75) est une ARN polymérase ARN dépendante nécessaire à la **réplication de l'ARN viral**.

1.4. Phénotype

1.4.1. Biotypes

1.4.1.1. BVDV

Il existe **deux biotypes** du virus BVD qui correspondent à l'effet du virus sur des cultures cellulaires ou sur des lignées cellulaires de différentes natures. Sur ces cellules le virus provoque soit un effet cytopathogène on parle alors de **biotype cytopathogène (CP)** soit un effet non cytopathogène dans ce cas on parle de **biotype non cytopathogène (NCP)**.

Le caractère de cytopathogénicité est lié à l'**hydrolyse de la protéine NS2-3** en deux sous fractions protéiques NS2 et NS3. Le clivage de la protéine NS2-3 est lié à une multitude de phénomènes génétiques comme des recombinaisons, duplications, réarrangements et délétions. Le **biotype NCP** est caractérisé par l'**absence de clivage** de la protéine NS2-3.

Ce caractère de cytopathogénicité est strictement **in vitro** et est à différencier du caractère de pathogénicité

Plusieurs caractéristiques permettent de différencier les biotypes cytopathogènes et non-cytopathogènes :

- au niveau de la **transmission virale** : La transmission du virus CP peut se faire de façon horizontale mais plus difficilement que pour le virus NCP et aucune démonstration de transmission verticale n'a été faite pour ce biotype. Le virus NCP quant à lui se transmet facilement de façon horizontale et verticale. Ainsi le biotype **NCP** est le **biotype circulant** alors que le biotype **CP** n'est que **sporadique**.
- Au niveau de la **cinétique des anticorps** : Pour le biotype **CP**, lors d'inoculations expérimentales, les titres en anticorps sont **faibles et tardifs**. En revanche pour le biotype **NCP**, après inoculation expérimentale, la **cinétique** des anticorps est **classique** avec apparition des anticorps au bout de quelques jours et atteinte d'un plateau en 3 semaines.

- Au niveau de la **clinique** : Les signes sont **minimes** lors d'infections par le biotype **CP** et **très variables** (minimes à très graves) s'il s'agit du biotype **NCP**.
- Au niveau de la **distribution cellulaire** : La distribution cellulaire du biotype **CP** est **réduite** à l'inverse celle du biotype **NCP** qui est beaucoup plus **large**.

Lorsqu'un animal est infecté par une souche NCP, des évènements génétiques vont se produire et transformer une partie de la population virale NCP en virus CP. Ainsi dans la nature **la survenue du biotype CP n'est pas exogène** mais provient de la population de virus déjà présente chez l'animal. La maladie des muqueuses au sens stricte est donc due à une paire de virus CP et NCP. Le biotype **NCP** est le biotype qui **circule**, infecte l'animal et est à l'origine des signes cliniques. Le biotype **CP** semble quant à lui être **une impasse**.

1.4.1.2. BDV

Le virus de la border disease se présente également sous **deux biotypes** différents : un biotype cytopathogène et un biotype non cytopathogène. Le succès de ce pestivirus réside dans le fait que le biotype **non cytopathogène** peut traverser le placenta et établir une infection persistante dans le fœtus en développement. Ce biotype peut être défini comme le biotype « **normal** », alors que le biotype **cytopathogène** est considéré comme le biotype « **anormal** » qui est en général isolé uniquement sur les animaux infectés permanents (Nettleton et al., 1995).

1.4.1.3. CSFV

Il existe également **deux biotypes de CSFV** : un cytopathogène l'autre non cytopathogène.

Par exemple, la souche WB82 du CSFV isolée chez des sangliers en 1982 au Japon se présente sous ses deux biotypes, le biotype non cytopathogène étant le biotype prédominant. Le biotype cytopathogène induit des effets cytopathogènes sur des cultures cellulaires de différentes natures toutes d'origine porcine (Aoki et al, 2001).

1.4.2. Sérotypes

Les sérotypes sont déterminés suivant la réactivité des antigènes aux anticorps. Comme pour les biotypes, les pestivirus, pareillement à tous les virus à ARN, présentent une **fluctuation importante de leur génome** et donc des modifications plus ou moins minimales au niveau des composants externes ou internes du virus, c'est-à-dire au niveau des antigènes. Ainsi donc un anticorps adapté à un sérotype reconnaîtra plus ou moins un autre sérotype.

1.4.3. Pathotypes

On constate que dans la plupart des cas, l'infection par le BVD (naturelle ou expérimentale) est de **gravité sub-clinique** s'il n'y a pas de facteurs associés.

Cependant dans certains cas, dans des conditions naturelles, on observe des **formes sévères** avec des taux de mortalité très élevés et des **expressions cliniques** extrêmement **diverses** (avortements, diarrhées, ulcères...). Cela a par exemple été observé au Canada en 1993 avec des taux de mortalité s'élevant à 25% sur les animaux touchés. Dans d'autres cas le tableau clinique est **plus spécifique** avec un **syndrome hémorragique** lié à des thrombocytopenies sévères.

Les premiers virus isolés lors des formes sévères sont génétiquement éloignés des virus BVDV classiques, isolés jusqu'alors. Ils ont été classés dans un autre groupe de pestivirus nommée BVDV type 2. Par la suite il s'est avéré qu'il n'y avait **pas de corrélation parfaite entre le génotype viral et la pathogénicité**. Ainsi il existe des **génotypes 2** peu pathogènes et des **génotypes 1** très pathogènes (isolés sur des formes cliniques hémorragiques).

Concernant le virus de la **border disease**, l'expression de la maladie est variable en fonction de la souche virale en cause.

Par exemple, la **souche BP77** induit une baisse de fertilité, des lésions placentaires nettes, des tremblements et une toison hirsute chez le nouveau-né. En revanche, la **souche H77** provoque elle un fort taux d'avortements, des lésions d'hydranencéphalie, d'hypoplasie cérébelleuse et d'arthrogrypose chez le nouveau né (Vantsis et al., 1990).

1.5. Propriétés biologiques

1.5.1. Spectre d'hôte

Le **BVDV** infecte principalement les **bovins**, le **BDV** les **petits ruminants** (ovins et caprins) et le **CSFV** les **porcins**. Mais les pestivirus présentent une **affinité très relative** pour leur **hôte**. En effet, ils peuvent passer facilement la barrière d'espèces. Ainsi, des signes cliniques ont pu être induits par le BVDV sur des ovins (Ward, 1971).

Par ailleurs des pestivirus ont été mis en évidence chez de nombreuses espèces sauvages, telle que le cerf, le buffle, la girafe, le sanglier (Zaghawa, 1998 ; Nettleton, 1990), ou encore l'isard (Frolich et al., 2005).

1.5.2. Tropisme cellulaire

Les pestivirus après une **phase de virémie** se localisent préférentiellement dans l'**encéphale** (Jeffrey et al., 1989), le **foie**, la **rate** et les **poumons** (Jeffrey et al., 1990 ; Loken, 1990 ; Loken et al., 1991).

Le **tropisme cellulaire** des pestivirus est **marqué** pour les **cellules réticulo-endothéliales** et notamment des cellules **lymphocytaires** et **monocytaires** mais aussi pour les cellules **endothéliales** et les cellules **épithéliales kératinisées**. Les antigènes viraux sont donc recherchés préférentiellement au niveau des organes lymphoïdes.

1.5.3. Variabilité antigénique

Les pestivirus subissent de nombreuses mutations ce qui explique leur **forte variabilité antigénique**. Toutefois certaines parties du génome viral ne supportent pas les mutations, c'est pourquoi, on retrouve des **séquences génétiques** particulièrement **stables** comme les séquences **5'UTR** et **E2**. Ainsi pour détecter des pestivirus, on s'attachera à la recherche d'anticorps induits par les protéines issues de ces séquences (Hamers et al., 2001).

1.5.4. Immunogénicité

Suite à une infection par un pestivirus, différents anticorps sont synthétisés :

- des **anticorps séroneutralisants**, ce sont les plus précoces. Ils apparaissent dans les deux premières semaines suivant l'infection et atteignent un plateau vers la dixième semaine. Chez la chèvre, ces anticorps apparaissent le plus souvent vers le 21^{ème} jour et peuvent persister jusqu'à 3 ans (Loken et al., 1991).
- des **anticorps fixant le complément**, ils sont présents 15 à 30 jours après l'inoculation, atteignent un plateau entre le 40^{ème} et le 80^{ème} jours, et persistent au moins 3 mois.
- des **anticorps précipitants** plus tardifs, ils apparaissent 30 à 40 jours après l'inoculation. Leur persistance est quant à elle comparable à celle des autres anticorps.

Par ailleurs, on peut noter que le sérum ovin anti-border disease contient des anticorps anti-BVD/MD précipitants, séroneutralisants et fixant le complément, et des anticorps anti-CSFV séroneutralisants (Huck et al., 1975).

De même, il existe une protection croisée entre les différentes souches virales d'un même groupe de pestivirus, mais elle dépend de la parenté antigénique des souches en question (Vantis et al., 1980).

L'immunité croisée entre le BDV et le BVD, a été démontrée par BARLOW et al. en 1980 qui constatent que 50% des brebis inoculées avec la souche NADL du virus BVD/MD sont protégées l'année suivante si elles sont confrontées à une souche du type BP77 du virus de la border disease (Barlow et al., 1980).

Concernant le pouvoir immunogène des pestivirus, SHAW, en 1969 le met en évidence pour le BDV. En inoculant la border disease à des brebis un mois avant l'accouplement, il constate qu'elles sont moins sensibles à une seconde inoculation 20 jours après l'accouplement que des brebis du lot témoin inoculées une seule fois après la saillie. (Shaw et al., 1969).

1.5.5. Pathogénèse et pouvoir pathogène

Après **pénétration** du virus par **voie conjonctivale** celui-ci se multiplie au niveau **respiratoire** et **lymphoïde**. Cette phase est suivie d'une **virémie** lors de laquelle le virus peut être pris en charge par les cellules mononuclées et envahir l'organisme sous forme lié mais il peut également être présent sous forme libre. La virémie n'est donc pas exclusivement

associée aux cellules. La durée de cette phase est de **quelques jours** puis l'agent infectieux se localise préférentiellement dans l'**encéphale**, le **foie**, la **rate** et les **poumons**.

Les **réponses cliniques** dépendront :

- de l'**hôte** : de son **immunocompétence** vis-à-vis du virus, de son **âge** et du **stade de gestation** au moment de l'infection lors d'infection durant la gestation.
- de la **souche virale** en cause.

1.6. Propriété physico-chimique

Les pestivirus sont des virus fragiles sensibles à la chaleur. Ils sont inactivés par une température de 60°C maintenue pendant 90 mn, mais peuvent être virulents après 6 jours à 4°C (Roeder et al., 1980 ; Vantsis et al., 1976).

Par ailleurs, ils sont très sensibles aux solvants organiques, et aux UV du fait de la structure lipidique de leur enveloppe (Gardiner et al., 1972).

II. LA DIARRHÉE VIRALE BOVINE

Avant d'aborder les infections de la faune sauvage par les *Pestivirus* et afin de mieux les comprendre nous allons présenter dans ce chapitre la diarrhée virale bovine (BVD). Cette maladie résulte de l'infection de bovin par le BVDV. Nous allons dans un premier temps aborder l'épidémiologie et la transmission du BVDV puis les aspects cliniques de la maladie et enfin les méthodes diagnostiques de laboratoire utilisées pour confirmer une suspicion clinique de BVD.

2.1. Epidémiologie et transmission du BVDV (Ridpath et al., 1994)

2.1.1. Sources de BVDV

Les sources de BVDV sont principalement les **animaux infectés** notamment les **infectés permanents immunotolérants** (IPI) délivrant du virus de façon continue lors de leur courte vie, entretenant et propageant ainsi l'infection. Cependant, lors de **primo-infections** transitoires, les animaux libèrent également du virus en faible quantité durant la phase relativement courte de virémie (celle-ci se produit entre le quatrième et le dixième jour post infection).

Par ailleurs, les ovins peuvent être un réservoir de BVDV et il a été vérifié que des porcins, des caprins et d'autres ongulés réceptifs aux pestivirus sont également des réservoirs potentiels de pestivirus.

Les **sécrétions** et **excrétions** sont virulentes (jetage, sperme, sang, lait, larmes, salive, urine, fèces). Le virus est présent en **grande quantité** dans les **avortons**, le **placenta** et les **liquides utérins**.

2.1.2. Transmission horizontale

L'infection se fait par **contact direct**, par **contamination aérienne**, par les **insectes piqueurs** ou par du **matériel d'injection** contaminé.

La pénétration du virus se fait par **voie conjonctivale, oro-nasale** ou **génitale**.

2.1.3. Transmission verticale

Lors d'infection durant la gestation, les pestivirus peuvent traverser le placenta et infecter le fœtus. Les **conséquences cliniques** de l'infection de la femelle gravide dépendent du **stade de gestation** :

- **Dans les 40 premiers jours de gestation** : on observe des retours en chaleur, de placentites, des mortalités fœtales, ou des momifications du fœtus.
- **Entre 40 et 120 jours de gestation** : on observera la naissance de veaux infectés permanents immunotolérants (IPI) qui sont cliniquement sains mais porteurs asymptomatiques de virus.
- **Au-delà de 150 jours de gestation** : la réponse immunitaire spécifique du fœtus apparaît et les veaux naissant sont en parfaite santé.

2.2. Aspects cliniques (Schelcher, 2006 ; Radostis, 2000)

On distingue deux types d'infections : **permanentes** (qui concernent les animaux IPI) et **transitoire**.

2.2.1. Infections transitoires

L'**incubation** dure **quelques jours** et correspond à la multiplication du virus dans les tissus puis à son passage par voie sanguine. En général, l'infection est **subclinique**. Cependant **différents troubles** peuvent être observés :

2.2.1.1 Troubles de la reproduction

- Réduction de la fertilité et repeat breeding

C'est la première conséquence majeure, elle affecte la fonction ovarienne. Cela se traduit par une **réduction de la fertilité** associée à une diminution du taux de réussite en première insémination ou par une **infécondité à chaleur régulière** (repeat breeding).

La réduction de la fertilité est liée à une réduction de la qualité de l'oocyte, une diminution de l'oestradiol plasmatique, une diminution du pic de LH, et des lésions d'ovaire intersticielle.

Le repeat breeding provient du fait que l'infection induit un trouble de la fertilité pendant environ 60 jours soit 3 IA. Par contre dans le cas où des lésions d'ovaires interstitielles sont induites les perturbations sont plus longues.

- Cas d'une contamination vénérienne

La contamination par du sperme infecté peut diminuer la fécondité. En effet la fertilité du mâle infecté sera diminuée, mais cela n'est pas systématique. Par contre l'infection de la femelle va entraîner une altération de sa fertilité.

- Avortements

La fréquence des avortements dus au BVDV est élevée et ils peuvent avoir lieu à tout stade de la gestation.

2.2.1.2 Troubles digestifs

Une infection transitoire par le BVDV chez le **nouveau né** peut provoquer une **entérite diarrhéique**. Le tableau clinique est en général grave, caractérisé par une létalité élevée. Cependant il peut arriver que les troubles diarrhéiques soient sans gravité. Chez l'**adulte**, le BVDV est l'un des agents infectieux mis en cause lors de **diarrhées épidémiques** ou gripes intestinales.

2.2.1.3 Autres troubles

- Syndrome hémorragique

Il se traduit par des **hémorragies multiples** : épistaxis, larges plaques hémorragiques sur les séreuses intestinales, cardiaques, thoraciques et respiratoires. On observe également une **thrombocytopénie**.

- Troubles respiratoires

Il n'y a **pas de signe spécifique**. Ces troubles ne découlent pas d'un effet directement pneumopathogène du virus, mais probablement d'un effet indirect lié à une diminution des mécanismes de défense de l'organisme favorisant la co-infection.

2.2.2. Infection permanente

2.2.2.1. Cas des IPI

Chez les infectés permanents immunotolérants la **clinique** est **très variable**. On peut observer :

- une **absence de manifestation clinique** : certaines vaches IPI ont des gestations normales et donnent parfois naissance à des veaux IPI, sans qu'il n'y ait de manifestation clinique.
- des **retards de croissance**
- des **affections diverses** : cutanées (teigne), pulmonaires...

Cependant dans tous les cas il y aura une **diminution de l'espérance de vie** par rapport aux autres individus d'une même cohorte.

2.2.2.2. La maladie des muqueuses au sens strict

En cas de maladie des muqueuses, **deux tableaux cliniques** peuvent être observés : **aiguë** ou **chronique** selon la durée de l'évolution.

- Aiguë : durée d'évolution de l'ordre de quelques jours

Circonstances d'apparition

L'âge des animaux concernés par une infection aiguë varie entre **3 mois et 3 ans**. Les cas évoluent généralement de façon **sporadique**.

Symptômes

Ils sont relativement **caractéristiques**. L'animal présente du **ptyalisme**, de la **diarrhée**, du **ténesme** et un **trépignement**. Une **hyperthermie** peut également être présente en début d'évolution.

Au niveau lésionnel, une **stomatite ulcéreuse** et des **ulcères** dans les **espaces interdigités** peuvent être observés.

Evolution

La durée d'évolution est de **8 à 10 jours** environ et se termine quasi invariablement par la **mort**.

Lésions

L'animal présente des **ulcères fusiformes en coup d'ongles** dans la **cavité buccale**, dans les **espaces inter digités** et sur l'**appareil digestif**. La caillette peut présenter des **exulcérations hémorragiques** et on peut observer une **iléotyphlocolie**.

Figure 3 : Ulçères sur la langue d'une génisse charolaise de deux ans atteinte de BVD. (A. Vallet et al., 1994)



- Chronique : durée d'évolution de l'ordre de quelques semaines à quelques mois

Circonstances d'apparition

Se sont les même que pour l'infection aiguë.

Symptômes

Les symptômes sont **moins spécifiques**. On aura un **amaigrissement**, un **retard de croissance**, une phase de **diarrhée intermittente** et parfois **quelques ulcères**. L'intensité et le mode d'évolution sont donc très différents de l'infection aiguë.

- Anomalies congénitales

Quand l'infection a lieu en **milieu de gestation**, elle peut provoquer **des anomalies de développement** du système nerveux central, de l'œil et de la peau. Selon le moment de l'infection, il pourra y avoir des anomalies de développement mais avec des **statuts virémiques différents** (transitoires ou permanents).

2.3. Méthodes diagnostiques (Schelcher et al.2006 ; OIE, manual of standards diagnostic tests and vaccines 2000)

Les méthodes diagnostiques de laboratoire sont utilisées pour confirmer une suspicion clinique. Le diagnostic se fait selon deux approches différentes :

- la détection du virus
- la mise en évidence d'une réponse immunitaire

2.3.1. Généralités

2.3.1.1 Propriétés d'un test

- Valeurs intrinsèques

La **sensibilité** : c'est la probabilité d'avoir un test positif quand l'animal est atteint (malade et/ou infecté).

La **spécificité** : c'est la probabilité d'avoir un test négatif quand l'animal est indemne.

C'est deux valeurs sont indépendantes de la prévalence de la maladie. Elles varient en fonction du test, de l'agent pathogène et de la cible de la réponse sérologique.

- Valeurs extrinsèques

La **valeur prédictive négative** (VPN) : c'est la probabilité d'avoir un animal sain lorsque le résultat du test est négatif.

La **valeur prédictive positive** (VPP) : c'est la probabilité d'avoir un animal atteint (malade et/ou infecté) lorsque le résultat du test est positif.

Ces valeurs dépendent de la prévalence de la maladie.

2.3.1.2 Tests de référence

Les tests de références sont ceux reconnus par l'**OIE** (organisation mondiale de la santé animale) comme étant les plus fiables. Les autres tests sont comparés au test de référence.

Concernant le BVD, les tests de référence sont l'**isolement viral** et le **titrage des anticorps par neutralisation virale**. Ces deux tests se réalisent sur **culture cellulaire**.

Ces méthodes de références ayant de nombreuses limites (voir suite) des méthodes alternatives comme l'ELISA les ont supplantées.

2.3.2. Méthode de détection des anticorps

Actuellement, la mise en évidence des anticorps est réalisée quasi exclusivement par des méthodes immunoenzymatiques. Historiquement les méthodes utilisées pour réaliser la détection des anticorps étaient des méthodes de séroneutralisation.

2.3.2.1 Séroneutralisation

C'est une méthode **quantitative** qui permet de déterminer le titre du sérum en anticorps anti-BVDV. Le principe est de mettre en évidence les éventuels **anticorps neutralisants** présents dans le sérum. Pour cela des quantités constantes de **virus d'épreuve** sont mises en contact avec des **dilutions en série du sérum** à tester puis inoculées à **une culture cellulaire** sur microplaques et incubées 3 à 5 jours. Le virus d'épreuve est le plus souvent une souche cytopathogène. Donc l'absence d'effet cytopathogène traduit la présence d'anticorps dans le sérum testé.

Parfois les souches de virus d'épreuve utilisées sont des souches non cytopathogènes. La neutralisation virale est alors appréciée par l'absence de virus d'épreuve lors de détection par immunofluorescence par exemple.

Cependant les limites de cette méthode sont nombreuses :

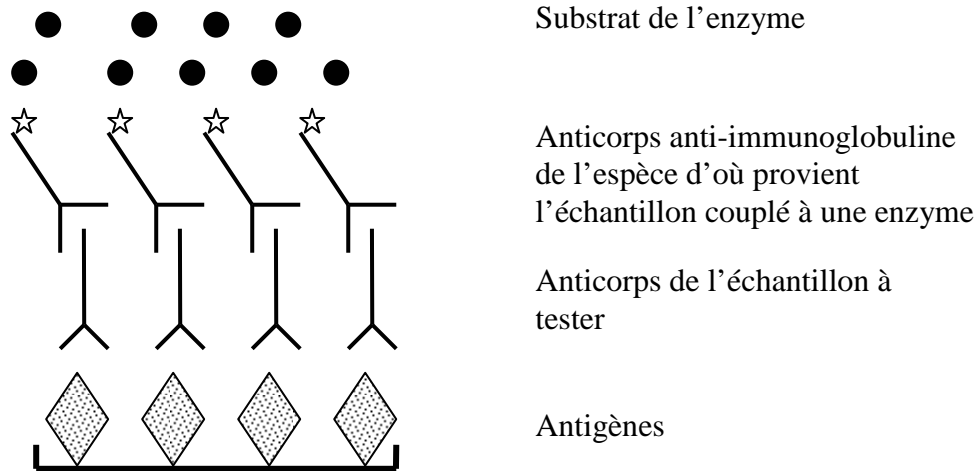
- le **délai** d'obtention des résultats qui est de 3 à 5 jours
- des **contraintes de laboratoire** très fortes notamment pour éviter la contamination des lignées cellulaires et des milieux de croissance par des pestivirus exogènes.
- sa **spécificité** à une souche de BVDV, or le virus du BVD a comme on l'a vu une grande diversité antigénique.

2.3.2.2 Techniques ELISA

- ELISA indirect

Les anticorps recherchés se fixent à l'**antigène immobilisé**, puis sont révélés par des **antiglobulines spécifiques d'espèce**, conjuguées à une enzyme qui agit sur un substrat chromogène. On obtient un signal lumineux (mesurée par sa densité optique) qui est proportionnel à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon.

Figure 4 : Schématisation de l'ELISA indirect

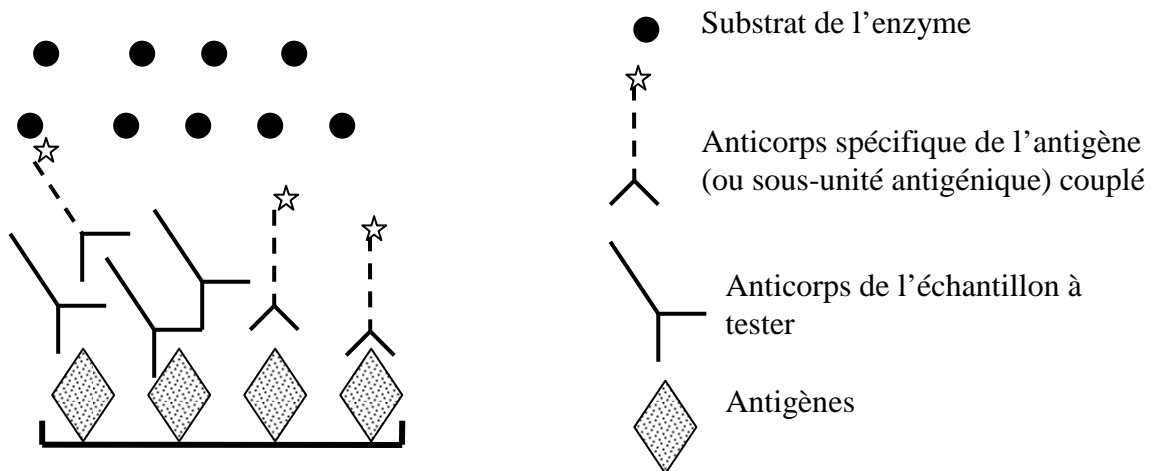


Meyers G., séminaires juin 2007, Toulouse

- ELISA de compétition

Les anticorps recherchés sont en **compétition** avec des anticorps conjugués à l'enzyme, pour la fixation à l'antigène. Il en résulte une densité optique inversement proportionnelle à la quantité d'anticorps présent dans l'échantillon.

Figure 5 : Schématisation de l'ELISA de compétition



Meyers G., séminaires juin 2007, Toulouse

Selon le type d'ELISA et l'antigène utilisé, les anticorps détectés sont des **anticorps dirigés contre la protéine NS2/3** ou contre l'**ensemble des protéines immunodominantes** du BVDV (**anticorps totaux**). Les protéines immunodominantes sont des glycoprotéines d'enveloppe (E0, E2, E1) et la protéine NS 2/3.

On peut noter que lors d'infection par le BVDV, aucun anticorps dirigés contre le segment NS2 de la protéine NS2/3, contre les protéines N_{pro}, NS_{5A} et NS_{5B} n'ont été mis en évidence.

Les avantages des techniques ELISA sont leur **sensibilité**, l'**automatisation** des techniques, la **rapidité** d'obtention des résultats et l'**absence de contrainte** de la culture cellulaire.

2.3.2.3 Autres techniques

La **fixation du complément**, l'**immunodiffusion en gélose** et l'**immunofluorescence directe** sont des techniques qui ont été abandonnées.

2.3.3. Méthodes de détection virale

La détection virale du BVDV était réalisée historiquement sur culture cellulaire. Actuellement les méthodes utilisées sont des méthodes immunoenzymatiques de détection des protéines virales et des méthodes d'amplification génique.

2.3.3.1 Isolement sur culture cellulaire

Le principe est d'**inoculer les échantillons à des cultures cellulaires**. L'identification du virus est basée sur des techniques **immunologiques** (immunofluorescence, immunoperoxydase). L'isolement est la **méthode de référence**. Elle permet de **distinguer les deux biotypes** de BVDV, le biotype cytopathogène et non cytopathogène.

De nombreuses cellules en culture sont permissives. Les cellules rénales ou testiculaires de fœtus bovin, les lignées cellulaires de cornets nasaux de bovin, la lignée MDBK sont les plus fréquemment utilisées.

Son principal avantage est que cette méthode est « **ouverte** » et permet la détection sous certaines conditions d'autres virus que le BVDV.

Cependant, l'isolement sur culture cellulaire est limité par :

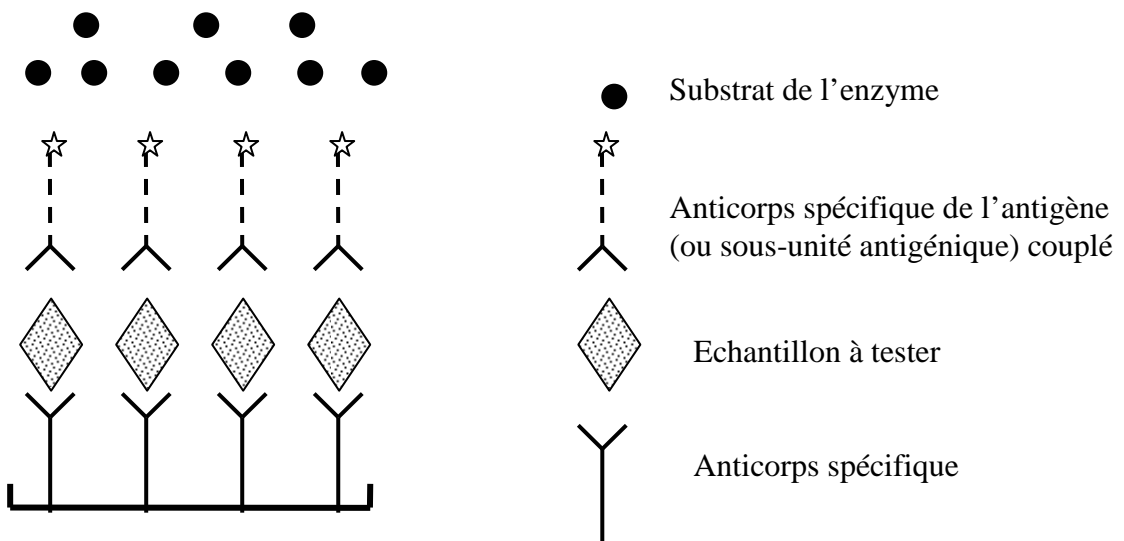
- le **délai** de réponse (la période d'incubation est de l'ordre de 4 à 6 jours).
- les **contraintes** très fortes pour éviter la contamination des cellules et des milieux de croissance par des pestivirus exogènes et pour éviter la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum de veau fœtal
- la fréquence des **effets toxiques non spécifiques**, des contaminations bactériennes et fongiques comme par exemple dans le jetage nasal.
- La qualité du prélèvement

2.3.3.2. Détection de protéines virales

- ELISA de capture

L'antigène contenu dans le sérum à tester se fixe sur un anticorps spécifique immobilisé. Un second anticorps couplé à une enzyme lui aussi spécifique vient se fixer à l'antigène. Ce dernier est alors pris en sandwich entre les deux anticorps. La révélation est assurée par l'enzyme qui agit sur un substrat chromogène. Il en résulte une densité optique proportionnelle à la quantité d'antigène présent dans l'échantillon.

Figure 6 : Schématisation de l'ELISA de capture



Les intérêts de cette technique sont une **rapidité** d'obtention de réponse, une indépendance des cultures cellulaires, une grande **souplesse** et une **simplicité** de mise en œuvre, et enfin un **coût réduit**.

- Immunohistochimie

La détection des antigènes viraux est réalisée à partir de **coupes de tissus**, soit après congélation par des techniques d'**immunofluorescence**, le plus souvent indirecte, soit après fixation, par des techniques d'**immunopéroxydase**.

- Cytométrie en flux

Cette technique permet de détecter les antigènes viraux à partir de **leucocytes sanguins**. Cette méthode s'est avérée plus sensible que l'isolement viral sur des bovins IPI. Mais le coût d'un cytomètre en flux explique qu'elle soit limitée aux laboratoires de recherches.

2.3.3.3. Détection de l'ARN viral

La méthode de **RT-PCR** consiste à **amplifier** le génome viral par **réaction de polymérisation en chaîne** suivie d'une **révélation** du produit de cette amplification.

Les RT-PCR développées se distinguent les unes des autres selon le segment de l'ARN viral amplifié ou selon le mode d'amplification. En effet le mode d'amplification peut être **simple**, il n'y a alors qu'**un seul couple d'amorce**, ou **emboîté** (PCR nichée), **deux couples d'amorces** sont alors utilisés. La PCR nichée est plus sensible et spécifique que la PCR simple.

Enfin, il existe une variante, c'est la PCR Taqman®, ou **PCR en temps réel**. Dans cette technique l'identification des produits de l'amplification est réalisée au cours même de la phase d'amplification (dit ainsi en temps réel).

La RT-PCR est **insensible aux substances toxiques** et à la présence d'**anticorps interférents** mais **très sensible à la contamination** d'échantillons qui peut entraîner de faux positifs.

Ce test est capable de détecter de **petites quantités d'acide nucléique viral** que ce soit d'échantillons de sang ou de tissus incluant la présentation de matériel. La RT-PCR est beaucoup plus **sensible** que toutes les autres techniques diagnostiques.

En revanche, le **coût** du test et l'équipement sont des contraintes non négligeables.

III. INFECTION DE LA FAUNE SAUVAGE PAR LES PESTIVIRUS

3.1. Infections naturelles des animaux sauvages

3.1.1 Etudes sérologiques et antigéniques

Les pestivirus infectent un grand nombre d'espèces **domestiques, captives** et **sauvages** de ruminants. De nombreuses études sérologiques ont montré que beaucoup d'espèces de ruminants sauvages en Amérique du nord, Europe et Afrique possèdent des anticorps anti-pestivirus, avec des prévalences variables (Nettleton, 1990).

3.1.1.1. CSFV

Concernant le virus du CSFV, des études sérologiques réalisées dans de nombreux pays d'**Europe** ont révélé la présence d'anticorps dirigés contre ce virus chez des **sangliers sauvages**.

- La population de sanglier en Europe (Laddomada, 2000)

En 2000, la population de sangliers dans les 15 pays membres de l'union européenne était d'approximativement **800 000 à 1 million** de têtes avec une **densité très variable** d'une région à l'autre et d'un pays à l'autre. Ce nombre a augmenté ces dernières années et des sangliers ont été observés dans de nombreuses régions où ils étaient absents auparavant. L'augmentation de cette population en Europe peut s'expliquer par des **introductions délibérées** pour la chasse, par la diminution voire la **disparition de ses prédateurs**, par une **meilleure fertilité** des sangliers à mettre en relation avec une augmentation de nourriture disponible, et enfin par une **bonne adaptation** de ces animaux à un changement de biotope.

Toutes les études sérologiques réalisées montrent que les **sangliers** sont au même titre que les porcs domestiques **réceptifs au CSFV**.

- Prévalence du CSFV chez les sangliers en Europe

Des études sérologiques et antigéniques menées **entre 1989 et 1998** dans divers pays d'Europe ont mis en évidence des populations de sangliers infectés par le CSFV en **Allemagne, Italie, Autriche, France, Russie, République tchèque et Slovaquie** (Laddomada, 2000).

Ces études ont montré que dans certaines régions le CSFV a sévi chez les sangliers durant une **courte période** (quelques mois ou années), puis la maladie a progressivement disparu. Mais dans d'autres régions, la maladie a tendance à **persister plus longtemps** (Laddomada, 2000).

Situation en Allemagne

En Allemagne le virus du CSFV a été enregistré chez des sangliers **entre 1989 et 1998** dans la région de **Hessen** (Rheinau-Taunus Kreis), dans la région de **Rheinland-Pfalz** (Rhein-Lahn kreis et Kreis Pirmassens) voisine de la région d'Hessen, dans la **Basse Saxe** (Kreis Lüneburg, Harburg et Uelzen), dans la région de **Mecklenburg-Vorpommern** (Kreis Ribnitz-Damgarten), et dans la région de **Brandenburg** (Kreis Prignitz), (Laddomada, 2000).

La région de Mecklenburg-western Pomerania (**MWP**) dans laquelle des sangliers séropositifs vis-à-vis du CSFV ont été enregistrés, est une région où s'entremêle culture et dense aire forestière. Ces forêts représentent un habitat idéal pour les sangliers. Ainsi, des sangliers séropositifs ont été détectés en **1993** dans la partie **nord** de cette région (Kreis Nordvorpommern). Les années suivantes, la maladie s'est **propagée** vers le **sud**, l'**est** et l'**ouest**. Les barrières naturelles ou créées par l'homme comme les lacs, les rivières, les chenaux ou encore les routes n'ont pas stoppé la dissémination du virus. Ainsi, entre les années 1995 et 2000, on a trouvé des sangliers infectés par le CSFV dans un rayon de 23 500 km² dans cette région. Mais après un **pic d'épidémie en 1994**, l'**incidence** de la maladie a considérablement **chuté**. Cependant en **2000**, on enregistrait encore du CSFV chez les sangliers dans la **partie centre-nord du MWP** (Laddomada, 2000).

Situation en France

En France on a enregistré le CSFV chez des sangliers sauvages dans le **nord des Vosges** (Bas-Rhin et Moselle) en **1993**. Cette région montagneuse et forestière est frontalière avec l'Allemagne et est voisine du district de Rheinland-Pfalz (région antérieurement infectée).

Dans cette région est de la France la maladie persiste de façon **enzootique** chez les sangliers sur un rayon de 400 km² entouré par une large aire de 2700 km² dans laquelle la maladie n'apparaît que de manière sporadique. Les tests sérologiques et virologiques effectués montrent que dans cette région la maladie sévit chez les sangliers selon un schéma oscillant. En effet, on observe des pics d'épidémie tous les deux ans, mais l'ampleur de ces pics a tendance à diminuer d'année en année (Ladomada, 2000).

Dans ce contexte, une étude sérologique a été réalisée **entre 1991 et 1998** en France dans le but d'évaluer le statut des sangliers vis-à-vis du CSFV, en dehors de cette zone infectée. 1000 à 2700 sérums ont été testés par an, soit un total sur toute la période de **12 025 sérums**. Les sérums ont été récoltés soit par les chasseurs sur des sangliers tués lors de la saison de chasse soit par des vétérinaires dans les fermes de sangliers. Le nombre de départements testés a varié entre 20 et 58 le long de l'étude, ce qui a donné sur toute la période, une moyenne de **36 départements** testés (soit un tiers des départements français).

La distribution de la population de sangliers n'a pas varié tout au long de l'étude, par contre le nombre de sangliers a augmenté d'année en année, on enregistre 300 000 sangliers en France en 1991, 400 000 en 1993, 475 000 en 1995 et 640 000 en 1997 (Albina et al., 2000).

La technique sérologique utilisée dans cette étude est un ELISA de compétition. L'antigène utilisé dans ce test est un antigène préparé à partir de cultures cellulaires infectées avec la souche Alfort du CSFV. Etant donné les réactions croisées avec d'autres pestivirus, les sérums positifs ont été testés de nouveau avec un ELISA de blocage utilisant cette fois-ci un antigène préparé à partir de cultures cellulaires infectées par la border disease.

Sur les 12 025 sérums testés, **80** se sont avérés **positifs** vis-à-vis du CSFV :

- **66** en provenance de la région infectée à l'**est** de la France, récoltés entre 1992 et 1994.
- **10** en provenance de **Corse**, récoltés entre 1994 et 1996.
- Les **quatre** derniers sérums se sont avérés par la suite être de **faux positifs**.

Les 76 sérums vrais positifs proviennent tous de sangliers issus de la **chasse**, aucun ne provient de ferme (Albina et al., 2000).

Situation en Italie

En Italie le virus a été enregistré chez des sangliers en **Toscane** (dans les provinces de Grosseto, Siena, Livorno, Pisa et dans la province de Massa-Carrara), il a également été enregistré en **Sardaigne** et en **Lombardie** (dans la province de Varese) (Ladomada, 2000).

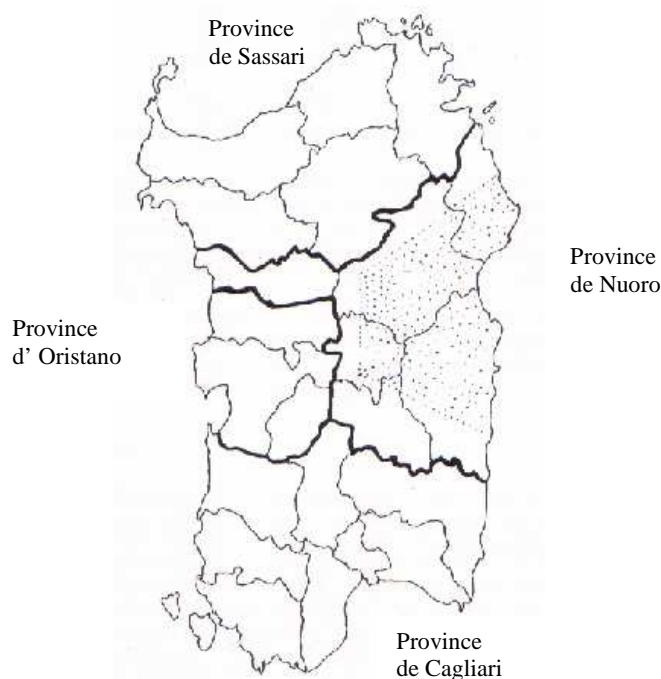
En **Sardaigne**, le CSFV est apparu en **1983**, au même moment qu'une grande épidémie se produisait dans les Pays-Bas, en Allemagne et dans la péninsule italienne. Ce virus a été enregistré chez les sangliers sur cette île de 24 000 km² dans deux aires distinctes, une de 3000 km² localisée dans la partie **est** de l'île (province de Nuoro) et l'autre plus petite de 1200 km² dans la partie **ouest**. Malgré la relativement grande densité de sangliers en Sardaigne, environ deux à trois têtes par km², et l'absence de barrières géographiques majeures, le CSFV semble se cantonner à ces deux aires infectées (Laddomada, 2000).

Les virus isolés dans ces deux aires sont **génétiquement différents**, ce qui suggère que leurs introductions ainsi que l'évolution de la maladie dans ces deux régions sont indépendantes.

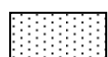
Dans la province de **Nuoro** cohabitent porcs domestiques et sangliers sauvages. C'est une région où la maladie sévit de façon **endémique** chez les porcs comme chez les sangliers. Dans cette province, 4 sangliers morts infectés par le CSFV ont été retrouvés entre 1984 et 1985, 10 entre 1986 et 1987, 5 entre 1988 et 1989 et 2 entre 1990 et 1991. Ainsi il semble y avoir eu un **pic d'épidémie** dans cette région entre **1986 et 1987** (Laddomada, 2000).

Dans ce contexte, une étude sérologique a été menée en Sardaigne entre **décembre 1988 et janvier 1992**. **4752 sérums** de sangliers ont été collectés dans différentes provinces de Sardaigne. La majorité des sérums provient de la province de Nuoro. Cependant 410 sérums ont été collectés dans les trois autres provinces de Sardaigne, et la majorité (330) a été collectée lors de la saison de chasse de 1991-1992 (Laddomada, 1994).

Figure 7 : Carte des régions de la Sardaigne



(Laddomada et al., 1994)



: Zone d'élevage de porc où la peste porcine classique sévit de manière endémique.

La méthode utilisée dans cette étude pour détecter des anticorps spécifiques du CSFV est un ELISA de compétition.

La **séroprévalence** de l'infection par le CSFV chez les sangliers sur la période de l'étude est en **moyenne de 11%**. Cependant on observe des **variations année après année**, ainsi sur la saison de chasse de 1988-1989 17,6% des sangliers testés se sont avérés positifs. A l'inverse durant la saison de chasse de 1990-1991 seuls 9,6% des sangliers étaient positifs. Cependant, après le pic de 1988-1989, la séroprévalence chez les sangliers les trois années qui ont suivi est restée stable à environ 9,8%, cela montre que l'infection s'est bien établie.

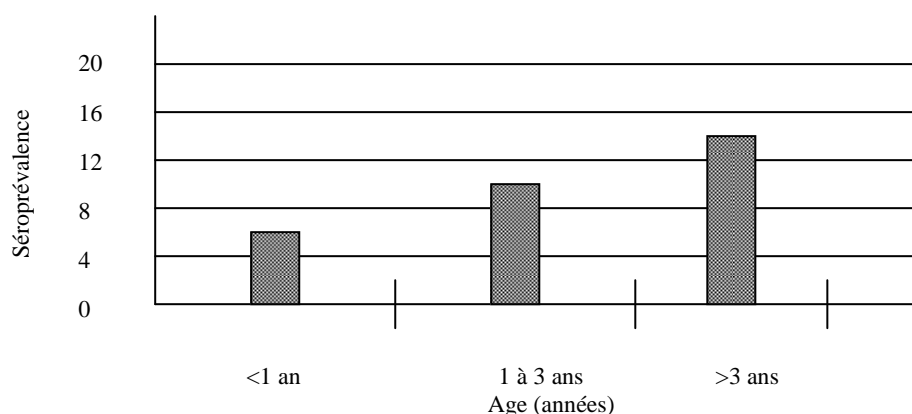
Figure 8 : Résultats de l'étude sérologique menée en Sardaigne, recherchant les anticorps dirigés contre le CSFV chez les sangliers sur la période de décembre 1988 à janvier 1992 (Laddomada et al., 1994).

Année	Nombre de sérums	Nombre de positifs	% de positifs
1988-1989	746	131	17,6
1989-1990	1343	132	9,8
1990-1991	1239	119	9,6
1991-1992	1424	141	9,9
1988-1992	4752	523	11

Sur les 1424 sérums collectés lors de la saison de chasse de 1991-1992, 330 proviennent des trois autres provinces de Sardaigne (Sassari, Oristano, Cagliari). Sur ces 330 sérums, 17 se sont avérés positifs, soit seulement 5,2%.

Si on compare les résultats obtenus avec l'âge supposé des sangliers, on remarque que le **pourcentage d'animaux séropositifs augmente avec l'âge**. Cela signifie que la probabilité d'infection par le CSFV est constante avec l'âge mais que les sangliers restent séropositifs tout au long de leur vie.

Figure 9 : Séroprévalence du CSFV chez les sangliers en Sardaigne en fonction de l'âge (Laddomada et al., 1994).



Par ailleurs aucune différence significative n'a été observée entre mâle et femelle lors de cette étude (Laddomaba et al., 1994).

Une autre étude menée en Italie en **1999** dans la **haute vallée de Susa** sur diverses espèces d'ongulés sauvages dont **56 sangliers**, a mis en évidence des anticorps dirigés contre les pestivirus sur 7 sangliers, soit **12,5% de séropositif** (Olde Riekering et al., 2005).

Situation dans les autres pays d'Europe

En **Autriche** le CSFV a été enregistré chez les sangliers dans les régions de Kornenburg, Mistelbach, Hollabrunn, Horn, Zweetl et dans le bas Autriche (Laddomada, 2000).

En **Suisse**, cette maladie a également été enregistrée chez des sangliers, elle se serait étendue à partir de la région infectée de Varese en Italie (Laddomada, 2000).

En **Croatie**, une **grande prévalence** de l'infection par le CSFV (39% de séropositifs) chez les sangliers a été enregistré en 2000 (Elbers et al., 2000).

Enfin, dans les **Pays-bas**, l'infection par le CSFV chez les sangliers est **rare** (Laddomada, 2000).

Les anticorps dirigés contre le CSFV n'ont pas été rapportés chez d'autres animaux sauvages (Laddomada, 2000).

3.1.1.2 BVD et BDV

Diverses études ont démontré la présence d'anticorps dirigés contre le BVDV chez de nombreuses espèces :

- chez les **cervidés** : cerfs, cerfs mullet (Couvillon et al., 1988), cerfs de virginie (Karstad, 1981), chevreuils (Baradel et al., 1988), élan (Hamblin et Hedger, 1979), daims (Karstad, 1981 ; Lawman et al., 1978 ; Giovannini et al, 1988) et caribous (Elazhary et al., 1979, 1981)
- chez les **camélidés** : alpaga (Rivera et al, 1987), lama (Puntel et al, 1999), guanaco et vigogne (Celedon et al., 2001)

- chez les **bovidés** : oryx algazelle (Frolich et Flach, 1998), pronghorn (Doyle et Heuschele, 1983) , chamois (Baradel et al., 1988), mouflon (Parks et England 1974 ; Turner et Payson, 1982) et bison (Hamblin et Hedger, 1979)
- chez les **girafidés** : girafe (Hamblin et Hedger, 1979 ; Karstad, 1981)

Des anticorps anti-BVDV ont aussi été trouvés chez beaucoup d'autres animaux sauvages majoritairement d'Afrique et d'Amérique (Depner et al., 1991 ; Doyle et Heuschele, 1983 ; Hamblin et Hedger ; 1979 et Motha et Tham, 1992).

La recherche d'anticorps dirigés contre les pestivirus et l'isolement de ce groupe de virus se sont intensifiés ces dernières années.

- Chez les cervidés

En Allemagne

En **1988**, une étude a été menée en RDA et RFA afin d'évaluer la séroprévalence du BVDV chez les cervidés. Dans le **sud** de la **RFA**, **6,6%** des **cerfs** et **5,9%** des **chevreuils** testés se sont avérés positifs. Par contre en **RDA** seul **0,6%** des cervidés testés étaient séropositifs (Dedek et al., 1988).

Dans ce contexte, une étude a été menée en Allemagne entre **1990** et **1992** afin d'évaluer la séroprévalence du BVDV chez les cervidés sauvages et vivant en captivité (Frolich, 1995).

355 sérums en provenance de diverses espèces de cervidés ont été récoltés entre novembre 1990 et octobre 1992. En tout, 123 chevreuils, 60 cerfs, 87 daims, et 85 autres espèces de cervidés ont été testés. Les sérums provenaient de **trois réserves de chasses**, une à Schleswig-Holstein , une dans la forêt de Berlin et la dernière en Bavière, de **neufs réserves naturelles** situées dans la région de Schleswig-Holstein et en Bavière et de **deux zoos de Berlin**.

Figure 10 : Distribution des sérums de cervidés récoltés entre 1990 et 1992 en fonction des différentes régions d'Allemagne (Frolich, 1995)

	Chevreaux	Daims	Cerfs	Autres cervidés
Schleswig-Holstein	56	32	6	–
Berlin	41	1	–	–
Bavaria	24	–	20	–
Réserves naturelles (9)	1	35	7	–
Zoos de Berlin (2)	1	19	27	85

Les cervidés dont l'âge estimé est inférieur à deux ans sont considérés dans cette étude comme jeunes, les autres sont considérés comme étant adultes.

La présence d'anticorps dirigés contre le BVDV dans cette étude est détectée par un test de séroneutralisation. Les virus d'épreuves utilisés proviennent de deux souches de BVDV, la souche Grub 313/83 et la souche NADL, et d'une souche cytopathogène de BDV.

Sur les 355 sérums de cervidés testés **17** se sont avérés séropositifs vis-à-vis du **BVDV** et **un** vis-à-vis du **BDV** (provenant d'un chevreuil mâle adulte), soit **5%** de sérum **positifs**.

Sur les 94 sérums testés dans la région de **Schleswig-Holstein** 7 sont séropositifs soit **7,4%** ; sur les 44 sérums testés en **Bavière**, 4 sont séropositifs soit **9%** ; enfin sur les 42 sérums testés dans la **réserve de chasse de Berlin**, 3 sont positifs soit **7,1%**. Il n'y a **pas de différences significatives** entre ces trois réserves de chasse.

12 des 123 **chevreaux** testés sont séropositifs soit **9,8%**, 1 seul des 87 **daims** soit **1,15%** et 3 des 60 **cerfs** soit **5%**. Il y a donc **significativement plus de chevreaux séropositifs** que de **daims** sur l'ensemble des régions et parcs testés d'Allemagne.

9 des 61 **chevreaux juvéniles** testés sont positifs soit **14,7%** contre 2 des 62 **adultes** soit **3,2%**. Il y a donc **significativement plus de jeunes chevreaux séropositifs que d'adultes**. Par contre aucune différence significative n' a été relevé entre mâle et femelle.

Par ailleurs 14 des 180 cervidés vivant en **liberté** sont séropositifs soit **7,7%** mais seulement 4 des 175 cervidés vivant en **captivité** soit **2,3%**. Il y a donc **significativement plus de cervidés vivant en liberté séropositifs que de cervidés vivant en captivité** alors que la densité de cervidés et que les possibilités de transmissions sont plus importantes en captivité. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il existe un réservoir naturel chez les cervidés vivant en liberté. En effet, les sangliers et lapins sont des porteurs potentiels de BVDV et peuvent représenter un réservoir naturel.

Enfin, 9 des 65 cervidés vivant en liberté prélevés en **été** (entre avril et septembre) sont séropositifs, soit **14%** ; contre 5 des 115 prélevés en **hiver** (entre octobre et mars), soit **4,3%**. Il y a donc significativement **plus de cervidés séropositifs en été qu'en hiver**. Cela peut s'expliquer par le fait que les mélanges d'animaux sur les prairies sont plus fréquents l'été que l'hiver, et donc les risques de transmission du virus augmentent l'été (Frolich, 1995).

Au Danemark

Au Danemark, une étude virologique a été menée afin d'évaluer la prévalence du BVDV chez les cervidés (Nielsen et al., 2000). Cette étude a été menée sur deux périodes, **entre 1995 et 1996** et **entre 1998 et 1999**. En tout **476 sérums** ont été testés, 207 sur la première période et 269 sur l'autre. Les animaux prélevés ont été sélectionnés dans des zones où la prévalence d'infection persistante par le BVD sur les troupeaux de bovins était relativement élevée.

La méthode de détection antigénique utilisée dans cette étude est un ELISA de capture.

Sur la période de **1995-1996**, **149 chevreuils**, **29 daims**, **20 cerfs**, un **cerf sika du Japon** et **8 autres cervidés** ont été testés. Seul **deux** sérums de cerfs se sont avérés **positifs** sur cette période.

Sur la période de **1998-1999**, **212 chevreuils** et **57 cerfs** ont été testés, seul **un** sérum de cerf s'est avéré **positif**.

Ainsi, la population de cervidés au Danemark n'est pas un réservoir de BVD (Nielsen et al., 2000).

En Norvège

En Norvège une étude similaire a été menée sur **3796 sérums** de cervidés collectés sur la période de **1993 à 2000**. Des échantillons ont été collectés sur l'ensemble du territoire norvégien (Lillehaug et al., 2003).

Les sérums ont été testés par séroneutralisation et/ou par des techniques ELISA.

12,3% des chevreuils, 4,2% des rennes, 2% d'élans et 1,1% de cerfs se sont avérés séropositifs vis-à-vis du BVD. Cela montre que **l'infection est de nature endémique chez les rennes et les chevreuils en Norvège**. Mais le pestivirus infectant ces deux cervidés semble spécifique à ces espèces. L'infection par le BVDV des cerfs et des élans semble quant à elle, avoir pour origine un contact avec d'autres espèces de ruminants (Lillehaug et al., 2003).

En Angleterre

Des sérums de trois espèces de cervidés vivant en semi-liberté dans le **parc de whipsnade** en Angleterre ont été collectés entre 1973 et 1994. La présence d'anticorps dirigés contre trois souches de BVDV a été recherchée par séroneutralisation. 37 sérums provenaient d'**oryx algazelle**, 49 de **cerfs du Père David** et de 144 **cerfs d'eau de chine**. **13,1%** de ces échantillons se sont avérés **positifs** vis-à-vis d'au moins une des trois souches de BVDV utilisées dans l'étude avec des titres compris entre 1 :5 et 1 :16 (Frolich et flach, 1998).

En Autriche

En revanche en Autriche, dans la période de **2001 à 2002** sur **149** sérums de cervidés testés seul **un** provenant d'un **cerf** s'est avéré **positif** vis-à-vis du BVDV type I.

Les sérums ont été collectés dans neuf réserves de chasse et une ferme de daims située dans le sud de l'Autriche. 59 sérums de cerfs, 77 de chevreuils, 4 de daims et 5 de chamois ont été testés. Les méthodes diagnostiques utilisées dans cette étude sont des tests de séroneutralisation et des ELISA. Les anticorps recherchés sont dirigés contre trois souches de BVDV et une de BDV (Krametter et al., 2004).

En Italie

Des sérums provenant de 43 **daims** (22 mâles et 20 femelles) vivant en semi-liberté dans la réserve de **San Rossore en Toscane** en Italie ont été collectés entre **1983 et 1984**. Une très **forte prévalence** a été observée puisque 25 de ces 43 daims se sont avérés séropositifs vis à vis du BVDV soit **58%**. En revanche , aucune différence significative d'âge ou de sexe n'a été observée.

Le test utilisé dans cette étude est un test de séroneutralisation utilisant comme virus épreuve, la souche C24 Orégon du BVDV avec comme seuil de séropositivité un titre de 1:4 (Giovannini et al., 1988).

Par contre une autre étude menée en Italie sur diverses espèces d'ongulés de la **haute vallée de Susa** dont 73 **chevreuils** et 136 **cerfs** a montré que les **chevreuils** étaient tous **séronégatifs** et que seulement **5,9%** des **cerfs** étaient séropositifs.

Les sérums ont été testés avec un ELISA recherchant les anticorps dirigés contre la protéine NS3 du BVDV (Olde Riekering et al., 2005).

Au Québec

En **1978 et 1979**, des études sérologiques ont été réalisées sur des **caribous** dans le nord du Québec. 30 sérums ont été récoltés en 1978 et 28 en 1979. Les animaux testés étaient issus de la chasse et avaient entre 1,5 et 10,5 ans (l'estimation de l'âge étant basée sur la dentition). Ces caribous n'avaient plus aucun contact avec des ruminants domestiques depuis 25 ans. La méthode sérologique utilisée dans cette étude est la séroneutralisation. Une **forte prévalence** a été observée les deux années de l'étude, en effet **69,3%** en **1978** et **60,7%** en **1979** des animaux testés se sont avérés séropositifs (Elazhary et al., 1981).

En revanche lors d'une étude menée entre **1985 et 1987** sur des **cerfs de virginie** vivant sur l'île **Anticosti** au Québec, aucun animal ne s'est révélé positif vis-à-vis du BVDV. L'étude a porté sur 396 sérums testés par séroneutralisation (Sadi et al., 1991).

- Chez les bovidés

Aux USA

Une étude sérologique a été menée entre **novembre 1991 et mars 1992** sur 101 **bisons américains** vivant en liberté dans le **parc de Yellowstone** dans le Wyoming aux USA. Une **forte prévalence** a été observée, en effet **31%** des bisons sont sortis séropositifs vis-à-vis du BVDV après un test de séroneutralisation (Sharon et al, 1997).

En Europe

En revanche une étude similaire menée en Europe dans la **forêt de Balowieza** en **Pologne** sur des **bisons européens** a mis en évidence une **faible prévalence** du BVD dans cette population. En effet seulement 2 bisons sur 261 testés soit **5,22%** possédaient des anticorps dirigés contre le BVDV (Borchers et al., 2002).

Des études sérologiques ont été menées sur d'autres espèces de bovidés en Europe et plus particulièrement sur les isards dans les Pyrénées et les chamois dans les Alpes.

Une étude sérologique a été menée dans le début des années 2000, sur 200 **izards** dans les **Pyrénées centrales** en **Espagne** et en **France** afin d'évaluer la séroprévalence du BVDV dans cette population d'animaux.

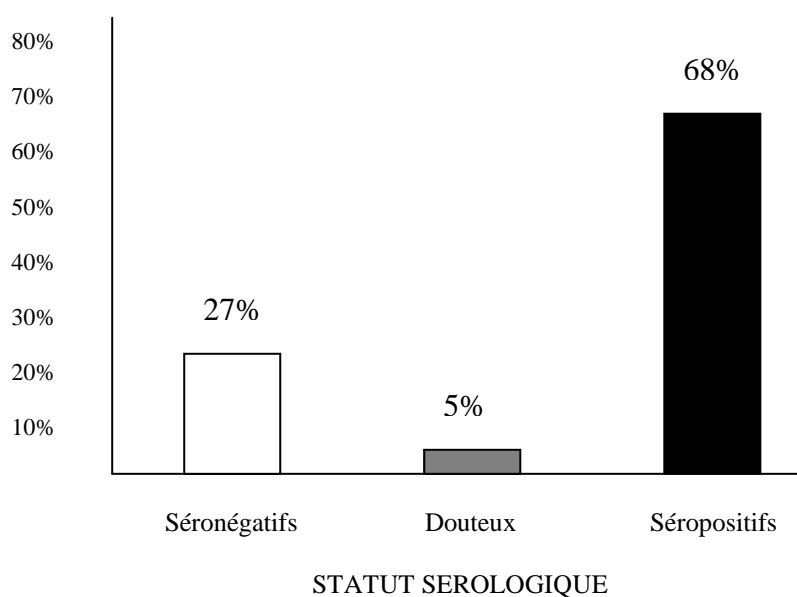
Une méthode ELISA standard utilisant la souche Orégon C24 du BVDV a été utilisée pour tester les sérums.

Une prévalence modérée a été observée, en effet, 33 sérums se sont avérés positifs sur les 200, soit **16,5%**. De plus, une **prévalence plus élevée** a été enregistrée en **Andorre** (24/88 ; soit 27,3%) que dans les trois autres régions testées (9/120 ; soit 0,75%) (Arnal et al., 2004).

Par ailleurs, une autre étude sérologique a été menée entre **1995 et 2001** dans la **réserve d'Orlu** en **Ariège** sur 207 sérums d'**isards** (Reynal, thèse de doctorat vétérinaire Toulouse, 2004). Les anticorps dirigés contre la protéine non structurale NS3 (ou P80) ont été recherchés.

Une **forte prévalence** a été enregistrée, en effet, **68%** des individus se sont avérés séropositifs.

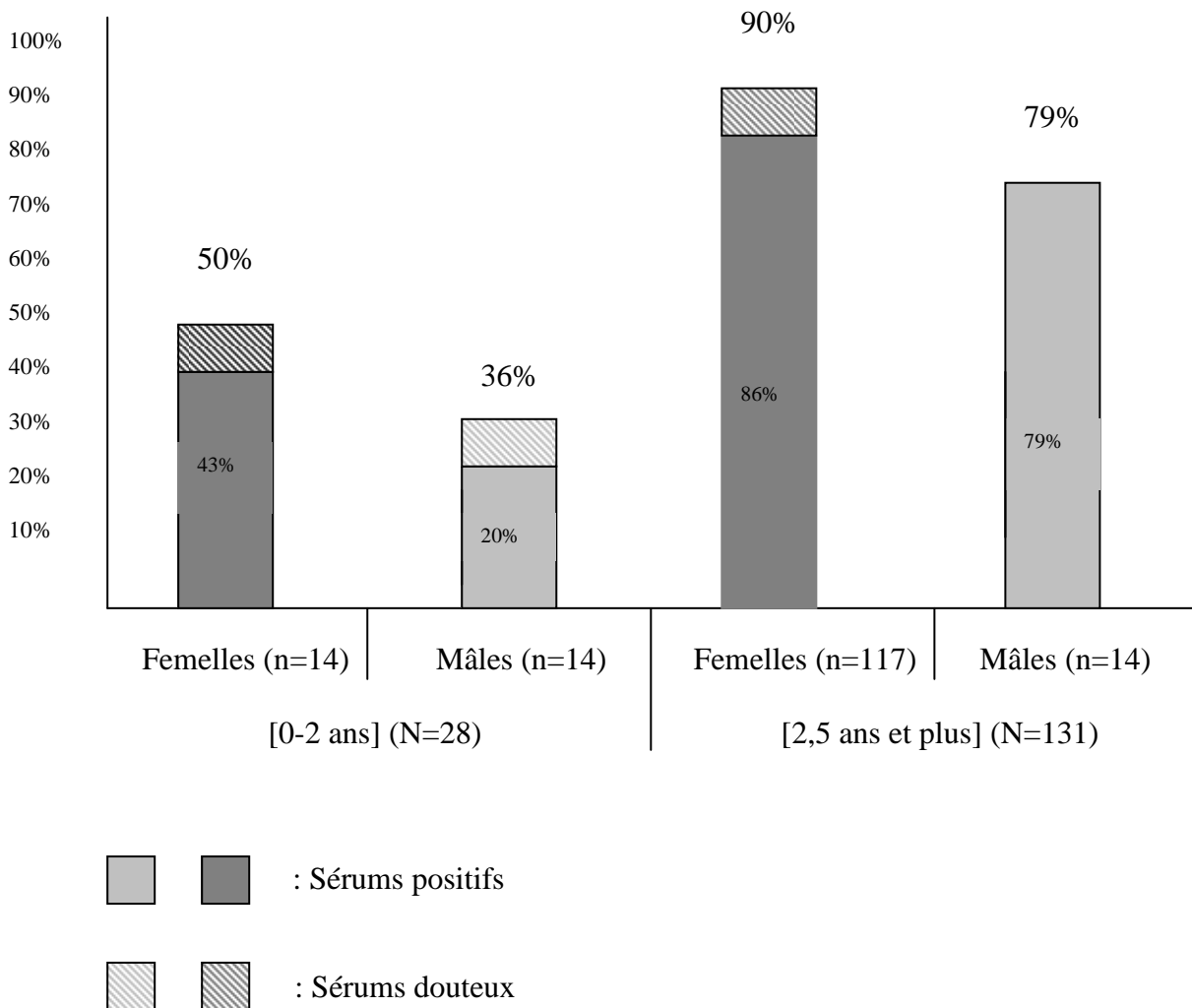
Figure 11 : résultats sérologiques obtenus sur les isards (N=207) de 1994 à 2001 dans la réserve d'Orlu (Reynal, 2004)



De plus, cette étude a mis en évidence des variations de pourcentages d'individus séropositifs entre le printemps et l'automne, entre mâles et femelles et entre jeunes et adultes :

- **Au printemps** : chez les plus **jeunes** (0 à 2 ans), le pourcentage de **femelles** non séronégatives (séropositifs + douteux) s'élève à **50%** tandis que chez les **mâles** il n'est que de **36%**. Cependant, nous observons une nette augmentation de ce pourcentage avec l'âge puisqu'il passe à **90%** chez les **femelles** et **79%** chez les **mâles** pour des animaux de **plus de 2 ans**. Ainsi au printemps quel que soit l'âge, **le pourcentage de femelles non séronégatives est supérieur à celui des mâles** sur l'échantillon testé.

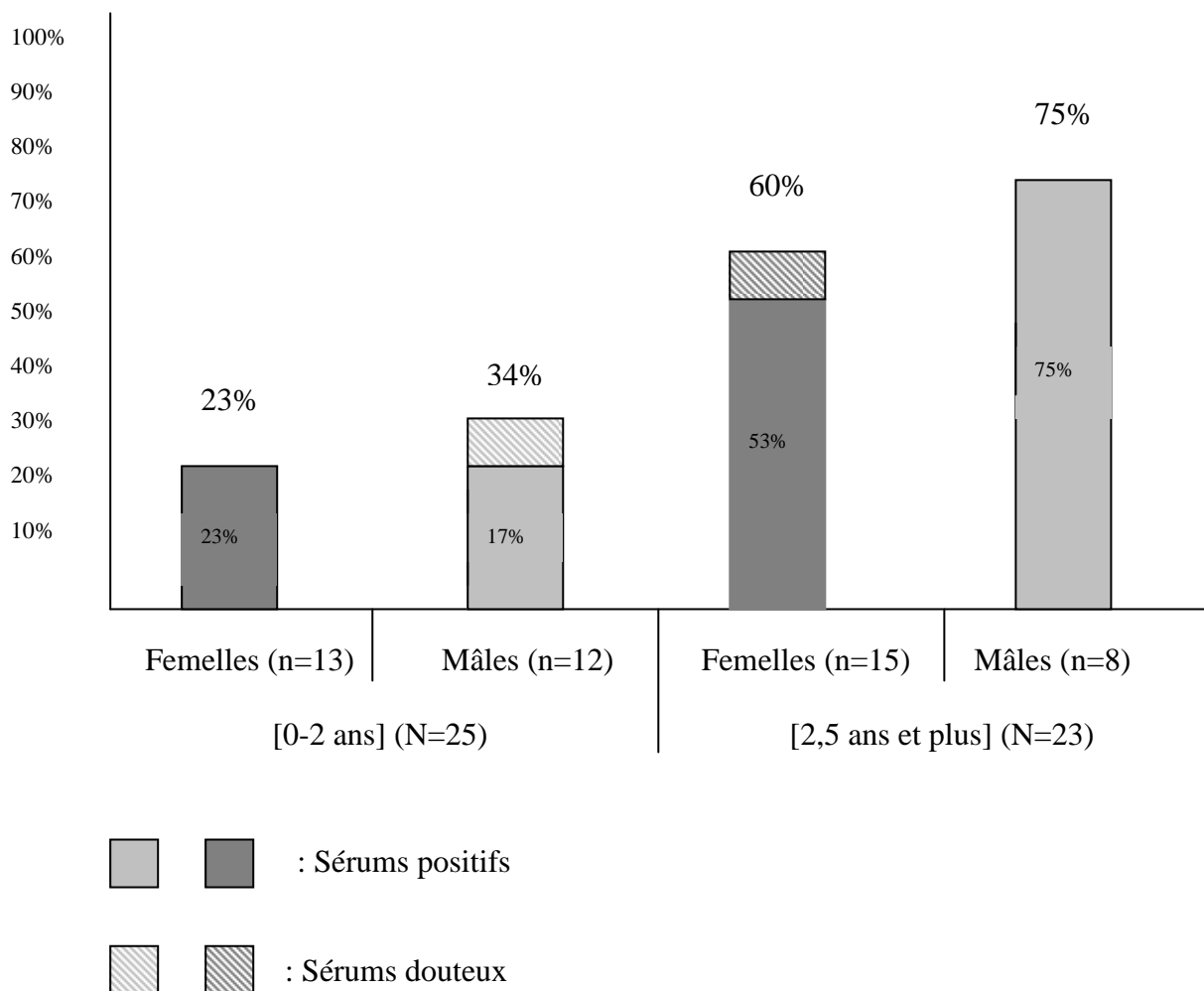
Figure 12 : Comparaison des pourcentages d'isards non séronégatifs (séropositif + douteux) prélevés au printemps selon leur sexe et leur âge (Reynal, 2004)



- **En automne** : chez les **femelles** le pourcentage d'individus non séronégatifs est bien **inférieur qu'au printemps**. En effet, on observe une **diminution du pourcentage de moitié chez les plus jeunes** et **d'un tiers chez les adultes**. Cependant, pour les **mâles**, ces pourcentages sont **identiques** entre le printemps et l'automne.

Par ailleurs, si on regarde le pourcentage d'animaux non séropositifs en automne quel que soit l'âge, le pourcentage de **mâles** est **supérieur** à celui des femelles. Cependant compte tenu du nombre élevé de mâles jeunes douteux il est difficile d'établir une conclusion en terme de séropositivité. Par contre, chez les adultes, le pourcentage de mâles séropositifs est supérieur à celui des femelles ; ainsi en automne la tendance s'inverse par rapport au printemps.

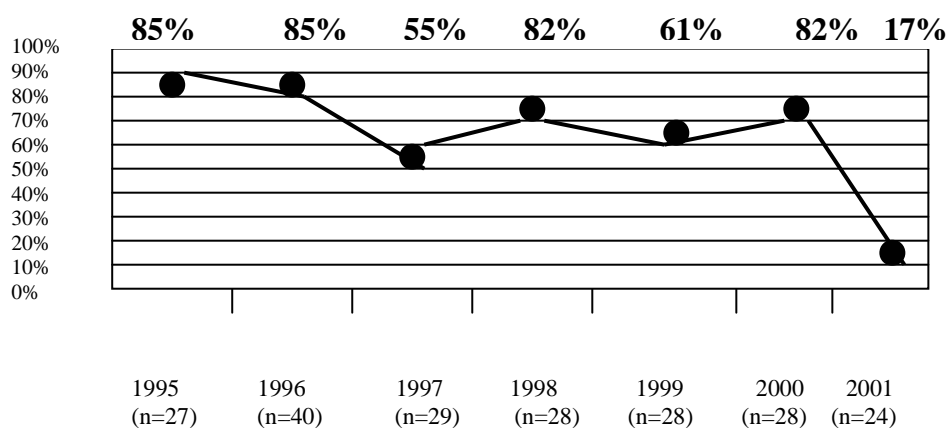
Figure 13 : Comparaison des pourcentages d'isards non séronégatifs (séropositifs + douteux) en pestivirus prélevés en automne selon leur sexe et leurs âge (Reynal, 2004)



Ainsi, quelle que soit la saison, on observe une **forte augmentation du pourcentage d'individus séropositifs avec l'âge**, puisqu'il passe du simple au double dans la classe plus âgée. Cela peut s'expliquer par le fait qu'un individu séropositif reste séropositif à vie.

Par ailleurs, si on regarde le pourcentage d'animaux non séronégatifs obtenu lors de cette étude, en fonction des années, entre 1995 et 2000, ce pourcentage reste entre 60 et 90%. Mais il **s'écroule en 2001**. En effet, cette année là moins d'un tiers des animaux testés sont séropositifs.

Figure 14 : Pourcentages d'isards non séronégatifs (séropositifs + douteux) envers les pestivirus selon les années. (intervalle de confiance au risque d'erreur 5%) (Reynal, 2004)



Enfin, une étude menée dans la **haute vallée de Susa en Italie en 1999** sur diverses espèces d'ongulés sauvages dont 110 **chamois**, a révélé une prévalence élevée de BVD dans cette population puisque que 28 des individus testés soit **25,5%** possédaient des anticorps dirigés contre la protéine non structurale NS3 du BVDV (Olde Riekering et al., 2005).

- Chez les camélidés

Diverses études sérologiques ont été réalisées en **Amérique latine** afin d'évaluer la prévalence du BVDV chez les camélidés.

Au **Pérou**, en **1987**, une étude sérologique a été menée sur 117 **alpagas**. Une prévalence modérée a été enregistrée sur les animaux testés. En effet, **11,1%** des individus testés possédaient des anticorps dirigés contre le BVDV (Rivera et al., 1987).

Plus tard, une étude menée en **Argentine** sur 390 **lamas** a mis en évidence des anticorps dirigés contre le BVDV chez seulement **2%** des animaux testés (Puntel et al., 1999).

Au **Chili**, une étude similaire a été menée sur des moutons, chèvres, alpagas, lamas, guanacos et vigognes. 8 des 74 **alpagas** testés soit **10,8%** se sont avérés positifs et 6 des 43 **lamas** testés soit **14%** possédaient des anticorps dirigés contre le BVDV. Par contre les 48 guanacos et 34 vigognes testés ne possédaient pas d'anticorps dirigés contre le BVDV (Celedon et al., 2001).

- Chez les antilocapridés

Les antilocapridés sont également sensibles aux pestivirus. Ainsi, une étude a été réalisée aux USA, dans le sud de l'**Idaho**, entre **1975** et **1977**, pour évaluer la prévalence du BVD chez les **pronghorns**. 143 sérums de pronghorns dont 102 sérums de pronghorns adultes et 41 sérums de pronghorns jeunes ont été testés par séroneutralisation. Seuls **deux** sérums se sont avérés positifs, tous deux provenant de pronghorns adultes (Erik H et al., 1980).

- Chez les cuniculidés

Comme nous l'avons vu, les pestivirus infectent un grand nombre d'espèces domestiques et sauvages. Les lapins sauvages semblent être un réservoir potentiel, ainsi une étude a été réalisée en **Allemagne** entre **1993** et **1995** pour évaluer la prévalence du BVDV chez cette espèce. 97 sérums de **lapins sauvages** ont été récoltés dans le nord de l'Allemagne. Des anticorps dirigés contre trois souches cytopathogènes de BVDV ont été recherchés par séroneutralisation :

- contre la souche SH9/11 isolée chez des chevreuils en 1995
- contre la souche Grub 313/83
- contre la souche NADL.

Dans cette étude, les sérums sont considérés positifs si leur titre en anticorps dépasse 4.

Des anticorps dirigés contre ces souches de BVDV ont été enregistrés chez **40%** des individus testés. De plus, il y a eu significativement plus de lapins séropositifs et avec des titres en anticorps significativement plus élevés avec la **souche SH9/11** qu'avec les deux autres souches. Par ailleurs, 13 des sérums positifs au test de séroneutralisation ont également réagi positivement à un test ELISA recherchant les anticorps dirigés contre la protéine non structurale NS2/3 (ou p80/120) du BVDV.

Ainsi, les lapins ont, soit pu **acquérir passivement des anticorps** dirigés contre le BVDV, soit été **infectés naturellement** par ce virus.

Cependant, des **PCR** ont également été réalisés sur les rates des lapins testés en sérologie mais le BVDV n'a été identifié sur aucune d'entre elles. Des tentatives d'isolement viral ont également été réalisées dans cette étude mais elles n'ont rien donné.

Il n'y a donc pas à l'heure actuelle de preuves évidentes que les lapins représentent une source de pestivirus (Frolich and Streich, 1998).

- Chez les animaux sauvages en captivité

En **1983**, une étude a été menée dans **différents zoos des USA** afin d'évaluer la séroprévalence du BVDV chez les animaux sauvages vivant en captivité (Doyle et al., 1983). 1 905 sérums issus de 104 espèces différentes ont été testés.

Des anticorps dirigés contre le BVDV ont été enregistrés sur 174 sérums en provenance de 50 espèces différentes, ce qui représente **9,1%** de sérums positifs. Cependant 5 des zoos testés avaient procédé antérieurement à l'étude à une vaccination contre le BVD. En écartant les sérums provenant de ces zoos, 60 individus s'avèrent séropositifs sur les 1 390 sérums restant soit **4,3%** de positifs.

Tableau 1 : Liste des espèces où des anticorps dirigés contre le BVDV ont été enregistrés dans cette étude et pourcentage de sérums positifs par espèces (Doyle et al., 1983).

Nom français / latin	nombre séropositifs/ nombre de testés	% de positifs
Antilocapridé		
Pronghorn	3/14	21
Bovidé		
Antilope à nez tacheté	4/62	21
Bubale roux	2/28	7
Mouflon à manchettes	1/47	2
Springbok	2/51	4
Zébu	3/27	11
Antilope nilgaut	1/25	4
Chèvre sauvage	2/17	12
Makhor	2/15	13
Bouquetin de nubie	2/24	8
Yanghir	2/52	4
Gnou noir	4/48	8
Gnou bleu	2/26	8
Bontebok	6/17	35
Blesbok	2/33	6
Topi	3/15	20
Gazelle dama	1/17	6
Gazelle de thomson	1/16	6
Tahr des nilgiri	6/21	29
Antilope chevaline	1/9	11
Hippotrague noir	5/66	8

Waterbuck (antilope sing sing)	7/12	58
Cobe à croissant	4/10	40
Kob (kob de bufflon)	1/16	6
Cobe de Mme gray	1/16	6
Dik dik de kirk	1/4	25
Chèvre des montagnes	13/23	57
Oryx algazelle	3/87	3
Oryx gazelle	4/34	12
Oryx d'arabie	8/28	29
Mouflon canadien	10/28	36
Mouflon de dall	1/17	6
Mouflon de Dall sous espèce stonei	3/8	38
Mouflon	1/21	5
Urial	2/15	13
Isard	6/14	43
Buffle d'afrique	3/9	33
Bongo	2/12	17
Petit koudou	1/14	7
Eland	4/45	9
Grand koudou	2/34	6
Camélidé		
Dromadaire	3/24	13
Cervidé		
Cerf axis	1/35	3
Wapiti	10/88	13
Cerf élaphe	1/13	8
Cerf Sika	1/44	2
Sambar	1/7	14
Cerf du père david	1/21	5
Muntjac de reeve	13/47	28

- Chez les animaux sauvages d'Afrique

Une étude sérologique a été réalisée entre **1963** et **1978** en **Afrique** afin d'évaluer la prévalence du BVDV chez les animaux sauvages (Hamblin et al., 1979).

3359 sérums ont été prélevés sur **45 espèces** d'animaux sauvages en provenance de **neuf territoires** africains : Botswana, Rhodésie, Afrique du sud, Afrique du sud-ouest, Zambie, Tchad, Kenya, Tanzanie, Ouganda.

Les anticorps neutralisants du virus BVDV ont été recherchés par séroneutralisation.

Des titres significatifs furent enregistrés sur les sérums de **17 espèces** : buffle, antilope nyala, koudou, éland, waterbuck, puku, cobe à croissant, cobe de lechwe, antilope à nez tacheté, oryx, topi, gnou, springbok, céphalope de maxwell, girafe, phacochère et bubale roux.

Des résultats positifs ont été obtenus dans **sept** des neuf pays africains. Aucun sérum positif n'a été enregistré au Kenya et en Tanzanie mais le nombre d'échantillons collectés dans ces deux pays était bas (respectivement 108 et 11 sérums).

Au Botswana, une population précise de buffalo a été régulièrement prélevée entre 1965 et 1976 afin d'étudier l'évolution de la prévalence des anticorps dirigés contre le BVD chez ces

animaux. Les tests de séroneutralisation ont révélé des anticorps dirigés contre le BVD chez une forte proportion de cette population, et ce, durant toute la période de l'étude (12 années) (Hamblin et al., 1979).

Tableau 2 : Pourcentages de sérums positifs au BVDV dans une population de Buffles vivant en liberté au Botswana entre 1965 et 1976 (Hamblin et al., 1979)

Année	Nombre de sérums testés	Pourcentages de positifs
1965	3	100
1968	5	60
1970	36	30,6
1971	19	47,4
1972	195	66,7
1973	203	47,3
1974	181	70,72
1976	196	76,53

Ceci indique que l'infection existe depuis longtemps et persiste dans cette population de buffles.

De même, les échantillons de l'étude globale furent collectés dans différents territoires de l'Afrique sur une période de 15 ans. Cela indique que **l'infection est largement répandue** en Afrique et qu'elle existe depuis **longtemps**.

Par ailleurs, la distribution et le niveau d'anticorps enregistrés dans cette étude suggèrent que certaines espèces sauvages peuvent être des **réservoirs** d'infections naturelles.

Plus tard, en **1991**, une étude similaire a été réalisée en **Namibie** sur dix espèces de ruminants sauvages. Des anticorps dirigés contre le BVDV ont été mis en évidence par séroneutralisation chez sept de ces dix espèces et des prévalences élevées, supérieure à 40%, ont été enregistrées chez le **koudou**, l'**élan** et la **girafe** (Depner et al., 1991).

3.1.2. Isolement viral chez les animaux sauvages

L'isolement du virus chez les animaux sauvages est nécessaire pour comprendre les **échanges possibles** de pestivirus entre espèces domestiques et sauvages.

Cependant, il faut tenir compte du fait que les pestivirus sont des contaminants potentiels des milieux de cultures utilisés. Il faut alors être prudent quand à l'interprétation des résultats en particulier pour les isolements viraux réalisés il y a longtemps. En effet, les pestivirus peuvent infecter un grand nombre de cellules de mammifères utilisées pour la culture virale. De plus, les sérums foetaux de veaux, servant à l'enrichissement des milieux, peuvent également être une source de BVDV indésirable s'ils proviennent de vaches infectées. Par ailleurs, des contaminations croisées entre divers échantillons de sérums de bovins à tester sont également possibles dans le laboratoire d'analyse.

3.1.2.1. Isolement du CSFV chez les animaux sauvages

Des souches de CSFV similaires au CSFV infectant les porcs domestiques ont été isolées sur des **sangliers** dans différents pays d'Europe comme par exemple l'**Autriche**, la **République tchèque**, la **France**, l'**Allemagne**, l'**Italie**, la **Slovaquie** et la **Suisse**. Un lien a rapidement été établi entre ces infections de sangliers et les épidémies affectant les porcs domestiques dans ces mêmes régions.

Ainsi, il semble qu'il y ait eu une **transmission** du CSFV entre les espèces domestiques et sauvages (Bartak et Greiser-wilke, 2000 ; Biagetti e al.,2001 ; Fritzemeier et al., 2000 ; Jemersic et al., 2003 ; Laddomada, 2000 ; Lowings et al., 1999 ; Stadejek et al., 1997).

Par ailleurs, en **1982**, une souche **cytopathogène** de CSFV, la souche WB82 a été isolée sur un sanglier au **Japon** (Aoki et al., 2001).

3.1.2.2. Isolement du « girafe pestivirus »

Le pestivirus le plus intéressant isolé à l'heure actuelle, est un pestivirus provenant d'une **girafe** du district de Nanyuki au **Kenya** isolé en **1967**. Ce virus fut nommé **girafe-pestivirus** (Plowright, 1969). Son analyse phylogénétique le différencie des autres pestivirus et il est parfois considéré comme constituant un groupe de pestivirus à lui seul.

Plus tard, en 1990, une autre souche de pestivirus, la souche PG-2, fut isolée en Afrique sur un bovin. Cette souche s'est avérée similaire au girafe-pestivirus (Becher et al., 2003).

3.1.2.3. Isolement du BVDV et du BDV chez les animaux sauvages

Le BVDV a été isolé sur de **nombreuses** espèces sauvages.

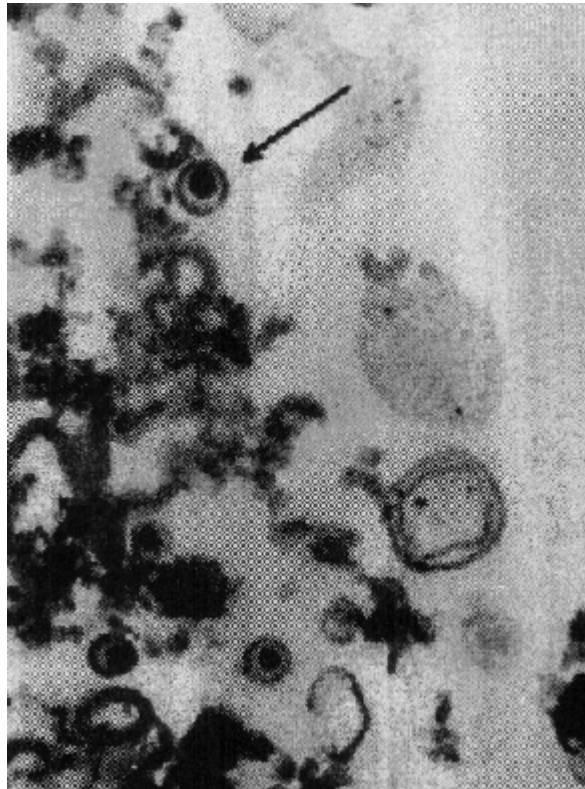
Par exemple, en **1979**, il a été isolé sur un **jeune cerf** d'environ 6 mois, en **Ecosse**. L'isolement a été réalisé à partir d'un échantillon de sa rate.

Ce cerf est mort en 24 heures après un syndrome aigu inhabituel. Cependant, la signification clinique de l'infection par le BVDV de cet animal est difficile à expliquer. En effet, des infections expérimentales de cerfs par ce pestivirus n'ont pas donné de réponses cliniques (voire 3.2). Il est donc improbable qu'il soit à lui seul responsable de la mort de ce cerf, mais le BVDV a certainement été un facteur de risque important (Nettleton et al., 1980).

Par ailleurs, une **souche cytopathogène** du BVDV a été isolée en **1991** sur des échantillons de rates provenant de deux **chevreuils** (une femelle adulte et un jeune mâle) dans le **nord de l'Allemagne**. Les échantillons ont été collectés le 6 décembre 1990 (femelle adulte) et le 26 juillet 1991 (jeune mâle).

Des tests de séroneutralisation réalisés sur les sérums de ces animaux n'ont pas révélé d'anticorps spécifiques dirigés contre le BVDV chez ces deux individus. Par contre un test d'immunofluorescence direct a révélé la présence de BVDV dans les rates de ces deux chevreuils et des particules virales caractéristiques des pestivirus ont été visibles par microscopie électronique.

Figure 15 : Image en microscopie électronique des pestivirus isolées sur ces chevreuils



(Frolich et Hofmann, 1995)

Par la suite, des tests d'amplification du génome viral (RT-PCR) ont permis de confirmer l'appartenance de ces deux isolats au genre *Pestivirus* (Frolich et Hoffman, 1995).

Mais le BVDV a également été isolé chez de nombreuses autres espèces d'animaux sauvages telles que :

- les **rennes** (Becher et al., 1999)
- les **bisons européens** (Becher et al., 1999)
- les **bisons canadiens** (Deregt et al., 2005)
- les **élans** (Vilcek et al., 2000)
- les **lamas** (Belknap et al., 2000)
- les **cerfs mulets** (Van Campen et al., 2001)
- les **chevrotains** (Grondahl et al., 2003)
- les **alpagas** (Goyal et al., 2002)
- les **chamois** (Arnal et al., 2004)
- les **pronghorns** (Vilcek et al., 2005)
- les **pudus** (Pizarro-lucero et al., 2005)

Des pestivirus ont également été isolés lors d'épidémies survenues chez des ruminants sauvages vivant en captivité dans des réserves et chez des animaux sauvages vivant en liberté comme des **chevreuils**, des **daims**, des **buffles africains**, des **girafes** et des **gnous**. Mais dans tous ces cas la contribution du virus dans leur maladie est difficile à évaluer (Nettleton, 1990).

Par ailleurs, des souches non cytopathogène de BVDV ont été isolées sur deux **gnous**, une **antilope nilgaut**, un **cerf axis**, et un **cerf des marais** vivant en **captivité** dans des zoos aux USA (Doyle et Heuschele, 1983).

Le BVDV a été isolé chez les gnous sur une femelle adulte du parc de San Diego et sur un mâle adulte du zoo de Franklin. Par contre l'antilope nilgaut, le cerf des marais et le cerf axis sur lesquels ce pestivirus a été isolé étaient de jeunes animaux du parc de San Diego. Tous les trois présentaient des signes de fièvre catarrhale maligne c'est-à-dire fièvre, kératite et dépression. Ainsi, le virus de la fièvre catarrhale maligne fut isolé sur ces trois individus en plus du BVDV. Il est donc difficile d'évaluer la contribution du BVDV dans la maladie de ces trois animaux. Il est possible que le pestivirus en diminuant les défenses immunitaires de son hôte ait été un facteur favorisant l'infection par l'autre virus (Doyle et Heuschele, 1983).

3.2. Infections expérimentales des animaux sauvages

Des pestivirus et des anticorps dirigés contre les pestivirus ont été mis en évidence chez de nombreuses espèces d'animaux sauvages, mais dans beaucoup de cas, le rôle de ces virus en tant qu'agent causal de maladie est inconnu. Ainsi, des infections expérimentales d'animaux sauvages avec des pestivirus isolés sur la même espèce ou sur une espèce similaire de l'espèce infectée expérimentalement ont été réalisées afin d'apporter des réponses à ces interrogations (Vilcek and Nettleton, 2006).

Ainsi, ces infections expérimentales ont permis d'étudier la clinique et les lésions induites par les pestivirus chez les espèces sauvages.

3.2.1. Transmission transplacentaire

La transmission transplacentaire du CSFV a été reproduite expérimentalement chez des sangliers (Depner et al., 1995).

En effet, une laie gravide a été expérimentalement inoculée en intra-nasal par une souche de CSFV isolée chez des porcs domestiques. Suite à son inoculation cette femelle n'a pas présenté de signe de maladie, par contre une séroconversion a été enregistrée. Cette laie a mis bas de 6 marcassins en bonne santé 28 jours après l'inoculation. Mais, un des nouveaux-nés s'est avéré virémique et est mort à 39 jours. Excepté son retard de croissance aucun autre symptôme n'a été enregistré chez cet individu. Les autres marcassins sont restés non-virémiques et en bonne santé alors qu'ils ont été en contact étroit avec ce dernier. Cependant des titres élevés en anticorps dirigés contre le CSFV ont été enregistrés dans leurs sérums. Ainsi tous les résultats obtenus lors de cette expérience sont plus ou moins en accord avec ceux observés lors d'infections naturelles par le CSFV entre 85 et 97 jours de gestation de truies domestiques gravides (Depner et al., 1995).

3.2.2. Durée d'incubation

Des durées d'incubations de **8 jours à 24 jours** ont été rencontrées lors d'infections expérimentales chez les animaux sauvages. 11 jours chez un pronghorn, 11 jours chez un jeune cerf rouge, 24 jours chez un cerf-mulet, 10 jours chez un cerf de virginie (Richards, 1956).

3.2.3. Signes cliniques

Certaines infections expérimentales ont été accompagnées de signes généraux et/ou locaux mais la majorité n'a pas donné de signes cliniques chez l'animal infecté.

3.2.3.1. Signes généraux

Divers signes généraux non spécifiques au BVD ont été observés chez plusieurs espèces sauvages infectées expérimentalement :

De la **dépression** a été observée chez des cerfs de virginie, un cerf –mulet (Richards 1956) et des chevreuils (Romvary, 1965) infectés expérimentalement.

De la **faiblesse** a été observée chez un cerf de virginie, un ponghorn, un jeune cerf rouge (Richards, 1956) et des chevreuils (Romvary, 1965) infectés expérimentalement.

De l'**inappétence**, voire de l'anorexie, a été observée chez un cerf de virginie et un jeune cerf rouge (Richards, 1956) infectés expérimentalement.

De l'**amaigrissement et de l'émaciation** ont été observés chez des cerfs de virginie infectés expérimentalement (Richards, 1956).

Du **léchage et du prurit** ont été observés chez un cerf de virginie et un pronghorn infectés expérimentalement (Richards, 1956)

Un **décubitus** a été observé chez un cerf de virginie et un pronghorn infectés expérimentalement (Richards, 1956).

3.2.3.2. Signes locaux

- Signes digestifs

Du **ptyalisme** a été mis en évidence chez un cerf-mulet infecté expérimentalement (Richards, 1956)

De la **diarrhée** parfois visqueuse ou sanguinolente, avec des débris nécrotiques et du méléna, a été mise en évidence chez des cerfs de virginie infectés expérimentalement.

Du **ténesme** a été observé chez un cerf de virginie et un cerf-mulet infectés expérimentalement (Richards, 1956).

- Signes respiratoires

Une **sècheresse du mufle** et des **ulcérations** ont été observées chez un pronghorn infecté expérimentalement (Richards, 1956)

De la **toux** a été mise en évidence chez un cerf de virginie infecté expérimentalement (Richards, 1956).

- Signes cutanés

Un **poil terne** et **piqué** a été mis en évidence chez un cerf de virginie infecté expérimentalement (Richards, 1956).

- Troubles locomoteurs

Des **troubles locomoteurs** ont été mis en évidence chez des cerfs de virginie et un cerf rouge infectés expérimentalement (Richards, 1956)

3.2.3.3 Absence de signe clinique

Dans la majorité des études récentes, l'infection expérimentale des animaux sauvages par les pestivirus ne donne aucun signe clinique chez les individus infectés.

Par exemple, l'infection expérimentale de porcs domestiques et de **sangliers** sauvages avec une souche virulente de CSFV isolée sur des sangliers, a mis en évidence une virémie transitoire accompagnée d'une excrétion nasale de virus, d'une leucopénie modérée et d'une séroconversion chez les porcs domestiques. En revanche, aucun des sangliers infectés expérimentalement n'a présenté de virémie ni d'excrétion nasale et aucun d'eux ne s'est séroconverti (Kaden et al., 2000).

Par ailleurs, l'infection expérimentale d'un **lama** par la souche BVDV-1b isolé sur un animal de cette même espèce a démontré que les lamas peuvent être infectés par les pestivirus sans qu'**aucun signe clinique** ne soit observé (Wentz et al., 2003).

En outre, l'infection expérimentale de **cerf-mulet** et de **cerf de virginie** par la souche BVDV-1 a confirmé que ces deux espèces peuvent être infectées par ce pestivirus, mais **aucun signe clinique** n'a été observé (Van Campen et al., 1997).

L'infection expérimentale d'**élan** par les souches BVDV-1 ou BVDV-2 a mis en évidence chez ces animaux une **virémie**, une **excrétion nasale** et une **séroconversion** mais **aucun signe de maladie** (Tessaro et al., 1999).

3.2.4. Lésions observées

Lors d'infections expérimentales avec signe clinique, des lésions ont également pu être mises en évidence.

3.2.4.1. Tête

- Muqueuses

Une **inflammation sévère** de toutes **les muqueuses de la face** a été observée chez des **cerfs de virginie** infectés expérimentalement (Richards, 1956).

- Cornets nasaux

Une **hyperhémie** et des **pétéchies** ont été observées chez un jeune **cerf rouge** infecté expérimentalement (Richards, 1956).

- Sinus

Des **pétéchies** sur le sinus frontal ont été observées chez un jeune **cerf rouge** infecté expérimentalement.

3.2.4.2. Tractus respiratoire

- Pharynx

Des **pétéchies** et des **ecchymoses** ont été observées chez un jeune **cerf rouge** infecté expérimentalement (Richards, 1956).

- Larynx, trachée

Des **hémorragies disséminées** ont été observées chez un **jeune cerf rouge** infecté expérimentalement (Richards, 1956).

- Poumon

Une **congestion pulmonaire** a été observée chez un **cerf de virginie** et un jeune **cerf rouge** infectés expérimentalement (Richards, 1956).

3.2.4.3. Tube digestif

- Préestomacs

De **nombreuses pétéchies** localisées sur les préestomacs ont été observées chez un **cerf de virginie** infecté expérimentalement (Richards, 1956).

- Caillette

Une **gastrite** modérée a été observée sur un **cerf rouge** infecté expérimentalement (Richards, 1956).

3.2.4.4. Autres organes

- Vessie

Un épaissement de la paroi vésicale et une **cystite** légère à sévère, avec quelques cas d'ulcères, ont été observés chez des **cerfs rouges** infectés expérimentalement (Richards, 1956).

- Foie

Une **cholangite**, avec une bile foncée épaissie, a été observée chez un **pronghorn** infecté expérimentalement (Richards, 1956).

IV. ANALYSE PHYLOGÉNÉTIQUE DES PESTIVIRUS ISOLÉS CHEZ LES ANIMAUX SAUVAGES

Les méthodes de génétique moléculaire telles que la RT-PCR et le séquençage rapide des acides nucléiques couplées avec un logiciel d'analyse phylogénétique ont contribué de façon significative à l'identification de nouveaux pestivirus et à leur génotypage.

Ainsi, les pestivirus des animaux domestiques sont divisés en **trois espèces** : le **CSFV**, le **BVDV** et le **BDV** (Paton, 1995).

Le dramatique épisode de BVD ayant touché les vaches aux **USA** et au **Canada** à la fin des **années 80** a permis d'identifier une nouvelle espèce de pestivirus : le **BVDV type 2** (Pellerin et al., 1995 ; Ridpath et al, 1994). De ce fait, le BVDV classique fut renommé **BVDV type 1**.

Une étude d'ensemble des séquences de nucléotides des **BVDV-1** isolés et collectés dans différents endroits du monde a révélé que cette espèce pouvait être divisée en **11 sous-groupes**: BVDV-1a ; BVDV-1b etc ... (Vilcek et al., 2001). De même le **BVDV-2** peut être divisé en **3 sous-groupes**, le **BDV** en **4 sous groupes** (BDV1, BDV2, BDV3, BDV4 ou pestivirus du chamois) et le **CSFV** en **3 sous-groupes**.

Ainsi, chez les animaux sauvages différents sous-groupes de pestivirus ont été isolés.

Tableau 3 : Liste de pestivirus isolés sur des animaux sauvages et leur génotypage (Vilcek et Nettleton, 2006).

Animal	pays d'origine	espèce/génotype/ Sous-type	Références
Sanglier	Autriche	CSFV 2.1	Hofmann et Bossy (1998)
	Autriche, Allemagne	CSFV 2.2	Biagetti et al. (2001)
	Italie, République tchèque		Fritzemeier et al. (2000)
			Bartak et Greiser-wilke (2000)
	Allemagne, Italie	CSFV 2.3	Bartak et Greiser-wilke (2000)
	République tchèque		Biagetti et al. (2001)
Buffle	Slovaquie		Fritzemeier et al. (2000)
			Lowings et al. (1999)
			Stadejek et al. (1997)
	Allemagne (Zoo)	BVDV-1	Becher et al. (1997)

Elan	Zimbabwe	BVDV-1	Vilcek et al. (2000)
Bison canadien	Canada	BVDV-1a, BVDV-1b	Deregt et al. (2005)
Alpaga	Royaume-Uni, USA	BVDV-1b	Foster et al. (2005) Goyal et al. (2002)
Pudu	Chili	BVDV-1b	Pizarro-Lucero et al. (2005)
Bongo	Allemagne	BVDV-1b	Becher et al. (1999)
Cerf	Nouvelle-zélande	BVDV-1c	Becher et al. (1999)
Chevreuil	Allemagne	BVDV-1d	Becher et al. (1999)
Chevrotain	Danemark	BVDV-1f	Grondahl et al. (2003)
Cerf	Grande-Bretagne	BVDV-1j	Becher et al. (1997, 1999) Vilcek et al. (2004)
Girafe	Kenya	Girafe pestivirus	Becher et al. (1997, 1999, 2003) Harasawa et al. (2000) Alvalos-Ramirez et al. (2001)
Renne	Allemagne	BDV-2	Alvalos-Ramirez et al. (2001) Becher et al. (1999, 2003)
Bison européen	Allemagne	BDV-2	Becher et al. (1999, 2003)
Isard	Andorre	BDV-4	Arnal et al. (2004)
Pronghorn	USA	Pronghorn génotype	Vilcek et al. (2005)

La taxonomie des pestivirus est très problématique. Ainsi, à l'intérieur du genre *Pestivirus* seulement quatre espèces sont couramment reconnues : le **BDV**, le **BVDV-1**, le **BVDV-2** et le **CSFV**. Cependant le « **girafe pestivirus** » est également considéré comme une tentative d'espèces (Thiel et al. 2005).

L'établissement des groupes de virus repose sur plusieurs critères

- relatifs aux **séquences de nucléotide**
- relatifs aux **sérologies**
- relatifs aux **hôtes d'origine**

Les pestivirus récemment décrits nécessitent plus de caractérisation pour établir leur classification finale. Pourtant, les séquences de nucléotides peuvent être rapidement générées et facilement comparées avec les séquences des pestivirus déjà connus. Par contre, l'étude d'ensemble relative aux sérologies est plus exigeante et est souvent un élément manquant pour établir la classification finale. Par ailleurs, l'hôte d'origine est un critère particulièrement pertinent car il permet de relier le virus à son hôte naturel.

Au vue du statut taxonomique incertain de nombreux pestivirus, le terme **espèce** de virus peut être utilisé pour décrire les 4 groupes reconnus plus le « Girafe - Pestivirus ».

Le mot **génotype** peut être utilisé pour décrire des virus ou des groupes de virus qui forment une **branche significative** dans l'arbre phylogénétique généré par des logiciels d'analyse de séquences de nucléotides.

Le terme **génogroupe** ou **sous-type** désigne quant à lui un **petit groupe** à l'intérieur d'un génotype. La description des génogroupes n'a pas vraiment d'application pratique. Elle est cependant utile pour établir la taxonomie des pestivirus et également pour étudier l'épidémiologie au niveau moléculaire (Vilcek et Nettleton, 2006).

4.1. Génotypage des CSFV isolés chez les animaux sauvages

Du fait de la grande importance économique de la peste porcine classique chez les porcs domestiques de nombreuses études ont été menées non seulement sur le typage antigénique mais également sur le génotypage des CSFV isolés dans différents pays du monde (Edwards et Sand, 1990).

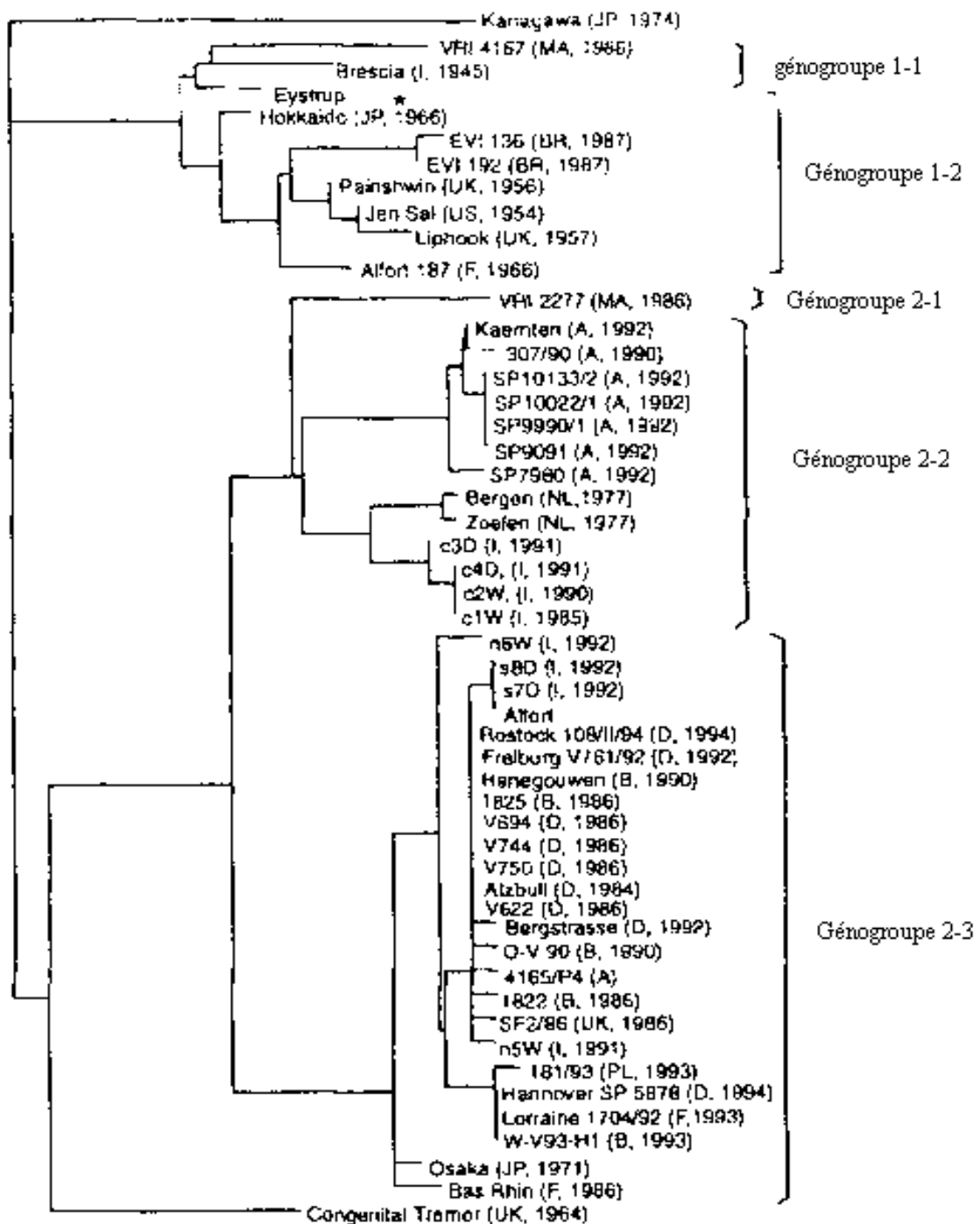
Tout d'abord, l'analyse de la séquence de nucléotides du fragment **5'UTR** permet de grouper les pestivirus en **trois espèces** à savoir le CSFV, le BVDV et le BDV (Hoffman et al., 1994).

Par ailleurs, un typage génétique plus précis basé sur l'analyse de séquences de nucléotides des gènes **E2** (gp 55) et **NS5b** (p75) a permis de classer 115 isolats de CSFV en **deux génotypes** 1 et 2, **cinq génogroupes** et **deux isolats disparates**.

Le génotype **CSFV 1** peut être divisée en **deux génogroupes** : 1.1 et 1.2 et le génotype **CSFV 2** en **trois génogroupes** : 2.1, 2.2, 2.3.

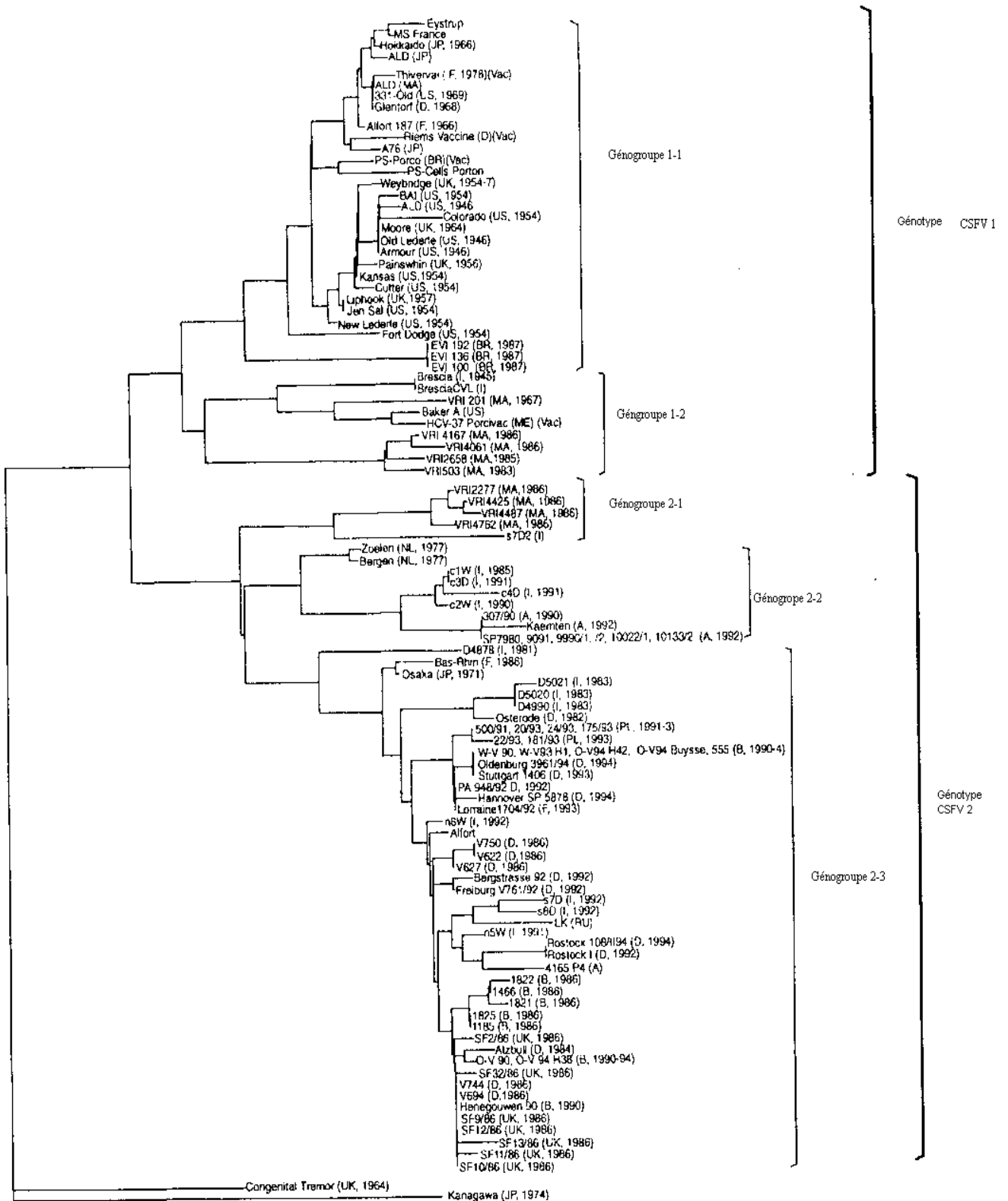
Deux souches de CSFV Congenital Tremor isolée au Royaume uni en 1964 et Kanagawa isolée au Japon en 1974 semblent disparates et n'entrent pas dans cette classification (Lowings et al., 1996).

Figure 16 : Arbre phylogénétique construit à partir de l'analyse d'une séquence de 210 nucléotides du gène NS5b de 115 isolats de CSFV (Lowings et al., 1996).



Abréviations : US : Etats-Unis ; JP : Japon ; F : France ; M.A : Malaisie D : Allemagne ; BR : Brésil ; UK : Royaume-Uni ; I : Italie ; A : Autriche ; PL : Pologne ; RU : Russie ; B : Belgique ; NL : Pays-bas ; ME : Mexique ; O-V : Oost Vlaanderen ; W-V : West Vlaanderen ; Vac : souche vaccinale

Figure 17 : Arbre phylogénétique construit à partir de l'analyse d'une séquence de 190 nucléotides du gène E2 de 115 isolats de CSFV (Lowings et al., 1996).



Une nouvelle nomenclature basée sur les analyses d'une séquence de 150 nucléotides de la région non transcrite 5'UTR, d'une séquence de 190 nucléotides du gène E2 et d'une séquence de 409 nucléotides du gène NS5b, divise finalement cette espèce de Pestivirus en **3 génotypes**. Chacun de ces génotypes est lui-même divisé en trois ou quatre génogroupes. Le génotype **CSFV 1** en **trois génogroupes**, le génotype **CSFV 2** en **trois génogroupes** également et le génotype **CSFV 3** en **quatre génogroupes** (Paton et al., 2000).

Toutes les souches de CSFV isolées sur des **sangliers** en **Europe** (Allemagne, Italie, Autriche, République Tchèque et Slovaquie) et typées appartiennent au génotype CSFV 2 et aux génogroupes **CSFV 2.2** et **CSFV 2.3** (Bartak et Greiser-Wilke, 2000 ; Biagetti et al., 2001 ; Fritzemeier et al., 2000 ; Lowings et al., 1999 ; Stadejek et al., 1997). Cependant, une souche de CSFV appartenant au génogroupe **CSFV 2.1** a été isolée sur un morceau de **viande de sanglier** importé de Chine vers l'Autriche en 1993 (Hoffman et Bossy, 1998).

Le typage génétique détaillé des isolats de CSFV, incluant les souches isolées sur les sangliers contribuent considérablement à l'étude épidémiologique de ce pestivirus et ainsi aide à l'élaboration de **programme d'éradication** de la peste porcine classique (Vicek et Nettleton, 2006).

Concernant l'étude génomique du CSFV, une **souche cytopathogène** rare a été isolée sur un sanglier en 1982 au Japon. Elle induit des effets cytopathogènes sur de nombreuses cellules porcines. Cette souche se compose en réalité de deux biotypes, un biotype mineur cytopathogène (WB82) et l'autre majeur, non cytopathogène (WB82/E⁺). (Aoki et al., 2001)

Des analyses RT-PCR et Northern blot ont révélé la présence d'ARN subgénomique en plus de la séquence complète d'ARN viral du CSFV dans les cellules ayant subies des effets cytopathogènes. Ces séquences d'ARN subgénomiques sont les génomes de particules interférentes défectueuses (defective interfering particules ou DI). Ces particules sont strictement dépendantes de virus « aides » (helper virus) et interfèrent avec la réplication de ces virus. Ces DI particules ont un génome délété de 4764 bases comprises entre les régions génomiques N^{pro} et NS2 du CSFV. Si on transfecte ces séquences subgénomiques à une cellule infectée par un virus non cytopathogène de la souche WB82/E⁺, des effets cytopathogènes sont observés. On obtient le même résultat sur des cellules infectées par des souches hétérologues non cytopathogènes de CSFV telles que les souches ALD ou GPE⁻ et transfectées par ces séquences subgénomiques. Ces résultats suggèrent que les souches non cytopathogènes de CSFV agissent en tant qu'helper virus pour la réplication des DI particules.

4.2. Génotypage des BVDV isolés chez les animaux sauvages

Le génotypage exact des souches de BVDV s'est fortement développé pour les souches isolées chez les animaux sauvages.

Des pestivirus appartenant à l'espèce BVDV-1 ont été isolés chez de nombreuses espèces sauvages, telles que :

- un buffle (Becher et al., 1997)
- un élan (Vilcek et al., 2000)
- un chevreuil (Fischer et al., 1998)
- un bongo (Becher et al., 1999)
- deux bisons canadiens (Deregt et al., 2005)
- un cerf (Becher et al., 1999)
- un chevrotain (Grondahl et al., 2003)
- deux alpagas (Goyal et al., 2002 ; Foster et al., 2005)

La souche de BVDV-1 isolée chez un **chevreuil** en 1998 appartient au génogroupe **BVDV-1d** (Fischer et al., 1998), alors que la souche isolée chez un **bongo** en 1999 appartient, elle, au génogroupe **BVDV-1b** (Becher et al., 1999).

Les souches de BVDV-1 isolées sur les deux **bisons canadiens** provenant de deux territoires distincts appartiennent aux génogroupes **BVDV-1a** et **BVDV-1b** (Deregt et al., 2005).

La souche isolée sur un **cerf** en Nouvelle-Zélande appartient au génogroupe **BVDV-1c**. (Becher et al., 1999)

Par contre une souche isolée sur un autre **cerf** en 1997 en Grande Bretagne, la souche **Deer-GB1** (Van Rijn et al., 1997), a d'abord formée un groupe distinct de pestivirus avant d'être classée dans l'espèce BVDV-1 (Becher et al., 1997, 1999) puis dans le génogroupe **BVDV-1j** (Vilcek et al., 2004).

Un pestivirus isolé chez un chevrotain en 2003 appartient au génogroupe **BVDV-1f**.

Un pestivirus isolé sur un alpaga nouveau né aux USA en 2002 appartient au génogroupe BVDV-1b (Goyal et al., 2002) et est similaire à un autre pestivirus isolé sur un alpaga de 7 mois au Royaume-Uni ayant des antécédents de diarrhée (Foster et al., 2005).

4.3. Génotypage des BDV isolés chez les animaux sauvages

4.3.1 BDV-2 isolé chez un renne

Le typage génétique de la souche isolée chez un **renne** en **Allemagne** en **1999** s'est avéré problématique. L'analyse des séquences 5'UTR, N^{pro} et E2 de cet isolat semble le placer dans l'arbre phylogénétique sur la même branche que le BDV. Cependant, la comparaison des séquences de nucléotides de cette souche **reindeer-1** et des souches de BDV ne permet pas de conclure si cette souche appartient à l'espèce des BDV ou si elle représente un nouveau génotype de pestivirus. (Becher et al., 1999).

En 2003, de nombreux isolats de pestivirus ovins furent génotypés en Allemagne. Cela a permis de diviser le BDV en trois génotypes le BDV-1, le BDV-2 et le BDV-3. En l'absence de nouveaux résultats, la souche reindeer-1 fut alors classée comme appartenant au génotype **BDV-2** (Becher et al., 2003).

Le génome de cette souche comprend **12 318 nucléotides** codant au total pour **3 895 acides aminés**. L'organisation de son génome est similaire à celle des génomes des autres pestivirus. La région non codante **5'UTR** se compose de **370 nucléotides**, contre 372 chez le BDV-1 et 373 chez le CSFV. La région **3'UTR** se compose, elle, de **260 nucléotides** avec une grande conservation de l'extrémité 3' (Avalos-Ramirez et al., 2001).

4.3.2. BDV-4 isolé chez un isard

Suite à un déclin de la population d'isard dans les Pyrénées des études visant à rechercher un agent responsable de ces mortalités ont été entreprises.

En effet, une étude a été menée dans le nord de l'Espagne, en **Catalogne**, entre **2001** et **2002**, suite à une épidémie survenue chez les isards dans cette région. Un déclin important de la population avait alors été observé. En effet 3 880 isards étaient recensés sur une superficie de 11 000 ha, en 2000, dans la réserve nationale de chasse de Alt Pallars en Catalogne, alors qu'en 2001 seulement 2 678 isards ont été enregistrés. (Hurtado et al., 2004)

17 isards de 1 à 11 ans d'âge ont été capturés dans cette région puis prélevés.

Des antigènes de pestivirus ont été mis en évidence par ELISA sandwich chez 16 d'entre eux. 13 sérums ont été analysés par ELISA de blocage, mais des anticorps dirigés contre le BVD et le BDV n'ont été mis en évidence chez aucun d'entre eux. Des RT-PCR ont également été

réalisées sur des échantillons de sangs, rates ou reins de 12 des 17 isards, elles ont mis en évidence la présence de pestivirus dans les organes de 8 isards.

Le pestivirus isolé dans cette étude appartient à l'espèce du **BDV**.

Une autre étude menée entre 2002 et 2003 a mis en évidence du BDV chez les isards.

Dans cette étude, 21 isards trouvés morts ou mourants, entre **2002** et **2003**, dans les **Pyrénées centrales** en France et en Espagne, ont été autopsiés. Des analyses immunohistochimiques ont révélé la présence de pestivirus dans les organes de 2 de ces 21 individus. Pour l'un d'entre eux du pestivirus a été mis en évidence dans sa rate, sa peau et dans son sérum (Arnal et al., 2004).

Le pestivirus isolé se développe mieux sur des cellules ovines que bovines. Par ailleurs, cette souche virale est plus efficacement neutralisée par un sérum contenant des anticorps dirigés contre le virus de la border disease qu'avec un sérum contenant des anticorps dirigés contre d'autres pestivirus. Enfin, des analyses RT-PCR ont mis en évidence de l'ARN de BDV chez ce virus.

Par contre la comparaison des séquences génomiques 5'-UTR, N^{pro} et E2 de cette souche et d'autres souches de BDV a montré que ce pestivirus n'appartient à aucun génotype de BDV connue jusqu'alors. Ainsi cette souche **chamois-1** forme un nouveau génotype de BDV appelée **BDV-4**.

4.4. Les pestivirus isolés chez les animaux sauvages formant de nouveaux groupes

4.4.1. Girafe-pestivirus

Comme le suggérait l'étude antigénique menée par Dekker et al. en 1995, le typage génétique de la souche **Girafe-1** isolée sur une girafe au Kenya en 1967 (Plowright, 1969) a confirmé que ce pestivirus est distinct des autres pestivirus. Ainsi sur un arbre phylogénétique cette souche est représentée par une branche distincte des branches auxquelles appartiennent les autres pestivirus (BVDV-1, BVDV-2, BDV, CSFV) (Harasawa et al., 2000 ; Becher et al., 1997, 1999). Cependant une autre souche de pestivirus, la souche **PG-2** isolée en Afrique, probablement sur un bovin, appartient à la même branche de l'arbre phylogénétique que ce **girafe-pestivirus** (Becher et al., 2003).

En **2001**, le génome complet de la souche cytopathogène Girafe-1 a été séquencé. Le résultat de ce séquençage confirme que ce virus représente un nouveau groupe de pestivirus (Avalos-Ramirez et al., 2001). Son génome est composé de **12 602 nucléotides** codant au total pour **3 989 acides aminés**. Une différence de longueur a été observée entre le génome du Girafe-1 et les génomes de pestivirus non cytopathogènes. Cette différence de longueur est en majorité liée à une insertion de **294 nucléotides** à l'intérieur de la région codante NS2. Cette insertion est pratiquement identique à celle décrite chez de nombreuses souches cytopathogènes de pestivirus telles que par exemple la souche NADL du BVDV-1. (Becher et al., 1996 ; Meyers et al., 1990). Cette séquence est en fait plus longue de 24 nucléotides (8 acides aminés) chez la souche Girafe-1 que chez la souche NADL.

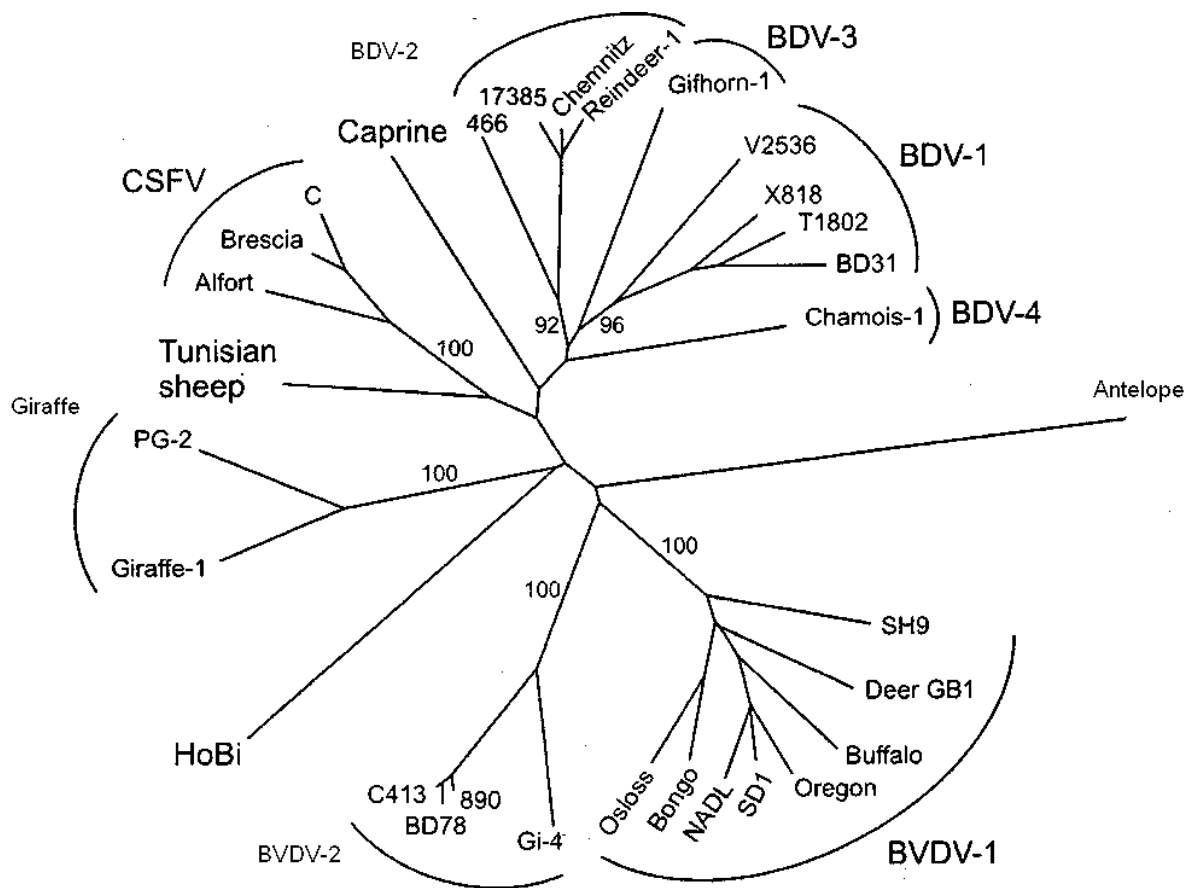
L'organisation du génome du girafe pestivirus est similaire à celle des autres pestivirus. La région non codante 5'UTR est composée de 382 nucléotides et la région 3'UTR composée de 250 nucléotides avec une grande conservation des 70 nucléotides de l'extrémité 3'.

4.4.2. Pronghorn-pestivirus

Un pestivirus a été isolé sur un pronghorn mort dans le **Wyoming** aux USA. Cette souche a été génotypée en 2005 par Vilcek et al.

L'analyse des fragments 5'UTR, N^{pro} et E2 du génome de ce virus a révélé qu'il est différent des autres pestivirus déjà connu. Ainsi, ce **pronghorn antilope pestivirus** (ou antelope pestivirus) forme un nouveau génogroupe de pestivirus (Vilcek et al., 2005).

Figure 18 : Arbre phylogénétique représentant tous les génotypes de pestivirus. Cet arbre est basé sur l'analyse de la séquence de nucléotides de la région N^{pro} (Vilcek and Nettleton, 2006).



V. TRANSMISSION DES PESTIVIRUS ENTRE FAUNES SAUVAGE ET DOMESTIQUE : CONSEQUENCES EPIDÉMIOLOGIQUES

Les pestivirus infectent un grand nombre d'espèces domestiques et sauvages et n'ont, pour la majorité d'entre eux, **pas de spécificité d'hôtes**.

Seul le CSFV présente une certaine spécificité d'hôte puisqu'il n'infecte que les porcs domestiques et les sangliers.

Le BVDV, en revanche infecte dans les conditions naturelles les bovins, ovins, caprins et de nombreuses autres espèces d'animaux sauvages (Pratelli et al., 2001).

Le BDV quant à lui infecte plus particulièrement les ovins et n'a été que rarement isolé chez les caprins, les porcs, les bovins et les isards (Becher et al., 1997 ; De mia et al., 2005).

5.2. Transmission inter espèces du CSFV

Les sangliers sont des réservoirs de **CSFV** et représentent une **source d'infection** non négligeable pour les **porcs domestiques**.

En effet, une étude menée en **Allemagne** a démontré que **46% des épidémies** de peste porcine ayant séviés chez les porcs, entre 1993 et 1997, étaient dues à des **contacts** directs ou indirects avec des **sangliers** (Fritzemeier et al., 2000).

Il a également été démontré que les contacts fréquents entre les porcs et les sangliers en **Sardaigne** sont une cause majeure d'épidémie de peste porcine dans cette île. De plus, le **mélange** des deux populations dans certaines zones de Sardaigne semble **faciliter la persistance** de la maladie (Laddomada et Patta et al., 1998).

Par ailleurs, la **viande de sanglier** peut également être une source d'infection non négligeable si elle n'est pas bien contrôlée. La preuve en a été fournie en 1993 en Autriche lorsque des viandes de sangliers en provenance de Chine et de Roumanie ont été contrôlées positives au CSFV (Krassnig et al., 1995).

Ainsi, les **contacts possibles** entre les porcs et les sangliers sont largement pris en compte lors de l'élaboration des **programmes d'éradication** de la peste porcine classique.

5.3. Transmission inter espèces du BVDV et du BDV

Des anticorps spécifiques du BVDV ont été mis en évidence chez de nombreuses espèces sauvages. Il est donc légitime de supposer que les animaux sauvages sont des réservoirs potentiels de BVD.

Ainsi, si une transmission est possible entre faunes domestique et sauvage elle doit être prise en compte dans les programmes d'éradication du BVD entrepris en Europe. Les zones de pâture communes entre les animaux sauvages et domestiques doivent être des points essentiels à surveiller.(Lindberg et Alenius, 1999).

Cependant, à l'heure actuelle **aucune certitude** n'existe quant à la **transmission du BVDV** entre espèces **domestiques** et **sauvages**.

Par exemple, en Autriche, en Bavière, où la prévalence du BVDV est forte chez les bovins, seulement un faible pourcentage (environ 2-3%) de cerfs se sont avérés séropositifs vis-à-vis de ce virus (Krametter et al., 2004 ; Schmitt et Wittowski, 1999).

En revanche, au Québec, des études sérologiques réalisées sur des caribous n'ayant plus aucun contact avec des bovins depuis plus d'un quart de siècle ont mis en évidence une forte prévalence (60 à 70%) de BVDV chez ces individus (Elazhary et al., 1981).

Par ailleurs, les souches **BVDV-2** et **BDV-1** n'ont **jamais été isolées** chez les **animaux sauvages**. A l'inverse de nombreuses souches de pestivirus isolées chez les animaux sauvages n'ont jamais été isolées chez les espèces domestiques comme par exemple le pronghorn pestivirus ou le BDV-4.

Cependant, on a récemment isolé en Allemagne une **souche de BDV-2**, similaire à la souche reindeer-1, chez un **ovin** (Vilcek et Nettleton, 2006).

Par ailleurs, une étude a été menée dans un zoo de Copenhague afin d'étudier les transmissions possible du BVD entre espèces sauvages et domestiques. Un chevrotain de ce zoo s'est avéré infecté permanent par la souche BVDV-1f. Deux vaches indemnes de BVD ont alors été placées dans l'enclos voisin de cet individu. Seuls des contacts indirects étaient possibles entre les vaches et le chevrotain. Du BVDV a été mis en évidence dans le sang d'une des deux vaches 8 jours après le début de l'expérience. La comparaison d'une séquence de 247 bases du génome du virus isolé sur le chevrotain et sur cette vache a montrée 100% d'homologie. Ainsi, il semble que le BVDV ait été transmis du chevrotain à cette vache à travers des contacts indirects.

Compte tenu de la forte prévalence du BVDV et de la fréquence relativement élevée d'infectés permanents immunotolérants chez les espèces domestiques, il semble que les animaux domestiques ont plus de chance d'infecter les espèces sauvages que l'inverse. Cependant trop peu d'études concernant cette question ont été menées jusqu'à présent pour affirmer cette supposition. Mais à l'heure actuelle, avec le développement des méthodes d'analyse de séquences de nucléotides, il sera de plus en plus facile d'étudier les transmissions inter espèces de pestivirus (Vilcek et Nettleton, 2006).

CONCLUSION

A l'intérieur du genre pestivirus, cinq espèces sont jusqu'alors couramment reconnues, le CSFV, le BVDV-1, le BVDV-2, le BDV et le girafe pestivirus. Mais de nouveaux géotypes ont été récemment mis en évidence par des analyses phylogéniques comme le BDV-2, le BDV-3 le BDV-4 et le ponghorn pestivirus.

Les pestivirus peuvent franchir la barrière d'espèce, seul le CSFV semble avoir une spécificité d'hôte puisqu'il n'infecte que les porcs domestiques et les sangliers. Le BVD et le BDV quant à eux infectent un grand nombre de ruminants sauvages et domestiques.

Jusqu'à présent, six espèces ou géotype de pestivirus ont été mis en évidence chez les animaux sauvages, le CSFV, le BVDV-1, le BDV-2, le BDV-4, le girafe-pestivirus et le pronghorn-pestivirus.

Ainsi, le CSFV et le BVDV-1 ont été identifié à la fois chez les animaux sauvages et domestiques, de même une souche similaire au BDV-2 (circulant chez les rennes) a été isolé chez des ovins.

La transmission du CSFV entre les sangliers et les porcs domestiques a été démontrée, en revanche à l'heure actuelle aucune certitude n'existe quant à la transmission du BVDV et du BDV entre espèces domestiques et sauvages.

Le faible recul sur l'identification des souches de pestivirus circulant chez les animaux sauvages laisse suggérer que toutes les espèces de pestivirus n'ont pas encore étaient identifiées.

Ainsi, les pestivirus peuvent infecter un grand nombre d'espèces domestiques et sauvages avec de très bonnes adaptations et stratégies de survie.

La surveillance des pestivirus circulant chez les animaux sauvages est cruciale, la transmission inter espèce du BVDV et du BDV même si elle n'est pas à démontrée à l'heure actuelle reste une hypothèse à ne pas écarter. Ces transmission inter espèces doivent être prises en compte dans les programmes d'éradication de la diarrhée virale bovine, de la border disease et de la peste porcine classique.

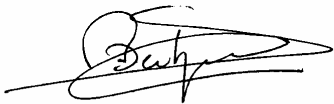
AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
Melle Laure, Marie, MASOUNAVE
a été admis(e) sur concours en : 2002
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 12 Juillet 2007
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.


AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, Stéphane BERTAGNOLI, Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :
Melle Laure, Marie, MASOUNAVE
intitulée :
« Les pestivirus chez les animaux sauvages-étude bibliographique »

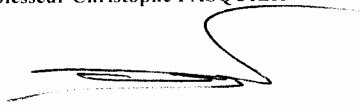
Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Docteur Stéphane BERTAGNOLI




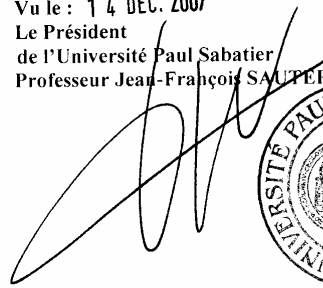
Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON



Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Christophe PASQUIER



Vu le : 14 DEC. 2007
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUPÉREAU



BIBLIOGRAPHIE

ALBINA E, MESPLÈDE A, CHENUT G, LE POTIER MF, BOURBAO G, LE GAL S, LEFORBAN Y - A serological survey on classical swine fever (CSF), Aujeszky's disease (AD) and porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infections in French wild boars from 1991 to 1998. *Vet Microbiol.*, 2000 Nov 15 ; 77(1-2):43-57

AOKI H, ISHIKAWA K, SAKODA Y, SEKIGUCHI H, KODAMA M, SUZUKI S, FUKUSHO A. Characterization of classical swine fever virus associated with defective interfering particles containing a cytopathogenic subgenomic RNA isolated from wild boar. 2001. *J Vet Med Sci.* Jul ; 63(7):751-8.

ARNAL M, FERNANDEZ-DE-LUCO D, RIBA L, MALEY M, GILRAY J, WILLOUGHBY K, VILCEK S, NETTLETON PF.- A novel pestivirus associated with deaths in Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*). *J Gen Virol.*, 2004 Dec ; 85(Pt 12):3653-7.

AVALOS-RAMIREZ R, ORLICH M, THIEL HJ, BECHER P. Evidence for the presence of two novel pestivirus species. *Virology.* 2001 Aug 1 ; 286(2):456-65.

BARADEL J.M, BARRAT J., BLANCOU J., BOUTIN J.M., CHASTEL C., DENNACHER G., DELORME D., GERARD Y., GOURREAU J.M., KIHM U., LARENAUDIE B., LE GOFF C., PASTORET P.P., PERREAU P., SCHWERS A., THIRY E., TRAP D., UILENBERG G., VANNIER P., Résultats of a serological survey of wild mammals in France. *Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz.*, 1988 ; 7, 873-883

BARLOW R.M., RENNIE J.C., GARDINER A.C., VANTSIS J.T.- infection of pregnant sheep with the NADL strain of BDV and their subsequent challenge with Border disease. *J. Comp. Path.*, 1980 ; 90, 67-72.

BARTAK P, GREISER-WILKE I. Genetic typing of classical swine fever virus isolates from the territory of the Czech Republic. *Vet Microbiol.* 2000 Nov 15 ; 77(1-2):59-70.

BECHER P, AVALOS RAMIREZ R, ORLICH M, CEDILLO ROSALES S, KONIG M, SCHWEIZER M, STALDER H, SCHIRRMIEIER H, THIEL HJ. - Genetic and antigenic characterization of novel pestivirus genotypes: implications for classification. *Virology*. 2003 Jun 20 ; 311(1):96-104.

BECHER P, MEYERS G, SHANNON AD, THIEL HJ. - Cytopathogenicity of border disease virus is correlated with integration of cellular sequences into the viral genome. *J Virol*. 1996 May ; 70(5):2992-8.

BECHER P, ORLICH M, KOSMIDOU A, KONIG M, BAROTH M, THIEL HJ. - Genetic diversity of pestiviruses: identification of novel groups and implications for classification. *Virology*. 1999 Sep 15 ; 262(1):64-71.

BECHER P, ORLICH M, SHANNON AD, HORNER G, KONIG M, THIEL HJ. - Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. *J Gen Virol*. 1997 Jun ; 78 (Pt 6):1357-66.

BELKNAP EB, COLLINS JK, LARSEN RS, CONRAD KP.- Bovine viral diarrhoea virus in New World camelids. *J Vet Diagn Invest*. 2000 Nov ; 12(6):568-70.

BIAGETTI M, GREISER-WILKE I, RUTILI D. - Molecular epidemiology of classical swine fever in Italy. *Vet Microbiol*. 2001 Nov 26 ; 83(3):205-15.

BORCHERS K, BRACKMANN J, WOLF O, RUDOLPH M, GLATZEL P, KRASINSKA M, KRASINSKI ZA, FROLICH K. - Virologic investigations of free-living European bison (*Bison bonasus*) from the Bialowieza Primeval Forest, Poland. *J Wildl Dis*. 2002 Jul ; 38(3):533-8.

CELEDON M., SANDOVAL A., DROUGUETT J., CALFIO, ASCENCIO L., PIZZARO J., NAVARRO C., Survey for antibodies to pestivirus and herpesvirus in sheep, goats, alpacas (*Lama pacos*), llamas (*Lama glama*), guanacos (*Lama guanicoe*) and vicuna (*Vicugna vicugna*) from Chile.- *Arch.Med.Vet.*, 200 ; 33, 165-172

COUVILLO C.E., JENNEY E.W., PEARSON J.E., COKER M.E., Survey for antibodies to viruses of bovine virus diarrhea, bluetongue, and epizootic hemorrhagic disease in hunter-killed mule deer in New Mexico, J. Am. Vet. Med. Assoc, 1980 ; 177:790-791

DARBYSHIRE J.H. - Agar gel diffusion studies with a mucosal disease of cattle. A serological relationship between mucosal disease and swine fever. Research in veterinary science, 1962 ; 3: 125-128.

DE MIA GM, GREISER-WILKE I, FELIZIANI F, GIAMMARIOLI M, DE GIUSEPPE A. - Genetic characterization of a caprine pestivirus as the first member of a putative novel pestivirus subgroup. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2005 Jun ; 52(5):206-10.

DEKKER A, WENSVOORT G, TERPSTRA C. - Six antigenic groups within the genus pestivirus as identified by cross neutralization assays. Vet Microbiol. 1995 Dec ; 47(3-4):317-29.

DEPNER K, HUBSCHLE OJ, LIESS B. - Prevalence of ruminant pestivirus infections in Namibia. Onderstepoort J Vet Res. 1991 Jun ; 58(2):107-9.

DEPNER KR, MULLER T, LANGE E, STAUBACH C, TEUFFERT J.- Transient classical swine fever virus infection in wild boar piglets partially protected by maternal antibodies. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 2000 Feb ; 107(2):66-8.

DEREGT D, TESSARO SV, BAXI MK, BEREZOWSKI J, ELLIS JA, WU JT, GILBERT SA. - Isolation of bovine viral diarrhoea viruses from bison. Vet Rec. 2005 Oct 8 ; 157(15):448-50.

DICKINSON A.G., BARLOW R.M.- The demonstration of transmissibility of Border disease of sheep. Vet. Rec., 1967 ; 81, 114.

DOYLE LG, HEUSCHELE WP.- Bovine viral diarrhoea virus infection in captive exotic ruminants. J Am Vet Med Assoc. 1983 Dec 1 ; 183(11):1257-9.

EDWARDS S, SANDS JJ.- Antigenic comparisons of hog cholera virus isolates from Europe, America and Asia using monoclonal antibodies. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 1990 Feb ; 97(2):79-81.

ELAZHARY M.A., FRECHETTE J.L., SILIM A., ROY R.S., Serological evidence of some bovine viruses in the caribou (*Rangifer tarandus caribou*) in Quebec., 1981 ; 17, 609-612.

ELAZHARY M.A., ROY R.S., FRECHETTE J.L., Serological evidence of IBR and BVD infection in Caribou (*Rangifer tarandus*), Vet.Rec, 1979 ; 105, 336

ELAZHARY MA, FRECHETTE JL, SILIM A, ROY RS. - Serological evidence of some bovine viruses in the caribou (*Rangifer tarandus caribou*) in Quebec. J Wildl Dis. 1981 Oct ; 17(4):609-12

ELBERS AR, DEKKERS LJ, VAN DER GIESSEN JW. - Sero-surveillance of wild boar in The Netherlands, 1996-1999. Rev Sci Tech. 2000 Dec ; 19(3):848-54.

ELBERS K., TAUTZ N., et al. - Processing in the pestivirus E2-NS2 region : identification of proteins p7 and E2p7. Journal of virology, 1996, 70 : 4131-4135

FISCHER S, WEILAND E, FROLICH K. - Characterization of a bovine viral diarrhea virus isolated from roe deer in Germany. J Wildl Dis. 1998 Jan ; 34(1):47-55.

FLAMANT S. – les pestiviroses dans les populations de chevreuils (*Capreolus capreolus*) en France –Thèse vétérinaire, 10 janvier 2006 ; Lyon.

FOSTER AP, HOULIHAN M, HIGGINS RJ, ERRINGTON J, IBATA G, WAKELEY PR. - BVD virus in a British alpaca. Vet Rec. 2005 May 28 ; 156(22):718-9.

FRITZEMEIER J, TEUFFERT J, GREISER-WILKE I, STAUBACH C, SCHLUTER H, MOENNIG V. - Epidemiology of classical swine fever in Germany in the 1990s. Vet Microbiol. 2000 Nov 15 ; 77(1-2):29-41.

FROLICH K, FLACH EJ. - Long-term viral serology of semi-free-living and captive ungulates. *J Zoo Wildl Med.* 1998 Jun ; 29(2):165-70.

FROLICH K, HOFMANN M. - Isolation of bovine viral diarrhea virus-like pestiviruses from roe deer (*Capreolus capreolus*). *J Wildl Dis.* 1995 Apr ; 31(2):243-6.

FROLICH K, STREICH WJ. - Serologic evidence of bovine viral diarrhea virus in free-ranging rabbits from Germany. *J Wildl Dis.* 1998 Jan ; 34(1):173-8.

FROLICH K. - Bovine virus diarrhea and mucosal disease in free-ranging and captive deer (*Cervidae*) in Germany. *J Wildl Dis.* 1995 Apr ; 31(2):247-50.

FRÖLICH KAI, JUNG SANDRA, LUDWIG ARNE, LIECKFELDT DIETMAN, GIBERT PHILIPPE, GAUTHIER DOMINIQUE, HARS JEAN - Detection of a newly described pestivirus of Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) in France. *Journal of Wildlife disease*, 2005 ; 41(3), 606-610.

GARDINER A.C., BARLOW R.M., RENNIE J.C., KEIR W.A.- Experiments in Border disease. 5 preliminary investigations on the nature of the agent. *Journ. Comp. Path.*, 1972 ; 82, 159-161.

GIOVANNINI A, CANCELLOTTI FM, TURILLI C, RANDI E. - Serological investigations for some bacterial and viral pathogens in fallow deer (*Cervus dama*) and wild boar (*Sus scrofa*) of the San Rossore Preserve, Tuscany, Italy. *J Wildl Dis.* 1988 Jan ; 24(1):127-32.

GOYAL SM, BOULJIHAD M, HAUGERUD S, RIDPATH JF. - Isolation of bovine viral diarrhea virus from an alpaca. *J Vet Diagn Invest.* 2002 Nov ; 14(6):523-5.

GRONDAHL C, UTTENTHAL A, HOUE H, RASMUSSEN TB, HOYER MJ, LARSEN LE. -Characterisation of a pestivirus isolated from persistently infected mousedeer (*Tragulus javanicus*). *Arch Virol.* 2003 Aug ; 148(8):1455-63.

HAMBLIN C, HEDGER RS. - The prevalence of antibodies to bovine viral diarrhoea/mucosal disease virus in African wildlife. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 1979 ; 2(2-3):295-303.

HAMERS C., DEHAN P., COUVREUR B., LETELLIER C., KERKHOFS P. et PASTORET P. - Diversity among bovine pestiviruses. *The Veterinary Journal*, 2001 ; 161. 112-122.

HARASAWA R, GIANGASPERO M, IBATA G, PATON DJ. - Giraffe strain of pestivirus: its taxonomic status based on the 5'-untranslated region. *Microbiol Immunol.* 2000 ; 44(11):915-21.

HOFMANN M, BOSSY S. - Classical swine fever in 1993 in Switzerland: molecular-epidemiologic characterization of the virus isolate. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 1998 ; 140(9):365-70.

HOFMANN MA, BRECHTBUHL K, STAUBER N. - Rapid characterization of new pestivirus strains by direct sequencing of PCR-amplified cDNA from the 5' noncoding region. *Arch Virol.* 1994 ; 139(1-2):217-29

HUCK R.A., EVANS D.H., WOUNDS D.G., KING A.A., STUART P., SHAW I.G.- Border disease in sheep: comparison of the results of serological testing using complement fixation, immunodiffusion, neutralization, and immunofluorescent techniques. *Bull. Vet. J.* , 1975 ; 71, 313-317.

HUGUES L.E., KERSHAW G.F. ET SHAW I.G. - "B" or Border Disease. An undescribed disease of sheep. *Veterinary Record*, 1959 ; 71: 313-317

HURTADO A, ADURIZ G, GOMEZ N, OPORTO B, JUSTE RA, LAVIN S, LOPEZ-OLVERA JR, MARCO I. - Molecular identification of a new pestivirus associated with increased mortality in the Pyrenean Chamois (*Rupicapra Pyrenaica pyrenaica*) in Spain. *J Wildl Dis.* 2004 Oct ; 40(4):796-800.

JEFFREY M., WELLS G.A.H.- Immunohistochemical topography and cellular localization of BDV in the central nervous system in experimental Border disease of sheep. *Neuropath and applied Neurobiol.*, 1989 ; 15, 590-591.

JEFFREY M., WELLS G.A.H., BRIDGES A.W., SANDS J.J.- Immunocytochemical localization of border disease virus in the spinal cord of foetal and newborn lambs. *Neur. Path. And Appl. Neurobiol.*, 1990 ; 16, 501-510.

JEMERSIC L, GREISER-WILKE I, BARLIC-MAGANJA D, LOJKIC M, MADIC J, TERZIC S, GROM J. - Genetic typing of recent classical swine fever virus isolates from Croatia. *Vet Microbiol.* 2003 Oct 8 ; 96(1):25-33.

JUBB K.V.P. ET KENNEDY P.C. - *Pathology of domestic animals*, 1963 ; 2: 12-21.

KADEN V, HEYNE H, KIUPEL H, LETZ W, KERN B, LEMMER U, GOSSGER K, ROTHE A, BOHME H, TYRPE P. - Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: concluding analysis of the recent field trials in Germany. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2002 May-Jun ; 115(5-6):179-85.

KADEN V, RENNER C, ROTHE A, LANGE E, HANEL A, GOSSGER K. - Evaluation of the oral immunisation of wild boar against classical swine fever in Baden-Wurttemberg. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2003 Sep-Oct ; 116(9-10):362-7.

KADEN V, ZIEGLER U, LANGE E, DEDEK J. - Classical swine fever virus: clinical, virological, serological and hematological findings after infection of domestic pigs and wild boars with the field isolate "Spante" originating from wild boar. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2000 Nov-Dec ; 113(11-12):412-6.

KRAMETTER R, NIELSEN SS, LOITSCH A, FROETSCHER W, BENETKA V, MOESTL K, BAUMGARTNER W. - Pestivirus exposure in free-living and captive deer in Austria. *J Wildl Dis.* 2004 Oct ; 40(4):791

KREY T., THIEL H.J. ET RUMENAPF T. – Acid-resistant bovine pestivirus requires activation for pH-triggered fusion during entry. *J. Virol*, 2005 ; 79(7) : 4191-200.

LADDOMADA A.,- Incidence and control of CSFV in wild boar in Europe., *Vet . microbiol.*, 2000 ; 73, 121-130

LADDOMADA A., PATTA C., OGGIANO A., CACCIA A., RUIU A., COSSU P., FIRINU A._ Epidemiology of classical swine fever in Sardinia : a serological survey of wild boar and comparison with African swine fever, *Vet.Rec.*, 1994 ;134, 183-187

LAZAR C. ET AL. – The pestivirus E(rns) glycoprotein interacts with E2 in both infected cells and mature virions. *Virology*, 2003 ; 314 (2) : 696-705.

LEE Y.M ET AL. – Dual mechanisms of pestiviral superinfection exclusion at entry and RNA replication. *J.Virol*, 2005 ; 79 (6) : 3231-42.

LILLEHAUG A, VIKOREN T, LARSEN IL, AKERSTEDT J, THARALDSEN J, HANDELAND K. - Antibodies to ruminant alpha-herpesviruses and pestiviruses in Norwegian cervids.*J Wildl Dis*. 2003 Oct ; 39(4):779-86.

LINDBERG AL, ALENIUS S. - Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations.*Vet Microbiol*. 1999 Jan ; 64(2-3):197-222.

LOKEN T.- Experimental pestivirus infections in newborn goats kids. *J. Comp. Path.*, 1990 ; 103, 277-288.

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

LOWINGS P, IBATA G, DE MIA GM, RUTILI D, PATON D. - Classical swine fever in Sardinia: epidemiology of recent outbreaks.*Epidemiol Infect*. 1999 Jun ; 122(3):553-9.

LOWINGS P, IBATA G, NEEDHAM J, PATON D.- Classical swine fever virus diversity and evolution.*J Gen Virol*. 1996 Jun ; 77 (Pt 6):1311-21.

MEYER G.- Sérologie et virologie bovine. Séminaires internes. Toulouse, Juin 2007 ; ENVT

MILLET S. - Contribution à l'étude des communautés antigéniques du virus de l'hépatite C humaine et des pestivirus bovins. *Th medecine vétérinaire*, 1999 ; Alfort

MOENNIG V. - Introduction to classical swine fever: virus, disease and control policy. *Vet Microbiol.* 2000 Apr 13 ; 73(2-3):93-102.

MOTHA MX, THAM KM. - Pestivirus infection in a llama (*Llama glama*). *N Z Vet J.* 1992 Sep ; 40(3):126.

NETTLETON P.F., ENTRICAN G.- Ruminant pestiviruses, *Br. Vet. J.*, 1995 Nov-Dec ; 151(6):615-42.

NETTLETON PF, HERRING JA, CORRIGALL W. - Isolation of bovine virus diarrhoea virus from a Scottish red deer. *Vet Rec.* 1980 Nov 1 ; 107(18):425-6.

NETTLETON PF. - Pestivirus infections in ruminants other than cattle. *Rev Sci Tech.* 1990 Mar ; 9(1):131-50.

NIELSEN SS, ROENSHOLT L, BITSCH V. - Bovine virus diarrhoea virus in free-living deer from Denmark. *J Wildl Dis.* 2000 Jul ; 36(3):584-7.

OIE. Manual of standards diagnostic tests and vaccines ; 2000

OLAFSON P., MAC CALLU A.D. ET BITSCH V. - An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet*, 1946 ; 36: 205-213.

OLDE RIEKERINK RG, DOMINICI A, BARKEMA HW, DE SMIT AJ. - Seroprevalence of pestivirus in four species of alpine wild ungulates in the High Valley of Susa, Italy. *Vet Microbiol.* 2005 Jul 1 ;108(3-4):297-303.

PATON D.J, LOWINGS J.P. ET BARRET A.D.T. - Epitope mapping of the gp53 envelope protein of bovine viral diarrhoea virus. *Arch. Virology*, 1992 ; 190: 763-772.

PATON DJ, MCGOLDRICK A, GREISER-WILKE I, PARCHARIYANON S, SONG JY, LIOU PP, STADEJEK T, LOWINGS JP, BJORKLUND H, BELAK S. - Genetic typing of classical swine fever virus. *Vet Microbiol.* 2000 Apr 13 ; 73(2-3):137-57.

PATON, D.J. - pestivirus diversity, *J.Cop.Pathol.*, 1995 ; 112, 215-236.

PELLERIN C, MOIR S, LECOMTE J, TIJSSEN P. Comparison of the p125 coding region of bovine viral diarrhoea viruses. *Vet Microbiol.* 1995 Jun ; 45(1):45-57.

PELLERIN C, VAN DEN HURK J, LECOMTE J, TUSSEN P. Identification of a new group of bovine viral diarrhoea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities. *Virology.* 1994 Sep ; 203(2):260-8.

PIZARRO-LUCERO J, CELEDON MO, NAVARRO C, ORTEGA R, GONZALEZ D. - Identification of a pestivirus isolated from a free-ranging pudu (*Pudu puda*) in Chile. *Vet Rec.* 2005 Sep 3 ; 157(10):292-4.

PLANT J.W., LITTLEJOHNS I.E., GARDINER A.C., VANTISIS J.T. ET HUCK R.A. - Immunological relationship between border disease, mucosal disease and swine fever. *Veterinary record*, 1973 ; 92: 455-461.

PLANTE A. ET AL. – The glycosylation pattern of baculovirus expressed envelope protein E2 affects its ability to prevent infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Res*, 2005 ; 114(1-2) : 54-62.

PRATELLI A, MARTELLA V, CIRONE F, BUONAVOGLIA D, ELIA G, TEMPESTA M, BUONAVOGLIA C. - Genomic characterization of pestiviruses isolated from lambs and kids in southern Italy. *J Virol Methods.* 2001 May ; 94(1-2):81-5.

RADOSTIS O.M., GAY C.C., BLOOD D.C., HINCHCLIFF K.W.- Bovine virus diarrhoea. Mucosal disease. Bovine Pestivirus Disease Complex. *Veterinary medicine. A textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horse.* W.B. Saunders company; 2000.p

RAMSEY F.K. ET CHIVERS W.H. - Mucosal Disease of cattle. *North American Veterinary*, 1953 ; 34: 629-634.

REYNAL J.- Etude sérologique de maladies abortives non réglementées chez les isards et les ovins de la réserve de chasse et de la faune sauvage d'Orlu (09). 2004. Thèse vétérinaire. Toulouse

RIDPATH J.F., BOLIN S.R., DUBOVI E.J - Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes, *Virology*, 1994 ; 205, 66-74.

RIVERA H., MADEWELL B.R., AMEGHINO E., Serologic survey of viral antibodies in peruvian alpaca (*Lama pacos*). *Am.J.Vet.Res*48, 1987 ;189-191

ROEDER P.L., DREW T.W.- Persistence in tissues of Border disease virus antigen demonstrable by immunofluorescence. *Rest. Vet. Sci.*, 1980 ; 29, 394.

RUMENAPF T., UNGER G. et al - Processing of the envelope glycoprotein of pestivirus. *Journal of Virology*, 1993 ; 6 : 3288-3294.

SADI L, JOYAL R, ST-GEORGES M, LAMONTAGNE L. - Serologic survey of white-tailed deer on Anticosti Island, Quebec for bovine herpesvirus 1, bovine viral diarrhoea, and parainfluenza 3. *J Wildl Dis.* 1991 Oct ; 27(4):569-77.

SCHELCHER F.- cour D3 BVD, Toulouse ; 2006

SCHELCHER F., BARRANOWSKI E., FOUCRAS G., MEYER G.- Diagnostic de laboratoire de l'infection par le virus BVD : méthodes et mises en oeuvre. Journées nationales des GTV. Dijon. 18 mai 2006 .

SCHIRRMIEIER H, STREBELOW G, DEPNER K, HOFFMANN B, BEER M. – Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species. *J Gen Virol.* 2004 Dec ; 85(Pt 12):3647-52.

SHAW I.G., WINKLER C.E., GIBBONS D.F., TERLECKI S., HEBERT C.N., PATTERSON D.S.P., DONE J.T.- Border disease of sheep vaccination of ewes before mating. *Vet. Rec.*, 1969 ; 84, 147-148.

STADEJEK T, VILCEK S, LOWINGS JP, BALLAGI-PORDANY A, PATON DJ, BELAK S. Genetic heterogeneity of classical swine fever virus in Central Europe. *Virus Res.* 1997 Dec ; 52(2):195-204.

STAUBER EH, AUTENRIETH R, MARKHAM OD, WHITBECK V. -A seroepidemiologic

survey of three pronghorn (*Antilocapra americana*) populations in southeastern Idaho, 1975-1977. *J Wildl Dis.* 1980 Jan ; 16(1):109-15.

TAYLOR SK, LANE VM, HUNTER DL, EYRE KG, KAUFMAN S, FRYE S, JOHNSON MR. Serologic survey for infectious pathogens in free-ranging American bison. *J Wildl Dis.* 1997 Apr ; 33(2):308-11.

TESSARO SV, CARMAN PS, DEREGT D.- Viremia and virus shedding in elk infected with type 1 and virulent type 2 bovine viral diarrhea virus. *J Wildl Dis.* 1999 Oct ; 35(4):671-7.

THABTI F, LETELLIER C, HAMMAMI S, PEPIN M, RIBIERE M, MESPLEDE A, KERKHOF P, RUSSO P. - Detection of a novel border disease virus subgroup in Tunisian sheep. *Arch Virol.* 2005 Feb ; 150(2):215-29. 2004 Dec 3.

THIEL H.J., COLLETT M.S., GOULD E.A., HEINZ F.X., HOUGHTON M., MEYERS G., PURCELL R.H., RICE C.M. - Flaviridae. In : Fauquet C.M., Mayo M.A, Maniloff J., Desselberg U., Ball L.A., (Eds.), *Virus taxonomy. Eighth report of the international Committee on taxonomy of viruses.* Elsevier Academic Press, 2005 ; pp. 981-998.

TURNER JC, PAYSON JB. - Prevalence of antibodies of selected infectious disease agents in the peninsular desert bighorn sheep (*Ovis canadensis cremnobates*) of the Santa Rosa Mountains, California. *J Wildl Dis.* 1982 Apr ; 18(2):243-5.

UTTENTHAL A, GRONDAHL C, HOYER MJ, HOUE H, VAN MAANEN C, RASMUSSEN TB, LARSEN LE.- Persistent BVDV infection in mousedeer infects calves. Do we know the reservoirs for BVDV? *Prev Vet Med.* 2005 Nov 15;72(1-2):87-91; discussion 215-9. 2005 Oct 6.

VALLET A., DARRACQ J.B., RENAULT J.C.- *Maladie des bovins*, Paris: édition France agricole, 2004 ; 319 p.

VAN CAMPEN H, RIDPATH J, WILLIAMS E, CAVENDER J, EDWARDS J, SMITH S, SAWYER H. - Isolation of bovine viral diarrhea virus from a free-ranging mule deer in Wyoming. *J Wildl Dis.* 2001 Apr ; 37(2):306-11.

VAN CAMPEN H, WILLIAMS ES, EDWARDS J, COOK W, STOUT G. - Experimental infection of deer with bovine viral diarrhoea virus. *J Wildl Dis.* 1997 Jul ; 33(3):567-73.

VAN RIJN PA, VAN GENNIP HG, LEENDERTSE CH, BRUSCHKE CJ, PATON DJ, MOORMANN RJ, VAN OIRSCHOT JT. - Subdivision of the pestivirus genus based on envelope glycoprotein E2. *Virology.* 1997 Oct 27 ; 237(2):337-48.

VANTISIS J.T., RENNIE J.C., GARDINER A.C., WELLS P.W., BARLOW R.M., MARTIN W.B.- Immunization against Border disease. *J. Comp. Path.*, 1980 ; 90, 349-354.

VANTSIS J.T, BARLOW R.M, GARDENER A.C, LINKLATER K.A - The effects of challenge with homologous strains of border disease virus on ewes with previous experience of Border disease. *J.Comp.Path.*, 1990 ; 90, 39-45

VANTSIS J.T., BARLOW R.M., FRASER J., RENNIE J.C., MOULD D.L.- Experiments in Border disease: VII: propagation and properties of a cytopathic virus. *J. Comp. Path.*, 1976 ; 86, 111-120.

VILCEK S, DURKOVIC B, KOLESAROVA M, GREISER-WILKE I, PATON D. - Genetic diversity of international bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates: identification of a new BVDV-1 genetic group. *Vet Res.* 2004 Sep-Oct ; 35(5):609-15.

VILCEK S, PATON DJ, ROWE LW, ANDERSON EC. - Typing of pestiviruses from eland in Zimbabwe. *J Wildl Dis.* 2000 Jan ; 36(1):165-8.

VILCEK S, RIDPATH JF, VAN CAMPEN H, CAVENDER JL, WARG J. - Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope. *Virus Res.* 2005 Mar ; 108(1-2):187-93.

VILCEK S. ET NETTLETON P.F. - Pestivirus in wild animals. *Veterinary Microbiology,* 2006 ; 116: 1-12.

VILCEK S., PATON D.J., DUKOVIC B., STROJNY L., IBATA G., MOUSSA A., LOITSCH G., ROSSMANITH W., VEGA S., SCICLUNA M.T., PALFI V. - Bovine viral

diarrhoea virus genotype 1 can be separated into 11 genetic groups. Arch. Virol., 2001 ; 146, 99-115.

WARD G.M.- Experimental infection of pregnant sheep with bovin diarrhoea- mucosal disease virus. Cornell Vet., 1971 ; 61, 179-191.

WARRENER P., COLLETS M.S. - Pestivirus NS3 (p80) protein possesses RNA helicase activity. Journal of virology, 1995 ; 3 : 1720-1726.

WEILAND F. ET AL. – Localization of pestivirus envelope proteins E(rns) and E2 at the cell surface and on isolated particles. J. Gen. Virol, 1999 ; 80(5) : 1157-65.

WENTZ PA, BELKNAP EB, BROCK KV, COLLINS J.K., PUGH D.G.- Evaluation of bovine viral diarrhoea virus in New World camelids. J Am Vet Med Assoc. 2003 Jul 15 ; 223(2):223-8.

ZAGHAWA A.- Prevalence of antibodies to BVD/MD and to Border disease virus in domestic ruminants. Zentralbl Veterinarmed, 1998 ; 45, 345-351.

