

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	13
PREMIÈRE PARTIE : Étude bibliographique	15
I. Le <i>BoHV-4</i> chez les bovins, revue de la littérature	17
A. Caractéristiques du virus, manifestations cliniques et épidémiologie	17
1. Nomenclature et classification du <i>BoHV-4</i>	17
a. <i>Hesperiviridae</i> , <i>gammaherpesvirinae</i> , <i>rhadinovirus</i>	17
b. Herpès viroses infectant les ruminants	18
c. Les différentes souches du <i>BoHV-4</i>	20
2. Caractéristiques de la particule virale	22
a. Morphologie	22
b. Génome	22
c. Glycoprotéines virales	23
d. Spectre d'hôtes in vitro	24
e. Propriétés physico-chimiques	25
3. Cycle infectieux	26
a. Cycle lytique	27
b. Cycle latent	27
4. Pathogénie de l'infection virale	28
a. Multiplication virale au site d'entrée et diffusion au sein de l'organisme hôte	29
b. Etablissement de la latence	29
5. Réponse immune	31
6. Épidémiologie	31
a. Espèces sensibles	31
b. Prévalence dans l'espèce bovine	33
c. Sources virulentes	36

d.	Modes de transmission	38
e.	Maintien de l'infection	39
B.	Pathologie et signes cliniques associés au <i>BoHV-4</i> chez les bovins.....	41
1.	Affections oculaires et respiratoires.....	42
2.	Lésions cutanées	42
3.	Troubles nerveux associés	43
4.	Coryza gangréneux	43
5.	Troubles associés au tractus digestif.....	44
6.	<i>BoHV-4</i> et troubles de la reproduction.....	45
a.	Infertilité chez le taureau.....	45
b.	Affections propres à la vache	46
C.	Méthodes de diagnostic.....	57
1.	Diagnostic de laboratoire	57
a.	Diagnostic indirect	57
b.	Diagnostic direct	60
2.	Détection du <i>BoHV-4</i> en cas de suspicion clinique	61
D.	Prophylaxie	63
1.	Prophylaxie sanitaire.....	63
2.	Prophylaxie médicale.....	65
E.	<i>BoHV-4</i> et santé publique	67
II.	Les avortements bovins en France.....	69
A.	Définitions légales	69
B.	Problématiques de la recherche « avortement bovin » en France.....	69
C.	Vers une démarche standardisée d'investigation.....	73

DEUXIÈME PARTIE : Enquête auprès des laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires	75
I. Intérêts et objectifs de l'enquête.....	77
II. Matériel et méthodes.....	79
A. Les interlocuteurs.....	79
1. Choix de l'interlocuteur	79
2. Choix de l'échantillon.....	79
B. Le questionnaire.....	81
1. Choix du support.....	81
2. Réalisation.....	81
3. Diffusion	82
4. Collecte et analyse des données	82
III. Résultats de l'enquête	83
A. À propos des LDA	83
1. Participation à l'étude	83
2. Profil d'activité des LDA ayant répondu	84
3. Les LDA impliqués dans la recherche du <i>BoHV-4</i>	86
B. Recherches « avortement bovin » menées aux LDA	87
1. Déclaration des avortements bovins dans ces départements.....	87
2. Taux d'élucidation des avortements bovins aux LDA.....	88
3. Protocoles avortement cheptel	89
a. Nombre de protocoles avortement cheptel suivis par les LDA.....	89
b. Description des protocoles avortement cheptel.....	90
C. Le <i>BoHV-4</i> dans les LDA	97
1. Entend-on parler du <i>BoHV-4</i> ?.....	97
2. Est-il l'objet de demandes de recherche de la part des vétérinaires praticiens ?	97
3. La recherche du <i>BoHV-4</i> au LDA.....	99

a.	Où le recherche-t-on ?	99
b.	Depuis quand ?	100
c.	À l'initiative de qui ?	100
d.	Dans quel contexte pathologique ?	101
e.	Avec quelles méthodes de laboratoire ?	102
f.	Sur quels prélèvements ?	102
g.	Coût des analyses	103
h.	Quel rôle lui attribuer ?	104
i.	Retour sur l'expérience des LDA qui recherchent le <i>BoHV-4</i>	105
4.	Le <i>BoHV-4</i> sera-t-il l'objet de futures investigations ?	106
TROISIÈME PARTIE : Discussion		109
I.	Limites de l'enquête	111
A.	Population ayant participé à l'enquête	111
B.	Protocole d'enquête	113
1.	Canal de communication : le formulaire en ligne	113
a.	Choix du canal de communication	113
b.	La diffusion	113
c.	Temps nécessaire pour le compléter	113
2.	À propos des questions du formulaire	114
C.	Résultats de l'enquête	117
1.	Présentation des résultats	117
2.	À propos de la qualité des réponses obtenues	117
II.	Mise en perspective des résultats de l'enquête	119
A.	Les recherches « avortement bovin » dans l'enquête, confrontation des résultats avec ceux de l'enquête ACERSA-GDS France 2010	119
1.	Taux de déclaration des avortements bovins	119
2.	Taux d'élucidation des avortements bovins	120

3. Actions standardisées de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements bovins	120
a. Nombre de départements.....	120
b. La variabilité de ces actions	120
c. Recherches étiologiques en première intention et le <i>BoHV-4</i>	121
d. Recherches étiologiques en seconde intention et le <i>BoHV-4</i>	122
B. Les acteurs départementaux sont-ils sensibilisés à la recherche du <i>BoHV-4</i> ?.....	123
CONCLUSION	127
BIBLIOGRAPHIE	129
ANNEXES.....	143

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : Structure du virion des herpesvirus (RACANIELLO et al., 2013)	17
FIGURE 2 : L'histoire de l'évolution des souches de BoHV-4 (DEWALS et al., 2006)	20
FIGURE 3 : Les différentes souches du BoHV-4 (VERNA et al., 2012)	21
FIGURE 4 : Image du BoHV-4 infectant des cellules fœtales pulmonaires bovines obtenue par microscopie électronique (GRAHAM et al., 2005)	24
FIGURE 5 : Devenir des cellules infectées par les gammaherpèsvirus (ACKERMANN, 2006) .	26
FIGURE 6 : Pathogénie de l'infection par le BoHV-4, tiré du cours de Virologie Vétérinaire de l'Université de Liège, 2e GMV, E. THIRY	28
FIGURE 7 : Les mécanismes à l'origine de l'infertilité associée aux affections utérines et à l'infection par le BoHV-4, d'après (SHELDON et al., 2009)	51
FIGURE 8 : Autres agents pathogènes présents dans les prélèvements d'avortement positifs au BoHV-4 (TREILLES et al., 2013)	53
FIGURE 9 : La réponse sérologique chez un taureau après infection expérimentale par le BoHV-4 (THIRY et al., 2000)	59
FIGURE 10 : D'après l'étude ACERSA-GDS France 2010, pour chaque maladie, le nombre de département procédant à une recherche en première intention	71
FIGURE 11 : D'après l'étude ACERSA-GDS France 2010, nombre de départements recherchant en seconde intention les agents abortifs suivants	71
FIGURE 12 : Les 50 départements ayant participé (en bleu) à l'enquête en ligne	83
FIGURE 13 : Les 47 départements (en bleu) correspondant aux LDA réalisant des recherches « avortement bovin » dans l'enquête en ligne	84
FIGURE 14 : D'après les formulaires exploitables et les communications courriel, les 16 départements réalisant des recherches BoHV-4 (rouge) parmi les 50 réalisant des recherches « avortement bovin » (bleu)	86
FIGURE 15 : Les 40 départements pris en compte pour le nombre d'avortements déclarés par an	87
FIGURE 16 : Nombre de départements et de LDA correspondant, réalisant des recherches étiologiques en première intention en cas de série d'avortements bovins	91
FIGURE 17 : Méthodes de laboratoires proposées lors des recherches en première intention .	92
FIGURE 18 : Nombre de départements et de LDA correspondant, réalisant des recherches étiologiques en seconde intention en cas de série d'avortements bovins	94
FIGURE 19 : Méthodes de laboratoires proposées pour la recherche en seconde intention	95
FIGURE 20 : Synthèse des réponses obtenues en Q17'	97
FIGURE 21 : Synthèse des réponses obtenues en Q17	98
FIGURE 22 : Synthèse des réponses obtenues en Q17' et Q17	98
FIGURE 23 : Les 15 départements ayant répondu au formulaire en ligne et réalisant des analyses BoHV-4 (rouge) parmi les 47 réalisant des recherches « avortement bovin » (bleu)	99
FIGURE 24 : Synthèse des réponses obtenues en Q18, exprimée en nombre de département .	100

FIGURE 25 : Synthèse des réponses obtenues en Q19, exprimée en nombre de département .	101
FIGURE 26 : Synthèse des réponses obtenues en Q20, exprimée en nombre de départements	102
FIGURE 27 : Synthèse des réponses obtenues en Q26.....	105
FIGURE 28 : Synthèse des réponses obtenues en Q16', exprimée en nombre de LDA	106
FIGURE 29 : Synthèse des réponses obtenues à la question Q18' (unité : LDA).....	107

LISTE DES TABLEAUX

<i>TABLEAU 1 : Principales caractéristiques des herpesvirus infectant les ruminants, d'après THIRY et THIRY (2011) modifié selon McGEOCH et al. (2005)</i>	19
<i>TABLEAU 2 : Détection du BoHV-4 par PCR chez des ruminants sauvages et domestiques en Hongrie (KALMAN et EGYED, 2006).....</i>	32
<i>TABLEAU 3 : Quelques caractéristiques des tests de diagnostic indirect utilisés dans la recherche du BoHV-4.....</i>	58
<i>TABLEAU 4 : Action inhibitrice d'agents anti-herpétiques sur la réplication in vitro du BoHV-4 (souche Tolakker) (WELLENBERG et al., 2002b).....</i>	65
<i>TABLEAU 5 : Adaptation automatique du formulaire en ligne selon les réponses des LDA.....</i>	82
<i>TABLEAU 6 : Nombre et type de questions en fonction du profil du LDA.....</i>	114

LISTE DES ABRÉVIATIONS

BoHV-4 : Herpèsvirus bovin de type 4
(Bovine Herpes Virus type 4)

CMS = Cellules Mononuclées Sanguines

c/ml : Cellules somatiques par millilitre

DICC 50 : Dose infectant 50% des cultures cellulaires

IA : Insémination Artificielle

ADN (*DNA*) : Acide Désoxyribo-Nucléique

pr-DNA : Polyrepétitive DNA

ORF : Open Reading Frames

OR : Odd Ratio

PCR = Polymerase Chain Reaction

Rt-PCR : Real-time Polymerase Chain Reaction

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

IV : Isolement Viral

SN : Test de Séro-Neutralisation

IFi : ImmunoFluorescence Indirecte

IETS : International Embryo Transfer Society

LDA (ou LVD) : Laboratoire Départemental d'Analyse Vétérinaire

LNR : Laboratoire National de Référence

DDCSPP : Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation

GDS : Groupement de Défense Sanitaire

GTV : Groupements Techniques Vétérinaires

ACERSA : Association pour la CERTification en Santé Animale

Anses : Agence de Sécurité sanitaire

ONIRIS : L'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes-Atlantique

OIE : Organisation mondiale pour la santé animale ou Office International des Epizooties

EBV : Epstein-Barr Virus

KSHV (ou HHV-8): Virus associé au sarcome de Kaposi ou Human Herpes Virus type 8

HVS : Herpes Virus Saimiri

MHV : Murine Herpes Virus

IBR-IPV : Complexe rhino trachéite infectieuse bovine, vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse

INTRODUCTION

L'herpèsvirus *BoHV-4* (Bovine HerpesVirus type 4) est un virus de découverte récente et de répartition mondiale. Il a été isolé à partir d'individus, bovins et non bovins, apparemment sains, ou atteints de maladies diverses. Quatre autres herpèsvirus, en plus du *BoHV-4*, affectent l'espèce bovine : les *BoHV-1*, 2, 5 et 6. Tous ces herpèsvirus sont à l'origine de maladies infectieuses et contagieuses dont les retombées économiques sont non négligeables.

La connaissance des caractéristiques du *BoHV-4* et de sa pathogénie dans l'organisme animal, plus particulièrement bovin, reste incomplète, tout comme sa réelle prévalence et son impact économique. Cependant, à l'heure actuelle, son implication dans les métrites aiguës puerpérales est établie, et il semble préférentiellement engendrer des pathologies de la reproduction chez les bovins domestiques. Son rôle en tant que pathogène secondaire, i.e. en association avec d'autres agents est de plus en plus documenté.

Le rôle du *BoHV-4* dans les avortements bovins est un sujet d'étude actuel tandis que le rôle abortif du *BoHV-1* est quant à lui bien documenté. L'étiologie infectieuse des avortements bovins est complexe et comprend des pathogènes viraux, bactériens ou fongiques, il est d'ailleurs assez fréquent en pratique de ne pouvoir en élucider la cause.

Peu de laboratoires départementaux d'analyses (LDA) français disposent d'outil(s) pour détecter le *BoHV-4*. Le praticien vétérinaire, quant à lui, ne dispose pas de thérapeutique spécifique face à ce virus et ne peut qu'appliquer des méthodes prophylactiques, sur la base des connaissances actuelles.

Dans cette optique, nous avons voulu consacrer la première partie de cette thèse à une revue bibliographique du *BoHV-4* ainsi qu'à une brève présentation des protocoles de recherche des agents abortifs en France. Cette revue de la littérature s'efforcera de donner le maximum de clés de réflexion sur le *BoHV-4* aux acteurs de la santé animale en France.

Dans la deuxième partie, nous présenterons les enjeux et les résultats de l'enquête en ligne, menée auprès des LDA qui centralisent les données relatives aux méthodes et résultats d'analyses des avortements bovins et du *BoHV-4*.

Enfin, en troisième et dernière partie, nous discuterons des résultats de l'enquête pour caractériser l'existence et l'importance des protocoles « avortement bovin » dans la recherche étiologique des agents abortifs auprès des LDA et dresser, dans ce cadre, un premier état des lieux de la recherche du *BoHV-4* en France en 2013.

PREMIÈRE PARTIE : Étude bibliographique

Nous articulerons notre première partie bibliographique en deux temps.

En premier lieu, sera exposée la synthèse des connaissances actuelles sur le *BoHV-4*, et ce dans une optique bien précise : donner au praticien vétérinaire ainsi qu'aux autres professionnels de la santé animale un socle de connaissances pratiques sur ce virus. Notre intérêt sera donc porté à l'implication du *BoHV-4* en pathologie bovine, en particulier dans les troubles de la reproduction. Ainsi, nous commencerons par décrire les caractéristiques principales de la particule virale, puis nous aborderons la pathologie et les signes cliniques associés à une infection par le *BoHV-4*, pour ensuite développer les méthodes diagnostiques actuellement disponibles et les mesures prophylactiques suggérées dans la littérature. Nous ouvrirons sur les enjeux du *BoHV-4* en santé publique, santé publique dont le vétérinaire praticien est l'un des garants.

En second lieu, nous traiterons des avortements bovins en France, leurs définitions légales, leurs problématiques actuelles et les perspectives de standardisation des démarches d'investigation en cas d'avortements bovins. Cette deuxième sous-partie préparera le lecteur aux enjeux de l'étude expérimentale qui suivra.

I. Le *BoHV-4* chez les bovins, revue de la littérature

A. Caractéristiques du virus, manifestations cliniques et épidémiologie

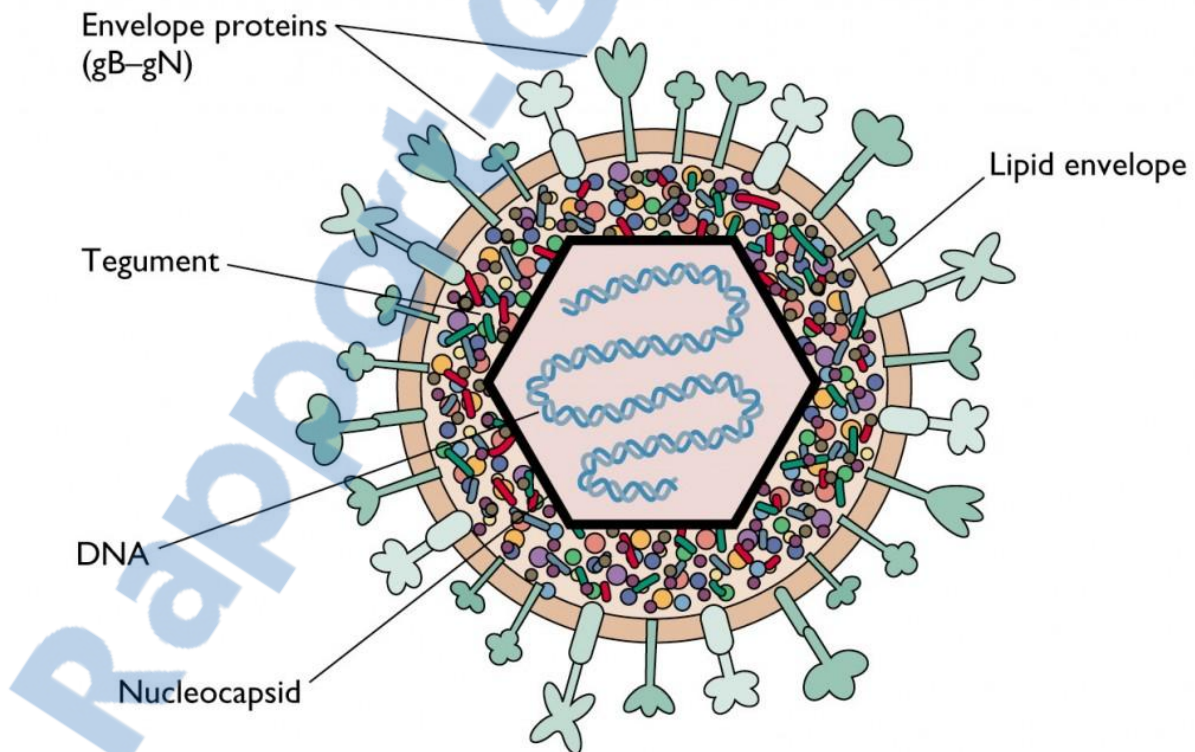
1. Nomenclature et classification du *BoHV-4*

a. *Hesperviridae*, *gammaherpesvirinae*, *rhadinovirus*

Le *BoHV-4* (Bovine Herpesvirus type 4) appartient à la famille des *Herpesviridae*, sous famille des *gammaherpesvirinae*, genre *rhadinovirus* (DAVIDSON *et al.*, 2009).

Les membres de la famille des *Herpesviridae* sont classés sur la base de l'architecture de leur virion (figure 1). Leurs infections sont caractérisées par les phénomènes de latence et de réactivation. Cette famille se décompose en trois sous-familles : les alpha-, bêta- et gammaherpèsvirus.

FIGURE 1 : Structure du virion des herpèsvirus (RACANIELLO *et al.*, 2013)



Historiquement le *BoHV-4* fut classé parmi les bêtaherpèsvirus (STORZ *et al.*, 1984), sur la base de ses propriétés biologiques en culture de cellules (morphogénèse et faible croissance), elles s’approchaient de celles décrites pour les cytomégalovirus humains. L’étude de son génome a révélé plus tard que le *BoHV-4* était un membre des gammaherpèsvirus. En effet, son génome est de type B (ROIZMAN et BAINES, 1991), il contient le gène de la thymidine kinase (KIT *et al.*, 1986), des homologies de séquences ont été mises en évidence avec d’autres gammaherpèsvirus tels que *HHV-8* ou *HVS*, et l’arrangement des gènes est colinéaire avec celui des autres gammaherpèsvirus (BUBLLOT *et al.*, 1992).

Les gammaherpèsvirus se scindent en deux genres : [pour revue consulter ACKERMANN (2006)]

- les *Lymphocryptovirus* comprenant le virus Epstein-Barr (*EBV*) responsable de la mononucléose infectieuse chez les humains,

- les *Rhadinovirus* comprenant des virus d’intérêt en médecine humaine et vétérinaire ainsi qu’en recherche biomédicale, dont l’*HHV-8* (Human HerpesVirus 8 ou *Kaposi Sarcoma-associated Herpesvirus – KSHV*) et le *BoHV-4* font partie (BUBLLOT *et al.*, 1990).

Les gammaherpèsvirus se caractérisent par (i) un spectre d’hôte étroit. Ils induisent préférentiellement un cycle latent plutôt que lytique. (ii) Ils infectent *in vitro* les cellules mononuclées sanguines (CMS) et persistent à l’état latent dans les organes lymphoïdes *in vivo*. (iii) L’infection aiguë est fréquemment associée à des désordres lymphoprolifératifs et beaucoup de gammaherpèsvirus sont impliqués dans l’oncogénèse (d’origine lymphoïde ou non). Enfin, on retiendra que la plupart des virus appartenant à la sous-famille des *Gammaherpesvirinae* ne se répliquent peu, voire pas du tout, en culture de cellules (MARKINE-GORIAYNOFF *et al.*, 2003b), rendant leur étude compliquée.

D’après les récentes publications du Comité International de Taxonomie des Virus (ou ICTV pour *International Committee on Taxonomy of Viruses*), le seul herpèsvirus infectant les ruminants du genre rhadinovirus est le *BoHV-4* (tableau 1). Le *BoHV-4* ne semble pas être proche phylogénétiquement des autres gammaherpèsvirus genre macavirus (McGEOCH *et al.*, 2005).

b. Herpèsviroses infectant les ruminants

Les herpèsviroses présentent, au sein d’un troupeau infecté, une évolution à bas bruit avec de nombreux individus porteurs asymptomatiques et d’autres, porteurs latents. Ces derniers constituent la véritable menace épidémiologique en termes de transmission virale. Quatre autres herpèsvirus infectent les bovins en plus du *BoHV-4* : le *BoHV-1* responsable du complexe rhinotrachéite infectieuse / vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse (IBR/IPV), le *BoHV-2* responsable de la thélite infectieuse bovine (*bovine herpes mammilitis*), le *BoHV-5* responsable de l’encéphalite infectieuse bovine (*bovine herpes meningoencephalitis*) et le *BoHV-6*. Ils partagent des propriétés biologiques communes (MARKINE-GORIAYNOFF *et al.*, 2003b) : (i) leur génome viral code pour des enzymes impliquées dans le métabolisme des acides nucléiques, dans la synthèse d’ADN viral ou encore dans la modification d’autres protéines, par exemple : protéase, protéine kinase, thymidine kinase, dUTPase, ribonucléotide réductase, ADN polymérase, hélicase, primase etc. Cet arsenal enzymatique varie d’un herpèsvirus à l’autre. (ii) La synthèse de l’ADN viral et l’assemblage des capsides se réalisent dans le noyau de la cellule infectée. (iii) La production de particules virales infectieuses

s'accompagne quasi-systématiquement de la mort cellulaire. (iv) Les herpesvirus sont capables d'établir une infection latente chez leur hôte naturel : le génome viral se circularise et reste sous forme d'épisome dans le noyau de la cellule infectée, un nombre limité de gènes est exprimé.

Le tableau 1 ci-après mentionne les principales caractéristiques des herpesvirus infectant les ruminants. Il est à noter qu'il n'existe pas de relation antigénique entre le *BoHV-4* et les autres herpesvirus infectant les bovins dont le *BoHV-1*, i.e. l'infection par le *BoHV-1* ne sera pas protectrice contre le *BoHV-4* (BARTHA *et al.*, 1987).

TABLEAU 1 : Principales caractéristiques des herpesvirus infectant les ruminants, d'après THIRY et THIRY (2011) modifié selon McGEOCH *et al.* (2005)

Sous-famille	Genre	Espèce virale	Espèce hôte (hôte accidentel)	Maladie
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Varicellovirus</i>	Bovine herpesvirus 1 (BoHV1)	Espèce bovine (chèvre, mouton)	Rhino-trachéite infectieuse bovine
		Bovine herpesvirus 5 (BoHV5)	Espèce bovine (chèvre, mouton)	Encéphalite bovine
		Cervid herpesvirus 1 (CvHV1)	Cerf [<i>Cervus elaphus</i>]	Maladie oculaire, infection subclinique
		Cervid herpesvirus 2 (CvHV2)	Renne [<i>Rangifer tarandus</i>] (espèce bovine)	Infection génitale subclinique
		Caprine herpesvirus 1 (CpHV1)	Chèvre (espèce bovine)	Maladie génitale, maladie néonatale mortelle
		Bubaline herpesvirus 1 (BuHV1)	Buffle d'eau asiatique [<i>Bubalus bubalis</i>]	Infection génitale subclinique
		Elk herpesvirus 1 (ElkHV1)	Elk [<i>Cervus elaphus nelsoni</i>] (espèce bovine)	Infection génitale subclinique
		Suid herpesvirus (SuHV1)	Porc, sanglier [<i>Sus scrofa</i>] (ruminants, carnivores)	Maladie d'Aujeszky, pseudorage
		Equid herpesvirus 9	Zèbre [<i>Equus quagga</i>] (Gazelle de Thomson [<i>Gazella thomsoni</i>])	Virus homologue à l'équid herpesvirus 1 ; encéphalite chez la gazelle. Hôte naturel probable : le zèbre (infection subclinique)
	<i>Simplexvirus</i>	Bovine herpesvirus 2 (BoHV2)	Espèce bovine, ruminants africains	Thélie infectieuse bovine, maladie d'Allerton (<i>pseudolumpy skin disease</i>)
<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Rhadinovirus</i>	Bovine herpesvirus 4 (BoHV4)	Espèce bovine, buffle africain [<i>Syncerus caffer</i>] (ruminants, douroucouli [<i>Aotus trivirgatus</i>], chat)	Infection subclinique, vulvovaginite, métrite <i>post partum</i> , avortement
	<i>Macavirus</i>	Ovine herpesvirus 2 (OvHV2)	Mouton (espèce bovine, cervidés, porc)	Coryza gangreneux (forme européenne) ; infection subclinique chez le mouton
		Alcelaphine herpesvirus 1 (AIHV1)	Gnou [<i>Connochaetes taurinus</i>] (espèce bovine)	Coryza gangreneux (forme africaine) ; infection subclinique chez le gnou
		Alcelaphine herpesvirus 2 (AIHV2)	Bubale roux [<i>Alcephalus buselaphus</i>], topi [<i>Damaliscus lunatus</i> ou <i>korrigum</i>] (espèce bovine)	Coryza gangreneux atypique (non mortel dans l'espèce bovine)
		Caprine herpesvirus 2 (CpHV2)	Chèvre (espèce bovine, cervidés)	Coryza gangreneux chez les hôtes hétérologues (moins virulent que les virus coryza gangreneux classiques)
		Hippotragine herpesvirus 1 (HipHV1)	Antilope chevaline [<i>Hippotragus equinus</i>]	Infection subclinique
		Bovine herpesvirus 6 (BoHV6)	Espèce bovine	Herpesvirus lymphotrope bovin, infection subclinique, peut-être impliqué dans des métrites <i>post partum</i>
	<i>Percavirus</i>	Ovine herpesvirus 1 (OvHV1)	Mouton	Herpesvirus associé à l'adénomatose pulmonaire ovine

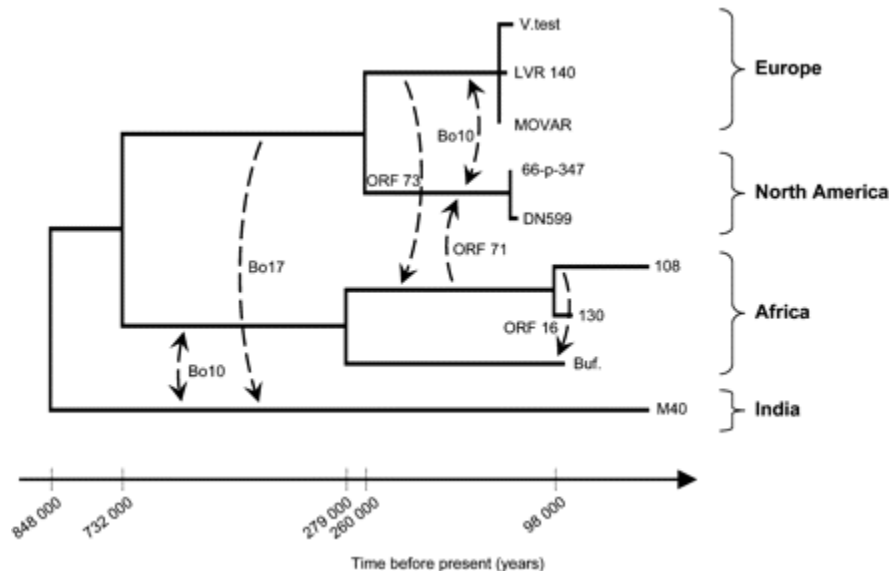
c. Les différentes souches du BoHV-4

Depuis son premier isolement en 1963, le *BoHV-4* a reçu différentes dénominations engendrant des confusions parmi la communauté scientifique : ‘orphan herpesvirus’, ‘Movar-type herpesvirus’, ‘bovid cytomegalovirus’, ‘bovid herpesvirus 3’ et ‘bovid herpesvirus 4’. L’adoption du nom officiel *BoHV-4* a été dictée en 2000 par l’*International Committee of Viral Taxonomy*.

Depuis lors, près de 40 souches différentes de *BoHV-4* ont été isolées à travers le monde. Ces souches sont antigéniquement proches les unes des autres (BARTHA *et al.*, 1987; TRUMAN *et al.*, 1986), elles peuvent être classées en 3 groupes (BUBLOT *et al.*, 1990) :

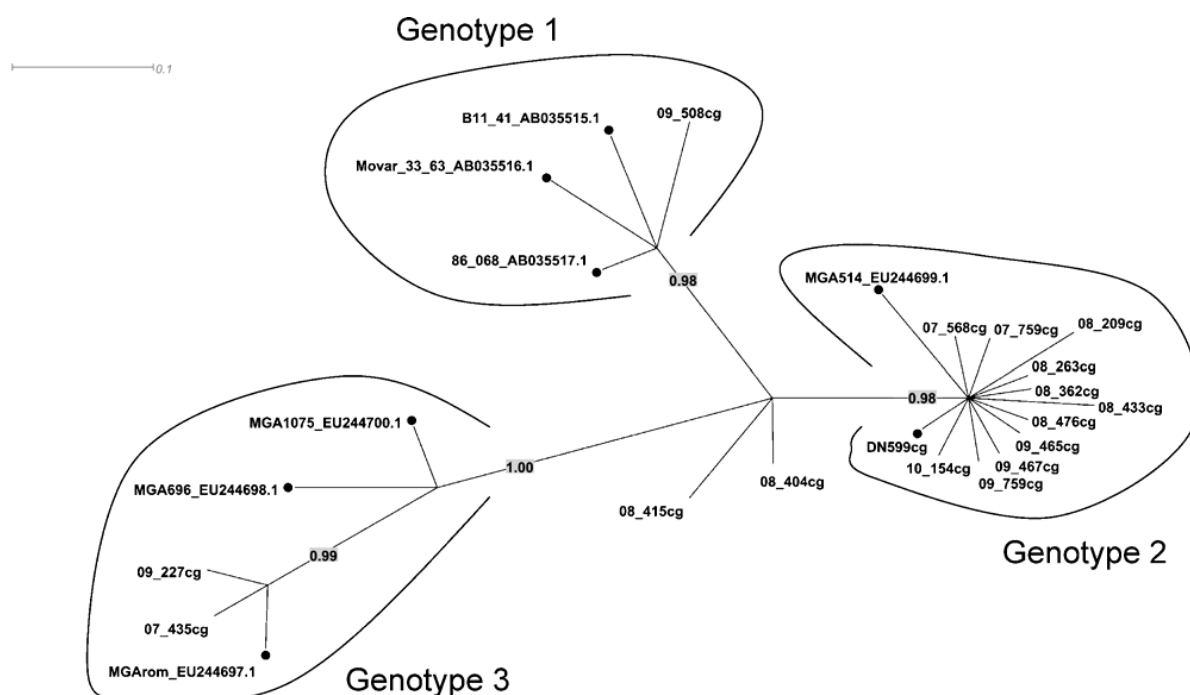
- les souches européennes (ou souches Movar 33/63-like), par exemple : V.Test et la souche belge de référence LVR-140,
- les souches américaines (ou souches DN 599-like), par exemple : 66-p-347,
- un groupe hétérogène comprenant les souches actuellement inclassifiables, i.e. leurs profils de restriction différent des 2 précédents groupes (VERNA *et al.*, 2012) comme la souche taïwanaise (LIN *et al.*, 1999) par exemple. Différents modèles de classification sont illustrés en figures 2 et 3.

FIGURE 2 : L'histoire de l'évolution des souches de BoHV-4 (DEWALS *et al.*, 2006)



Comme illustré en *Figure 2*, les souches affiliées aux bovins et aux buffles auraient divergées il y a environ 730 000 ans, les souches européennes et américaines auraient divergées quant à elles il y a environ 260 000 ans (DEWALS *et al.*, 2006). Ces interprétations sont tirées de l’étude d’un seul gène du *BoHV-4* appelé Bo17 (MARKINE-GORIAYNOFF, 2003a).

FIGURE 3 : Les différentes souches du BoHV-4 (VERNA *et al.*, 2012)



Plusieurs expériences ont démontré une différence de virulence entre souches du *BoHV-4*. L'une d'entre elles a consisté en l'inoculation d'une souche DN599 obtenue à partir d'un veau atteint de maladie respiratoire, et d'une souche 85/BH 16TV issue d'une vache atteinte de vulvovaginite. Suite à l'épreuve d'inoculation, les deux souches ont provoqué une infection du tractus respiratoire mais la virulence de la première souche était bien moindre que celle de la seconde (CASTRUCCI *et al.*, 1988). Deux autres épreuves d'inoculation de souches différentes de *BoHV-4*, menées sur des veaux (5 souches par CASTRUCCI *et al.* (1987b)) ou des lapins (7 souches par NAEEM *et al.* (1991a)) ont également mis en évidence ce constat.

La souche V.Test possède un caractère non pathogène (DUBUISSON *et al.*, 1989b). De ce fait, son utilisation comme vecteur viral d'expression de gènes a été envisagée (DONOFRIO *et al.*, 2002), dans la perspective du développement de vaccins recombinants destinés aux bovins (THIRY *et al.*, 1994). En effet, plusieurs caractéristiques du *BoHV-4* en font un bon candidat comme vecteur viral (ZIMMERMANN *et al.*, 2001) : (i) sa structure génomique est moins complexe que celle des autres herpesvirus ; (ii) l'insertion de matériel génétique dans son génome est stable jusqu'à 6 kb ; (iii) comparé aux autres *rhadinovirus*, sa croissance en culture de cellules est relativement facile et abondante, il croît sur un large panel de cultures cellulaires sans apparente cytotoxicité ; (iv) sa manipulation ne semble pas présenter de danger pour l'expérimentateur ; (v) il ne semble pas induire, chez son hôte naturel, de maladie sévère ou fatale et son potentiel oncogénique n'est pas renseigné comme pour certains autres gammaherpesvirus ; enfin (vi) il existe un modèle expérimental d'utilisation aisée chez le lapin.

En France, la souche isolée localement dans la Manche présente 100 % d'homologies avec la souche de référence européenne V.Test et 94,5 % d'homologies avec la souche américaine (TREILLES *et al.*, 2013).

2. Caractéristiques de la particule virale

a. Morphologie

La particule virale du *BoHV-4* possède la structure typique des herpèsvirus (figure 1). Le matériel génétique est contenu dans une capsidie icosaédrique formée de l'arrangement régulier de 162 capsomères tubulaires (150 hexamères et 12 pentamères). Matériel génétique et capsidie forment la nucléocapsidie dont le diamètre est de 90 à 100 nm. La nucléocapsidie est entourée d'une substance amorphe appelée tégument. Ce dernier contient notamment les protéines de régulation. La distribution du tégument est souvent asymétrique et son épaisseur varie en fonction de la localisation de la particule virale au sein de la cellule infectée. L'ensemble des structures susmentionnées est enveloppé dans une membrane constituée d'une double couche lipidique semblable à celle des membranes cellulaires. Celle-ci contient des glycoprotéines s'élevant jusqu'à 8 nm de la surface du virion. La particule virale dans son ensemble présente un diamètre d'environ 150nm (MARKINE-GORIAYNOFF *et al.*, 2003b).

b. Génome

Le virion du *BoHV-4* contient une séquence d'ADN double brin de 144 +/- 6 kb, la séquence codante du génome (L-DNA ou LUR) fait quant à elle 108 kb (THIRY *et al.*, 1992). Son génome est entièrement séquencé, d'abord la souche 66-p-347 (ZIMMERMANN *et al.*, 2001) et plus récemment la souche V-Test (PALMEIRA *et al.*, 2011).

Le génome des herpèsvirus est classé en 6 groupes sur la base de leur arrangement génomique terminal et de leurs séquences répétées internes. Le *BoHV-4* possède un génome de type B caractéristique des gammaherpèsvirus (ROIZMAN et BAINES, 1991). Les séquences terminales non codantes (polyrépétitive DNA ou prDNA), situées de part et d'autre de la séquence unique LUR, ont des motifs répétés avec une même orientation. Ces unités prDNA, hautement concentrées en contenu Guanine+Cytosine, diffèrent en fonction des souches de *BoHV-4* (BUBLLOT *et al.*, 1990). L'analyse de la séquence LUR a révélé l'existence d'au moins 79 ORF (Open Reading Frames : séquences d'ARN débutant par un codon-start et se finissant par un codon-stop), dont 17 semblent être uniquement présents chez le *BoHV-4*. Les gènes uniques correspondants ont été nommés 'Bo1' à 'Bo17' (ZIMMERMANN *et al.*, 2001)

[Pour revue, consulter MARKINE-GORIAYNOFF *et al.* (2003b)]

c. Glycoprotéines virales

Les glycoprotéines sont contenues dans l'enveloppe du virion et elles interviennent dans l'attachement, la pénétration, la sortie et la diffusion des particules virales. Certaines sont conservées parmi les herpèsvirus, d'autres sont propres à des espèces ou sous-familles d'herpèsvirus.

Parmi les glycoprotéines virales conservées, on citera la glycoprotéine gB essentielle pour la pénétration du virus dans la cellule hôte. La glycoprotéine gH est impliquée dans la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique de la cellule hôte et dans la propagation du virus de cellule à cellule, probablement par fusion des membranes plasmiques. Le rôle de la glycoprotéine gL est moins bien connu, elle participerait avec la gH aux processus liés au pouvoir pathogène viral (LETE *et al.*, 2012). Le complexe glycoprotéique gM-gN, peu étudié, contribuerait à l'atténuation du *BoHV-4* en culture de cellules *in vitro* et jouerait un rôle dans le bourgeonnement des virions *in vivo* (FRANCESCHI, 2009-2011).

DUBUISSON et collaborateurs (1989a) ont étudié les glycoprotéines majeures de l'enveloppe virale du *BoHV-4*. Il en ressort que les complexes gp6/gp10/gp17 et gp11-VP24 sont reconnus par la plupart des anticorps monoclonaux produits, ce sont donc des composants antigéniques majeurs du virion. La glycoprotéine gp8 interagit avec les molécules de sulfate d'héparane et joue donc un rôle déterminant dans l'attachement de la particule virale à la cellule hôte, soit la phase d'adsorption du virus (VANDERPLASSCHEN *et al.*, 1993). La quatrième glycoprotéine décrite est gp1.

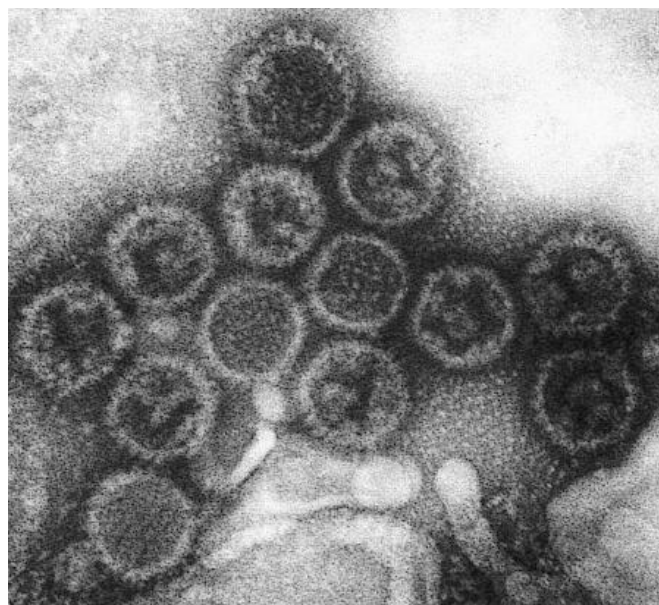
Le *BoHV-4* ne présente pas d'homologue aux glycoprotéines gD ou gE. gD est un immunogène majeur du *BoHV-1* et gE est utilisé comme marqueur vaccinal contre le *BoHV-1*, pour rappel il n'existe pas de parenté antigénique entre le *BoHV-4* et le *BoHV-1* (FRANCESCHI, 2009-2011). Le *BoHV-4* partage en revanche des épitopes avec l'*AIHV-1*, un autre gammaherpèsvirus avec lequel sont observées des réactions sérologiques croisées, qui semblent protectrices (DEWALS, 2007 ; OSORIO *et al.*, 1985).

d. Spectre d'hôtes in vitro

Classiquement, les gammaherpèsvirus sont considérés comme ayant un spectre d'hôtes étroit. Le *BoHV-4*, lui, possède un large spectre *in vitro*. Cela peut s'expliquer en partie par le fait que le virus reconnaît des structures de sulfate d'héparane comme premier récepteurs cellulaires, ces motifs sont présents à la surface de nombreuses cellules de vertébrés (VANDERPLASSCHEN *et al.*, 1993).

Le *BoHV-4* se multiplie (i) en culture de cellules bovines primaires (de rein, testicule, poumon, peau, rate, thyroïde, trachée embryonnaire, moelle osseuse fœtale, lymphosarcome de thymus de veau) et (ii) en culture de cellules bovines continues rénales (MDBK pour Madin Darby Bovine Kidney, GBK pour Georgia Bovine Kidney et BEK pour Bovine Embryonic Cells) et pulmonaires (EBL pour Embryonic Bovine Lung, figure 4). Il peut établir une infection persistante dans des cellules macrophagiques bovines (DONOFRIO et VAN SANTEN, 2001).

FIGURE 4 : Image du BoHV-4 infectant des cellules fœtales pulmonaires bovines obtenue par microscopie électronique (GRAHAM et al., 2005)



Le virus se multiplie également en culture de cellules d'origines diverses : mouton, chèvre, porc, chat, chien, lapin, vison, cheval, dindon, furet, poulet, hamster, singe et même homme. En effet, des études récentes ont démontré la capacité du *BoHV-4* à infecter des cellules humaines, certaines lignées cellulaires humaines sont sensibles voire permissives à l'infection (DONOFRIO *et al.*, 2000a ; EGYED et BARTHA, 1998 ; GILLET *et al.*, 2004).

[Pour revue, consulter MARKINE-GORIAYNOFF *et al.* (2003b)].

e. Propriétés physico-chimiques

Comme les autres herpèsvirus, le *BoHV-4* est un virus enveloppé, ce qui le rend sensible aux détergents qui détruisent l'enveloppe phospholipidique externe tels que les dérivés phénoliques, l'éther (20 %), le chloroforme (20 %), l'ammonium quaternaire et le formol (GALAIS-DUHAMEL, 2006).

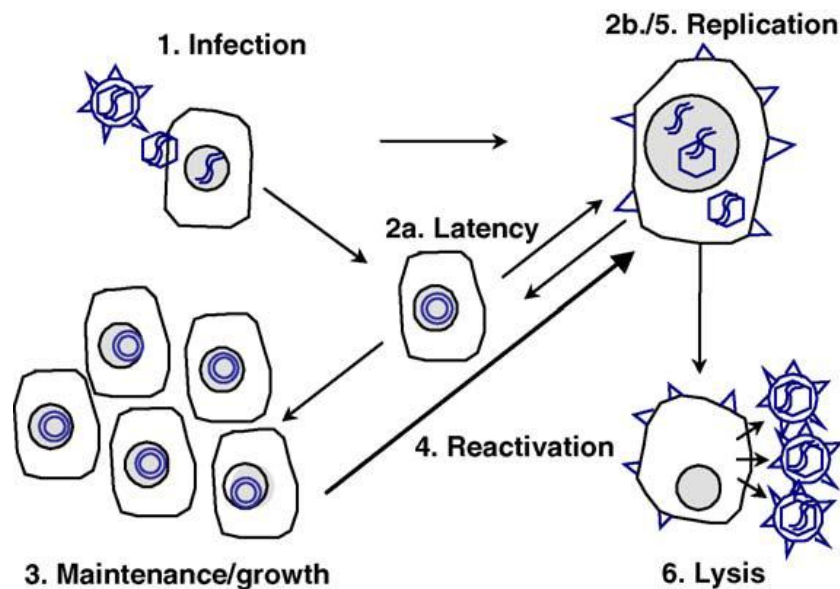
L'inactivation virale dépend par ailleurs de la température, du pH, de la lumière et de l'humidité relative. Ainsi, le *BoHV-4* est détruit par la chaleur (50°C pendant 30 min.), est sensible aux pH faibles (pH 3), il est inactivé par les rayonnements UV, toutefois le virus reste résistant aux fortes hygrométries. Sa multiplication est inhibée par le bromure de déoxyuridine (0,1 mM) (MARKINE-GORIAYNOFF *et al.*, 2003b), le virus est également sensible à certains agents anti-herpétiques (tableau 4).

Les virions des herpèsvirus semblent donc peu résistants dans le milieu extérieur, surtout à de fortes températures. On observera plus de contaminations lors de la saison froide, avec une transmission virale de proche en proche, et une prédominance de la contamination par contact direct. Leur faible résistance aux températures supérieures à 37°C signe une affinité pour des sites anatomiques d'infection périphériques (premières voies respiratoires, tractus génital distal, peau).

3. Cycle infectieux

Les herpesvirus sont capables de suivre deux types de cycle en fonction des conditions de l'infection (figure 5). Le cycle lytique assure la multiplication virale tandis que le cycle latent permet une pérennité virale et une infection à vie. Les gammaherpèsvirus semblent favoriser l'établissement de la latence, une minorité de cellules supportent le cycle lytique (ACKERMANN,2006).

FIGURE 5 : Devenir des cellules infectées par les gammaherpèsvirus (ACKERMANN, 2006)



a. Cycle lytique

Le programme lytique correspond à l'expression séquentielle et ordonnée de l'ensemble des gènes viraux. Le cycle de multiplication aboutit à la formation d'une nouvelle génération de particules infectieuses et à la lyse cellulaire qui est objectivable par l'effet cytopathogène du virus.

L'interaction entre glycoprotéines de l'enveloppe virale et récepteurs membranaires cellulaires (attachement) aboutit à la fusion des membranes et régit l'entrée du virus dans la cellule hôte. La présence de ces récepteurs détermine le tropisme tissulaire du virus. La nucléocapside ainsi que certaines protéines du tégument sont ensuite acheminées vers le noyau cellulaire. L'ADN viral est libéré dans le noyau au travers d'un pore (décapsidation), il se circularise immédiatement après. La traduction des protéines virales commence même avant la réplication de l'ADN viral. La cinétique de production virale du *BoHV-4* est lente (STORZ *et al.*, 1984) et l'expression des gènes viraux est dépendante du cycle cellulaire. Il lui est ainsi indispensable que la cellule infectée soit en phase S (VANDERPLASSCHEN *et al.*, 1995). Ainsi, le *BoHV-4* ne se réplique que dans une cellule en division. L'acquisition de l'enveloppe virale est issue de la membrane interne du noyau ou des vésicules golgiennes. La sortie du virus s'effectue par bourgeonnement ou lyse cellulaire suite à l'induction de l'apoptose. Le *BoHV-4* est d'ailleurs capable d'inhiber l'apoptose (GILLET *et al.*, 2004), assurant ainsi une réplication virale plus intense. Les particules virales de *BoHV-4* sont relarguées 48h post-infection.

b. Cycle latent

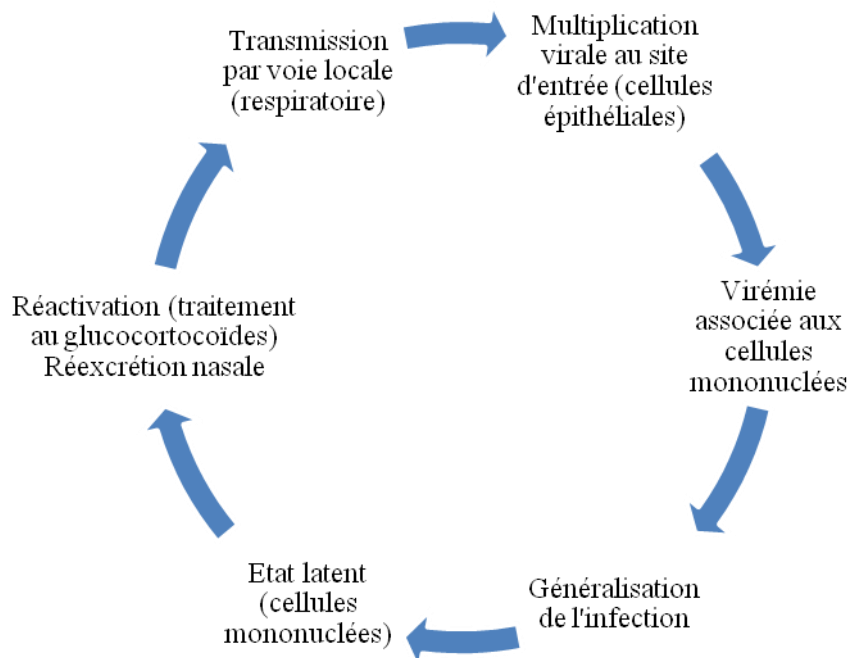
L'état latent consiste en la présence, au sein de certaines cellules, de l'information génétique virale sous forme d'un épisome circulaire. C'est une phase silencieuse au cours de laquelle seul un petit nombre de gènes codant les protéines virales sont exprimés. La transcription de protéines virales est bien moindre que lors du cycle lytique, le virus reste en quiescence.

Sous certaines conditions, naturelles (liés à l'action du cortisol) ou expérimentales (injection de dexaméthasone), il peut se produire une réactivation virale et fabrication de nouvelles particules suivant le cycle lytique.

4. Pathogénie de l'infection virale

La pathogénie *BoHV-4* se caractérise par une infection primaire suivie d'une infection latente pouvant être réactivée à la suite d'un stimulus.

FIGURE 6 : Pathogénie de l'infection par le BoHV-4, tiré du cours de Virologie Vétérinaire de l'Université de Liège, 2e GMV, E. THIRY



a. *Multiplication virale au site d'entrée et diffusion au sein de l'organisme hôte*

La multiplication primaire du virus s'effectue au niveau des portes d'entrée, i.e. des cellules épithéliales des muqueuses, notamment les cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur (EGYED *et al.*, 1996).

EGYED et collaborateurs (1999) ont infecté expérimentalement des veaux, ils ont retrouvé de l'ADN viral dans les sérums entre 10 et 32 jours après l'épreuve d'inoculation. Ce résultat suggère l'existence de virus libre dans le sang. Cependant, cette phase de virémie n'est pas toujours détectable, et peut réapparaître de façon périodique. LIN et collaborateurs (1999) ont mis en évidence la très grande susceptibilité des cellules endothéliales bovines *in vitro* à l'infection par le *BoHV-4*. EGYED et BASKA (2003) ont déterminé les lésions *in vivo* induites par une telle infection chez des lapins : ce sont des lésions vasculaires associées à l'accumulation de cellules mononuclées. Ces observations suggèrent le passage du virus des CMS à l'endothélium vasculaire. Ainsi pris en charge par les CMS, le virus peut se disséminer dans tout l'organisme par voie sanguine (OSORIO et REED, 1983) et ainsi être virtuellement isolé de tout organe vascularisé. Les tissus lymphoïdes, les cellules sanguines mononuclées sont considérés comme des sites primaires d'infection. Le virus peut par ailleurs passer la barrière placentaire et ainsi infecter le fœtus (WELLEMANS *et al.*, 1986).

In vitro, il a été démontré que la multiplication du *BoHV-4* est dépendante de la phase S du cycle cellulaire (VANDERPLASSCHEN *et al.*, 1995). Si cette dépendance existe également *in vivo*, elle expliquerait pourquoi le *BoHV-4* se multiplie exclusivement dans les cellules en division (MARKINE-GORIAYNOFF *et al.*, 2003b). Le virus se multiplie principalement dans les épithéliums oculaires, respiratoires et génitaux ; ces tissus sont considérés comme des sites de multiplication primaires ou secondaires. Le virus peut y produire des lésions de nécrose cellulaire et être excrété dans les écoulements oculaires, le jetage nasal (CASTRUCCI *et al.*, 1987b) et les sécrétions génitales (MONGE *et al.*, 2006).

b. *Etablissement de la latence*

i. *Lieu(x) de la latence*

Latence : l'installation du virus au sein des cellules, en l'absence de multiplication virale.

Après primo-infection, le virus s'installe à l'état latent chez le bovin, son hôte naturel (DUBUISSON *et al.*, 1989b), ainsi que chez le lapin, son hôte expérimental (OSORIO *et al.*, 1992). La présence du *BoHV-4* dans de nombreux tissus a été démontrée pendant les phases de latence ; même si la rate apparaît comme l'organe privilégié de la latence chez le lapin infecté expérimentalement (OSORIO *et al.*, 1985) et chez les bovins (EGYED *et al.*, 1996), l'ADN viral peut également être détecté de différents organes de bovins infectés expérimentalement : muqueuse nasale, trachée, poumon et en moindre quantité dans les nœuds lymphatiques, reins, amygdales et thymus (EGYED et BARTHA, 1998 ; EGYED *et al.*, 1996). Plutôt qu'un certain type de tissu support de la latence, plusieurs études plaident en la faveur d'un ou plusieurs types cellulaires ubiquistes hébergeant la latence virale, comme les

CMS. Parmi les CMS, certains auteurs soutiennent la thèse d'une latence au sein de la lignée lymphocytaire (BORCHERS *et al.*, 2002 ; EGYED *et al.*, 1996) ou de la lignée monocyte/macrophage (BOERNER *et al.*, 1999 ; OSORIO et REED, 1983). Cette dernière thèse est appuyée par le fait que le *BoHV-4* a été fortement détecté dans les cellules non-T et non-B de la zone marginale de la rate chez des bovins et lapins infectés de manière latente [pour information supplémentaire consulter : OSORIO *et al.* (1996)]. La position intracellulaire du *BoHV-4* lors de la latence le protège de l'action des anticorps sériques. Le *BoHV-4* peut par ailleurs établir une infection persistante *in vitro* dans les cellules macrophagiques bovines (DONOFRIO et VAN SANTEN, 2001). Une étude soutiendrait la possibilité d'une infection cellulaire un cran en amont des macrophages, en effet, les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse de veau se sont révélées très permissives à l'infection (DONOFRIO *et al.*, 2005b).

Par ailleurs, le virus ou son génome ont été fréquemment isolés des tissus du système nerveux central des bovins, notamment dans un troupeau atteint de mammites d'allure contagieuse (IZUMI *et al.*, 2006) ou à partir de la corde spinale d'une vache souffrant d'ataxie (YAMAMOTO *et al.*, 2000). La souche B11-41 précédemment isolée a été inoculée à 3 vaches, elle n'a engendré aucun signe clinique mais le génome viral a été de nouveau détecté à partir des nœuds lymphatiques et du tissu nerveux de ces dernières (moelle épinière et ganglion trijumeau) (ASANO *et al.*, 2003). Ces données supportent le fait que l'infection persistante sub-clinique dans le système nerveux peut être une propriété du *BoHV-4*, même si le rôle du virus dans les désordres du système nerveux (telle que l'ataxie) n'est pas élucidé (EGYED et BARTHA, 1998 ; IZUMI *et al.*, 2006).

Le *BoHV-4* établit une latence dans l'organisme infecté, naturellement et expérimentalement, à 48 jours post-inoculation (EGYED *et al.*, 1996) voire même plus précocement.

ii. Réactivation virale et réexcrétion

Le virus latent peut-être réactivé à la suite d'un stimulus, qu'il soit naturel ou expérimental.

Les stimuli naturels peuvent être les différents facteurs de stress : un long transport (PERSHEV et CHRISTOVA, 2013), la parturition ou de brusques changements de température (IZUMI *et al.*, 2006). Ces facteurs induisent une augmentation du taux circulant en cortisol.

En condition expérimentale, le *BoHV-4* peut être réactivé *in vivo* à la suite d'une injection de dexaméthasone chez le bovin (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1986a) à la dose de 0,1mg/kg/j pendant 5 jours consécutifs (DUBUISSON *et al.*, 1989b) (soit une dose largement supérieure aux doses thérapeutiques utilisées sur le terrain), et *in vitro* par l'addition de butyrate de sodium (DONOFRIO et VAN SANTEN, 2001). Des études sur le *BoHV-1* ont démontré que la dexaméthasone était réellement responsable de la réactivation virale et non d'un quelconque effet immunosuppresseur, puisque l'administration de cyclophosphamide (substance immunosuppressive) ne permettait pas la levée de latence (GALAIS-DUHAMEL, 2006).

Le virus est alors ré-isolé à partir d'écouvillons nasaux, de CMS, de culture d'explants de moelle épinière et de ganglion trijumeau (OSORIO et REED, 1983 ; OSORIO *et al.*, 1985) (CASTRUCCI *et al.*, 1987b).

5. Réponse immune

L'infection naturelle des bovins par le *BoHV-4* s'accompagne d'une production faible à nulle d'anticorps neutralisant le virus, pendant que de hauts titres en anticorps spécifiques anti-*BoHV-4* peuvent être détectés par immunofluorescence indirecte (IFI). Lorsqu'une réponse neutralisante est détectable, ces anticorps peuvent être détectés entre 22 et 34 jours après la primo-infection (CASTRUCCI *et al.*, 1987b), l'addition de complément augmente le titre en anticorps neutralisant et permet une détection plus précoce de ces anticorps (DUBUISSON *et al.*, 1987), voir figure 9. En conditions expérimentales, les anticorps spécifiques du *BoHV-4* (non neutralisants) sont détectables dans l'organisme inoculé entre 14 et 20 jours post-infection (OSORIO et REED, 1983). Ce sont probablement les immunoglobulines précoces IgM qui agissent principalement contre le virus (DUBUISSON *et al.*, 1989b), on notera également qu'une réponse immune secondaire est mise en évidence suite à la réactivation virale.

Le rôle du *BoHV-4* dans l'immunité à médiation cellulaire n'est que très peu documentée (THIRY *et al.*, 1989).

Comme précédemment mentionné, le *péri-partum* est une période de stress favorisant la réactivation virale et donc la production d'anticorps chez la vache gestante. Une étude en atelier d'engraissement rapporte que 38% des veaux âgés de moins de 3 mois possédaient des anticorps anti-*BoHV-4*, contre seulement 3% chez les animaux âgés de plus de 3 mois. Cela suggère un transfert des anticorps maternels anti-*BoHV-4* via le lait et le colostrum (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1988).

Le tropisme du *BoHV-4* pour les CMS et les tissus lymphoïdes peuvent avoir des implications dans la régulation de la réponse immunitaire humorale et cellulaire chez les bovins (OSORIO *et al.*, 1985).

6. Épidémiologie

a. Espèces sensibles

Le *BoHV-4* est un virus cosmopolite, isolé dans le monde entier parmi les troupeaux bovins. Les bovins, *Bos taurus* (bovins domestiques) et *Bos indicus* (zébus), ont jusqu'à récemment été considérés comme les hôtes naturels les plus probables du *BoHV-4* (la souche M40 du *BoHV-4* a été isolée à partir de tumeurs ethmoïdales observées chez des zébus en Inde par MORENO-LOPEZ *et al.* (1989))

Cependant, contrairement à la plupart des gammaherpèsvirus, le *BoHV-4* se réplique naturellement chez un large panel d'espèces. Ci-après une revue du spectre d'hôtes *in vivo* :

- Buffle africain (*Syncerus caffer*) : une étude menée au Kenya, à partir des sérums prélevés de 94 buffles, décrit une séroprévalence de 93,6 % (IFi) et le virus a été isolé dans 11 des 45 échantillons sanguins réalisés sur des buffles en bonne santé (ROSSITER *et al.*, 1989). Plus récemment, 400 sérums provenant de buffles africains de l'Est et du Sud de l'Afrique ont été analysés. Il en ressort qu'indépendamment de leur origine, les buffles africains sauvages exhibent une séroprévalence envers le *BoHV-4* supérieure à 68 % (DEWALS, 2007), des résultats bien plus élevés que ceux usuellement rencontrés chez les bovins. Cette observation laisse à croire que le buffle africain est finalement l'hôte originel du *BoHV-4*, et que les bovins ont acquis ce virus plus récemment.

- Bison américain (*Bison bison*) : souche 66-p-347, signes de coryza gangréneux (TODD et STORZ, 1983)

- Ruminants sauvages en Hongrie (KALMAN et EGYED, 2006), consulter le tableau 2.

TABLEAU 2 : Détection du *BoHV-4* par PCR chez des ruminants sauvages et domestiques en Hongrie (KALMAN et EGYED, 2006)

	PCR + <i>BoHV-4</i>
Chevreuil	7/56 (12,5 %)
Cerf Elaphe	14/64 (21,2 %)
Daim	8/20 (40,0 %)
Mouflon	11/16 (68,7 %)
Mouton	9/34 (26,5 %)
Chèvre	6/44 (13,6 %)

- Caprins et Ovins domestiques en Hongrie (KALMAN et EGYED, 2006), consulter tableau 2. Historiquement, le virus a été identifié chez des moutons atteints de pneumonie. Suite à l'épreuve d'inoculation, la maladie n'a pu être reproduite mais le virus a pu être ré-isolé chez le mouton consécutivement à un traitement à la dexaméthasone (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1986a). Une enquête sérologique a révélé que 3 ovins étaient séropositifs sur les 50 testés, ces données suggèrent que le mouton pourrait jouer un rôle dans la dissémination du *BoHV-4* (MARKINE-GORIAYNOFF *et al.*, 2003b).

- Un herpesvirus proche du *BoHV-4* pourrait circuler parmi les animaux exotiques comme ces Eléphants d'Asie captifs (*Elephas maximus*), sérologiquement positifs au *BoHV-4* (test de séroneutralisation ou SN) (METZLER *et al.*, 1990) ou chez ce Rhinocéros Noir (*Diceros bicornis*) chez qui a été détectée une séquence codante pour une ADN-polymérase présentant une haute homologie avec le gène orthologue du *BoHV-4* (MARKINE-GORIAYNOFF *et al.*, 2003b).

- Lion (*Panthera leo*) : souche HB420 (EGELHOF *et al.*, 1991)

- Chat domestique : une récente étude fait état d'une séroprévalence élevée (59 %, testés par IFi) chez une population de chats errants dans le Michigan (KRUGER *et al.*, 2000). Une autre

étude menée auprès de chats hospitalisés pour troubles de l'appareil urinaire dans le Minnesota, rapporte une séroprévalence de près de 30 % par IFi (KRUGER *et al.*, 1991). La maladie n'a cependant pu être reproduite expérimentalement que chez un chat sur 18, malgré un traitement immunosuppresseur mis en place avant l'inoculation de la vessie (KRUGER *et al.*, 1990 ; THIRY, 1991).

- Singe Douroucouli (*Aotus trivirgatus*) (BUBLLOT *et al.*, 1991)

Enfin, le spectre d'hôte expérimental du *BoHV-4* comprend le cobaye et le lapin (EGYED *et al.*, 1997). Le lapin est considéré comme un modèle expérimental adéquat pour l'étude de la biologie du *BoHV-4*. Récemment, l'inoculation de souris transgéniques (telle IFNAR+/-, *knockout* pour les récepteurs aux interférons IFN α et β) n'a pas produit de signe clinique mais a révélé qu'elles supportent la réplication virale dans la rate et les nœuds lymphatiques (FRANCESCHI *et al.*, 2011).

b. Prévalence dans l'espèce bovine

Cette revue n'a pas vocation à être exhaustive, mais à imaginer la répartition mondiale du *BoHV-4* parmi l'espèce bovine.

i. Séroprévalence en Europe

Plusieurs études de séroprévalence ont été menées en Europe, elles ont soulevées des résultats très différents. Ces données sont certes informatives mais il s'agit de considérer le contexte sanitaire dans lequel ont été réalisées les études (population apparemment saine versus cliniquement atteinte) ainsi que le test sérologique utilisé¹.

Au Danemark, des séroprévalence élevées à l'égard du *BoHV-4* ont été relevées : 84 et 79 % dans deux troupeaux laitiers dont le comptage cellulaire de tank se situait entre 200 000 et 300 000 c/ml (ZADOKS *et al.*, 2001), tandis qu'une étude menée sur 750 sérums sélectionnés au hasard a dégagé une séroprévalence individuelle comprise entre 16 et 18 % (WELLENBERG *et al.*, 1999) (tests sérologiques utilisés : IPMA).

En Irlande du Nord, une étude rétrospective sur la sérothèque de 2002 a été réalisée (test BHV-4 ELISA kit Bio-X®). Sur les 999 échantillons collectés, différence a été faite entre les ateliers laitier et allaitant. Ainsi, la séroprévalence troupeau était de 59,2 % en laitier et 68,6 % en allaitant. La séroprévalence individuelle, quant à elle, était de 33,3 % en laitier et 23,3 % en allaitant. A partir de cette étude, les auteurs ont établi que la séroprévalence troupeau en Irlande du Nord était comprise entre 45,4 et 72,9 % en atelier laitier et entre 55,9 et 81,4 % en atelier allaitant, avec un intervalle de confiance de 95%. (GRAHAM *et al.*, 2005).

¹ IFi : immuno-florescence indirecte, ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay, SN : test de séro-neutralisation

Au Nord de la Belgique (Flandres), il est rapporté une séroprévalence de 15 % chez des animaux de plus d'un an, et en Wallonie 29 % (VAN MALDEREN *et al.*, 1987). Une étude menée sur des veaux à l'engraissement a révélé que 38 % des veaux testés, âgés de moins de trois mois, possédaient des anticorps dirigés contre le *BoHV-4* (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1986b).

En Ex-RFA, la séroprévalence du *BoHV-4* était de 18,4 % (TRUMAN *et al.*, 1986). En Suisse, il est avancé une séroprévalence de 4,2 % (METZLER et WYLER, 1986) tandis qu'en Italie du Nord, la séroprévalence troupeau du virus était de 50 % (LUINI et FIONI, 1986b). 75 % des exploitations à troubles de reproduction étaient séropositives dans les régions de Lombardie et d'Emilie Romagne (LUINI et FIONI, 1986a).

En Serbie, près de 84 % des sérums de vaches issus d'un troupeau à problème de métrite ont réagi positivement au *BoHV-4* (Test ELISA indirecte BHV-4 Bio-X®) (NIKOLIN *et al.*, 2007). En Hongrie, près de 57,53% des échantillons provenant de bovins de tout âge, apparemment en bonne santé, ont réagi positivement par PCR (PCR nichée duplex) au *BoHV-4* (84/146 échantillons de nœuds lymphatiques et sang périphérique) (FABIAN et EGYED, 2004).

En France enfin, en Novembre 2009 dans le département de la Manche, une étude rétrospective locale intéressant 211 vaches, âgées de plus de 24 mois et soumises à des prélèvements à l'introduction, a révélé une séroprévalence de 11,8 % à l'égard du *BoHV-4* (LEBOEUF, 2013). Une enquête locale légèrement plus ancienne faisait état d'une séroprévalence de 5,9% parmi les bovins testés en prophylaxie (7/118) (LEBOEUF, 2009) (tests sérologiques utilisés : IFi).

A noter que des études de prévalence ont intéressé plus spécifiquement les taureaux. Ainsi, en 1986, un sondage sérologique en Allemagne a révélé que 38% des taureaux testés issus de centre d'insémination possédaient des anticorps anti-*BoHV-4* (TRUMAN *et al.*, 1986) tandis qu'une étude réalisée dans le Sud-Ouest de l'Ecosse entre Novembre 1992 et Juin 1993 et portant sur 109 taureaux de monte naturelle, n'a détecté aucun animal séropositif (tests sérologiques : SN et IFi) (McGOWAN et MURRAY, 1999). Plus récemment, NIKOLIN et collaborateurs (2008) rapportent que 18 des 50 échantillons sanguins issus de taureaux de 2 centres d'insémination sont revenus *BoHV-4* positifs (par ELISA indirecte Bio-X®). Enfin, EGYED *et al.* (2011) ont détecté de l'ADN viral par PCR dans 11 des 57 échantillons de sperme, hongrois et internationaux.

ii. Séroprévalence dans le monde

- Afrique :

Au Zaïre, 70 % des bovins testés (208 sérums, testés par IFi) étaient séropositifs au *BoHV-4* (EYANGA *et al.*, 1989). Au Ghana, 14% des animaux prélevés se sont avérés positifs (176 sérums, testés par IFi) (MARCHOT *et al.*, 1991). Seulement au Zaïre, les sérums ont été examinés à la dilution 1/20, ce qui peut expliquer en partie la prévalence plus élevée que celle observée au Ghana (dilution 1/100). En Ethiopie, 22,3% des bovins testés étaient

séropositifs au *BoHV-4* (WOLDEMESKEL *et al.*, 2000). Au Soudan, ELHASSAN et collaborateurs (2011) ont observé une séroprévalence de 25 % dans la province de Khartoum, et de 19,3 % dans le centre du pays. Ces résultats ont été obtenus à partir d'élevages à problème de reproduction (test sérologique : ELISA indirecte Bio-X®).

- Moyen-Orient :

En Turquie, une enquête sérologique a révélé une séroprévalence de 44,9 % parmi des troupeaux ne présentant pas de troubles de la reproduction (83 sérums sur 185, test ELISA indirecte Bio-X®), et 56,8 % chez ceux présentant des troubles de la reproduction (BILGE DAGALP *et al.*, 2007). Une étude plus récente, également menée en Turquie, présente des séroprévalence de 47,2 % (781 sérums) et 5,4 % (219 sérums) respectivement chez des troupeaux laitiers à problème de reproduction et des troupeaux sans problème de reproduction apparent (BILGE DAGALP *et al.*, 2012)(Test commercial ELISA indirecte). Une autre étude menée par GUR et DOGAN (2010), avance une séroprévalence de 24,7% parmi des vaches sans problème de reproduction apparent. En Israël, un sondage sérologique a été réalisé sur 819 sérums de vaches laitières, provenant de 146 troupeaux différents, et recrutés sur la base de problèmes d'avortements. La séroprévalence troupeau (ELISA) était de 68 %, la séroprévalence individuelle de 40 % (FRIDGUT et STRAM, 2006).

- Amérique du Nord :

La prévalence en anticorps *BoHV-4* dans le lait de 176 vaches testées au Canada, provenant d'élevage était de 98,2 % (ALI *et al.*, 2011). Aux Etats-Unis, 86 % des échantillons (sur 178 sérums, ELISA) ont réagi positivement au *BoHV-4* (GUO *et al.*, 1988), plus récemment une séroprévalence (SN) de 36 % est rapportée chez des vaches laitières à problème de métrites (FRAZIER *et al.*, 2002). NAEEM et collaborateurs (1989) annoncent quant à eux une séroprévalence de 17 % chez des troupeaux cliniquement sains. En revanche chez ceux présentant des troubles de la reproduction, des séroprévalences (SN) entre 36 et 88 % ont été rapportées.

- Amérique du Sud :

Une enquête sérologique menée en Colombie sur une sérothèque de 959 échantillons d'animaux femelles d'âge différents rapporte une séropositivité à l'égard du *BoHV-4* de 95,4 % par IFi (FIGUEREDO, 2009-2011). Un troupeau laitier à problème de reproduction a montré une séroprévalence de 63,4 % en Argentine par PCR nichée (PEREZ *et al.*, 2011).

- Asie :

Un sondage sero-épidémiologique au Japon a mis en évidence que 8,9 % des bovins étaient séropositifs par ELISA (ASANO *et al.*, 2003) et KWANG (1999) a observé une séroprévalence de 23,3 % à Taiwan.

D'autres études de séroprévalence, notamment sur le territoire français, sont encore nécessaires pour caractériser la circulation de ce virus parmi les bovins.

c. Sources virulentes

Les sources virulentes du *BoHV-4* n'ont pas fait l'objet d'études approfondies (EGYED *et al.*, 2011). Cependant, sur la base des connaissances actuelles et d'extrapolations raisonnables à partir des études réalisées sur les autres gammaherpèsvirus, peuvent être citées comme sources virulentes du *BoHV-4* : les sécrétions respiratoires et les exsudats utérins ; et comme sources virulentes potentielles : le lait et le sperme.

i. Sécrétions respiratoires

Le *BoHV-4* a régulièrement été isolé du tractus respiratoire supérieur, à partir d'écouvillons nasaux (CASTRUCCI *et al.*, 1987b), le caractère virulent des sécrétions respiratoires a été éprouvée expérimentalement (DUBUISSON *et al.*, 1989b). L'inoculum avait un titre $10^{4.5}$ DICC 50/ml (dose infectant 50% des cultures cellulaires), 5 ml ont été inoculé en intranasal (MOHANTY *et al.*, 1971).

Il est également rapporté que le virus peut-être réexcrété dans les écoulements oculaires (sécrétions conjonctivales) (EGYED *et al.*, 1996) mais leur concours dans la transmission virale n'est pas documenté.

ii. Exsudats utérins et sécrétions vaginales

Le virus a souvent été isolé à partir d'exsudats de métrite (VANDERPLASSCHEN *et al.*, 1995), il y est en effet excrété en grande quantité et sur une longue période en cas de métrites (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1988). La souche LVR-140, isolé de cas de métrite, inoculée par voie veineuse à des vaches gestantes a produit chez certaines la survenue de métrites (WELLEMANS *et al.*, 1986). L'inoculum utilisé (5 ml) avait alors un titre de $10^{6.5}$ DICC 50/ml.

iii. Sécrétions lactées

Le génome viral du *BoHV-4* a été retrouvé par PCR dans les sécrétions lactées des bovins : lait (DONOFRIO *et al.*, 2000b) et colostrum (EGYED *et al.*, 2011). La co-culture d'une lignée cellulaire sensible au *BoHV-4* (cellules endothéliales bovines) avec des cellules provenant d'échantillons de lait positif au *BoHV-4* par PCR produit des effets cytopathiques sur cette lignée cellulaire. Le même résultat est obtenu à partir de la fraction cellulaire de lait PCR *BoHV-4+* congelé puis décongelé ; ainsi même si les cellules sont tuées, les seules particules virales demeurent infectieuses après co-culture sur cellules sensibles. Cette étude montre le caractère infectieux potentiel du *BoHV-4* dans le lait *in vitro* (DONOFRIO *et al.*, 2000b).

iv. Sperme

Le génome viral du *BoHV-4* a été détecté par PCR chez 11 des 57 échantillons de sperme testés par EGYED *et al.* (2011), plus précisément dans la fraction contenant les spermatozoïdes et la fraction leucocytaire (pas surprenant vu l'affinité du *BoHV-4* pour les CMS) du sperme, la fraction plasmatique est toujours sortie négative. Cette étude suggère l'existence de spermatozoïdes infectés par le virus *BoHV-4*, une réserve est cependant soulevée par les auteurs : les cellules épithéliales ont pu « polluer » la fraction contenant les spermatozoïdes.

Parmi les taureaux révélés séropositifs dans une étude serbe (18/50), le virus n'a été isolé chez aucune semence de ces 18 taureaux, cependant cet isolement est techniquement difficile du fait de l'utilisation de semence diluée. En revanche, le génome du *BoHV-4* a été isolé temporairement dans un échantillon de sperme, par PCR nichée. Par la suite ce taureau a été prélevé 30, 60 puis 90 jours après le test initial positif, aucune de ces nouvelles PCR ne se sont avérées positives. Ces résultats soutiendraient le fait que la semence d'un taureau infecté puisse être avirémique pendant une longue période, mais lors de réactivation virale, le *BoHV-4* pourrait de nouveau être présent dans le sperme (NIKOLIN *et al.*, 2008) ; suggérant par la même occasion une nouvelle voie de contamination du *BoHV-4*.

D'autres voies d'inoculation du *BoHV-4* ont été utilisées expérimentalement : injections intraveineuse (EGYED *et al.*, 1999), intradermique (OSORIO et REED, 1983), intramammaire (WELLENBERG GJ, 2002a), intratesticulaire (THIRY, 1981) ou intratrachéale (EGYED *et al.*, 1996 ; MOHANTY *et al.*, 1971 ; OSORIO et REED, 1983).

d. Modes de transmission

i. Voie horizontale

Il convient de rappeler que le *BoHV-4* est un virus enveloppé donc peu résistant dans le milieu extérieur. Il est sensible au dessèchement et à la lumière mais peut présenter une résistance modérée aux températures hivernales avec une hygrométrie élevée. Ainsi la transmission directe sur de courtes distances est privilégiée, typiquement chez les bovins par le contact direct de mufle à mufle, cela concerne également le *BoHV-1* et le *BoHV-5*. Le *BoHV-4* peut être transporté via des aérosols, mais aucune étude ne fait mention de la distance sur laquelle le virus peut se propager grâce au vent.

Le lait représente un bon candidat pour la transmission du *BoHV-4*, il prémunit le virus du dessèchement et de l'action de la lumière. Le virus est protégé par les membranes lipidiques cellulaires, ce fait peut augmenter la probabilité de l'infection des animaux pré-sevrés par le contact étroit entre le *BoHV-4* et la muqueuse orale. De plus, la réponse immune humorale des bovins à l'encontre de l'infection par le *BoHV-4* se caractérise par une faible production d'anticorps neutralisant. Ce manque de tels anticorps dans le lait et le colostrum de vaches infectées peut favoriser la transmission au veau allaitant. Le *BoHV-4* a un tropisme pour le tissu mammaire (notamment les cellules épithéliales des conduits lactifères), le tissu mammaire infecté agit comme une source de contamination du lait (MIYANO *et al.*, 2004) (KALMAN *et al.*, 2004). Cependant même si le caractère infectieux potentiel du *BoHV-4* a été prouvé *in vitro* (DONOFRIO *et al.*, 2000b), l'importance réelle de l'allaitement comme voie de transmission reste à approfondir.

L'éventualité d'une transmission vénérienne du *BoHV-4* peut être soulevée mais reste encore à démontrer (THIRY, 2007). En France, une série d'avortement positifs au *BoHV-4* suite à un passage en monte naturelle a été observé, le taureau incriminé avait présenté une orchite, seulement l'absence d'analyse réalisée sur ce taureau ne nous permet pas de conclure sur cette suspicion (QUENTIN *et al.*, 2013).

Aucune transmission vectorielle du *BoHV-4* n'est suggérée dans la littérature, contrairement au *BoHV-1* et *BoHV-2* (GALAIS-DUHAMEL, 2006).

ii. Voie verticale

La transmission transplacentaire du *BoHV-4* existe, les veaux testés avant la prise colostrale naissent séronégatifs (EGYED *et al.*, 2011). Le virus peut atteindre les tissus fœtaux à tous moment de la gestation par fusion directe des membranes des cellules placentaires ou par les macrophages infectés, considérés comme les principaux vecteurs du génome *BoHV-4* latent. Cependant, cette transmission *in utero* semble peu efficace puisque seules 54,8% des 31 mères infectés ont produits des nouveau-nés infectés, de plus une quantité moindre de génome viral a été retrouvée par Rt-PCR (Real-time PCR : test quantitatif) chez les nouveaux nés (100%) comparativement aux mères correspondantes (153%). Les produits issus de mère infecté ne sont pas systématiquement infectés, si infection il y a, le niveau d'infection est moindre chez le veau que chez la mère (MARKINEGORIAYNOFF *et al.*, 2003b).

De même les voies de transmissions indirectes, communément admises pour les herpès-viroses des ruminants, via des aliments ou de l'eau contaminée, via de la semence contaminée par le *BoHV-4* puis utilisée en inséminations artificielles, ou encore au sein d'un troupeau laitier via la machine à traire (ENGELS et ACKERMANN, 1996) n'ont malheureusement pas été documentées pour le *BoHV-4*.

Enfin, le traitement à la trypsine (selon les recommandations de l'International Embryo Transfer Society) semble garantir une très bonne efficacité contre le *BoHV-4* sur des embryons produits *in vitro*, même fortement contaminés, tout en préservant la viabilité embryonnaire (STRINGFELLOW *et al.*, 1990). Le virus n'infecte les cellules embryonnaires que si la zone pellucide est ouverte (DONOFRIO *et al.*, 2003), or même après l'éclosion, les embryons produits *in vitro* se montrent réfractaires à l'infection par le *BoHV-4* (VANROOSE *et al.*, 1996). Le *BoHV-4* n'est donc pas un virus à risque dans les opérations de production d'embryons *in vitro* ou *in vivo* (CHASTANT-MAILLARD, 2012).

e. *Maintien de l'infection*

Les sources de contamination sont représentées par les animaux contaminés ainsi que les animaux latents en phase de ré-excrétion. Trois propriétés du *BoHV-4* rendent son infection très difficile à éradiquer en élevage :

- l'établissement de la latence : la signification épidémiologique de la latence est de permettre le maintien de l'infection dans un groupe d'animaux sans apport exogène du virus,
- la transmission transplacentaire du *BoHV-4* parfois sans conséquences graves pour le veau (EGYED *et al.*, 2011) et,
- le caractère finalement peu pathogène du virus rend sa détection clinique non évidente, tous ces éléments concourent grandement au maintien de l'infection à l'échelle du troupeau.

Il convient également de s'interroger sur le rôle de la faune sauvage dans le maintien de l'infection des troupeaux bovins. Localement, aucun animal sauvage testé n'a présenté d'anticorps anti-*BoHV-4* lors d'une enquête sérologique franco-belge (THIRY *et al.*, 1988), tandis qu'une étude visant à détecter par PCR plusieurs virus chez les ruminants sauvages en Hongrie a montré la présence du *BoHV-4* chez toutes les espèces testées, à des prévalences allant de 12 à 69 % (tableau 2). Cependant, aucune conclusion ne peut être tirée sur le rôle de la faune sauvage dans l'infection du bétail et vice versa (KALMAN et EGYED, 2006), qui plus est en France.

Aucune étude ne prouve le rôle des cheptels ovins/caprins dans la transmission ou le maintien viral du *BoHV-4* chez les bovins.

Cependant, plusieurs constats tirés de la littérature peuvent aider le praticien dans la définition des catégories d'individus à risque. Selon THIRY et collaborateurs (1989), la susceptibilité des vaches à l'infection par le *BoHV-4* ne semble ni reliée à la race ni à la parité, aucune relation n'a également été établie entre la parité et la survenue de métrites à *BoHV-4* (WELCHMAN *et al.*, 2012). Cependant, en pratique, la séroprévalence des adultes est plus élevée que celle des jeunes, il est aussi rapporté que la majorité des séroconversions se produisent après le premier vêlage (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1988). La faible séroprévalence rapportée en Irlande du Nord chez les jeunes bovins comparée aux adultes (GRAHAM *et al.*, 2005) suggère que de manière générale, la plupart des animaux s'infecte dès lors qu'ils rejoignent le troupeau adulte. Plusieurs études corroborent cette corrélation positive entre l'âge des animaux et le taux en anticorps anti-*BoHV-4* : ELHASSAN *et al.*, 2011 ; GUO *et al.*, 1988 ; WELLENBERG *et al.*, 1999 ; pour BILGE-DAGALP et collaborateurs (2007), les adultes sont plus souvent infectés que les animaux âgés de moins de 2 ans, les séroprévalences observées chez tous les animaux, qu'ils proviennent ou non d'élevage à problème de reproduction, variaient en fonction de l'âge des animaux. NIKOLIN et collaborateurs (2008) montrèrent également une rapide augmentation du nombre d'animaux séropositifs dès l'âge de 2 ans. Pour ELHASSAN et collaborateurs (2011), les femelles possèderaient une séroprévalence significativement plus élevée à l'égard du *BoHV-4* que les mâles.

L'épidémiologie du *BoHV-4* n'est pas encore totalement élucidée, ce virus n'a pas fait l'objet d'études aussi intenses que le *BoHV-1*. La simple prévalence du *BoHV-4* sur le territoire français n'est que très peu documentée.

B. Pathologie et signes cliniques associés au *BoHV-4* chez les bovins

L'implication du *BoHV-4* a longtemps été suggérée pour un grand nombre de maladies : mammite, péritonite, pneumonie, infertilité, diarrhée néonatales, morts subites du nouveau-né etc. (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1988). D'ailleurs, l'étude menée par DROLET *et al.* (1986) est un bon exemple de la diversité des signes cliniques observés, lorsque le *BoHV-4* est isolé chez les bovins. Dans cette étude de 28 mois, dans les fermes laitières du Minnesota, 33 % des isollements viraux étaient associés à de l'avortement, 25 % à de la pneumonie, 17 % à de la diarrhée et 25 % avec d'autres symptômes. Enfin, il convient de rappeler que ce virus a également été isolé d'individus apparemment sains (MONGE *et al.*, 2006).

Les données actuelles sur la pathogénie du *BoHV-4* nous aident à comprendre ces résultats, perturbants en première lecture : (i) l'affinité du *BoHV-4* pour les cellules mononuclées sanguines (CMS) fait que le virus peut-être virtuellement isolé de tous les organes, et isolement n'est pas synonyme d'implication. (ii) L'infection massive des CMS par le *BoHV-4* pourrait engendrer une altération de la réponse immunitaire, ouvrant la voie à une multitude d'expressions cliniques chez l'individu infecté (THIRY, 2007). (iii) Cette immunodépression favoriserait l'avènement de pathogènes opportunistes, qui ne sont pas systématiquement l'objet de recherche dans les études citées. Enfin, (iv) comme les autres *rhadinovirus*, le caractère pathogène du *BoHV-4* s'atténue progressivement en culture de cellules. Cette propriété nous amène à tempérer l'efficacité des inoculations expérimentales, qui sont pourtant nécessaires pour caractériser le rôle pathogène du virus (MARKINEGORIAYNOFF *et al.*, 2003b).

1. Affections oculaires et respiratoires

Historiquement, le *BoHV-4* a pour la première fois été isolé à partir de veaux atteints de maladie respiratoire et kératoconjonctivite (BARTHA *et al.*, 1966). Depuis lors, d'autres isollements sont venus s'ajouter : à partir de veaux (FICHTELOVA et KOVARCIK, 2010 ; MOHANTY SB, 1971) ou de bovins adultes (FICHTELOVA et KOVARCIK, 2010 ; SMITH *et al.*, 1972) atteints de pathologie respiratoire. Une nette séroconversion à l'égard du *BoHV-4* a été observée chez 4 vaches déclarant des troubles respiratoires. Cette observation suggère l'implication du virus dans la survenue de ces symptômes (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1988).

Cependant, même si plusieurs inoculations expérimentales de veaux avec différentes souches de *BoHV-4* ont réussi à reproduire des symptômes de maladie respiratoire : fièvre, abattement, écoulement nasal et toux (CASTRUCCI *et al.*, 1987b) ; toux, jetage, bronchite, diarrhée (EGYED *et al.*, 1996) ; signes cliniques modérés de bronchite accompagné d'hyperthermie fugace (EGYED et BARTHA, 1998) ; ces résultats d'épreuves d'inoculation sont inconstants et les signes cliniques générés souvent modérés. On notera également l'isolement concomitant de *Pasteurella multocida* (THIRY *et al.*, 2000) ; tous ces éléments viennent mettre en doute le caractère purement pathogène du *BoHV-4* dans les maladies du tractus respiratoire.

Son implication en pathologie respiratoire est de nos jours quelques peu abandonnée, au profit de son implication éventuelle dans la pathologie de la reproduction (FICHTELOVA et KOVARCIK, 2010).

2. Lésions cutanées

Le virus a également été isolé à partir de lésions cutanées, par exemple dans un cas de dermatose nodulaire contagieuse autrement appelée Lumpy Skin Disease (HOUSE *et al.*, 1990), ou de dermatite pustuleuse mammaire (REED *et al.*, 1977), ou encore de dermatite chronique ulcéreuse mammaire (CAVIRANI *et al.*, 1990). L'inoculation expérimentale du virus à partir d'un isolat de dermatite pustuleuse mammaire n'a engendré qu'une réponse fébrile, l'inoculation intradermique du virus dans la mamelle n'a produit que des lésions vésiculeuses (OSORIO et REED, 1983).

Une fois de plus, l'isolement du virus dans les lésions cutanées ne confirme en rien son implication directe dans la genèse de ces troubles.

3. Troubles nerveux associés

Bien que le *BoHV-4* ne soit pas considéré comme un virus neurotrope à l'image du *BoHV-5*, le virus ou son génome ont été isolés du système nerveux central des bovins (PERSHEV et CHRISTOVA, 2013), parfois dans le cadre d'infections persistantes chez des animaux présentant des signes cliniques neurologiques divers.

Ainsi la souche B11-41 (groupe DN-599 like) a été isolée de la corde spinale d'une vache atteinte d'ataxie (YAMAMOTO *et al.*, 2000) ; le *BoHV-4* a également été isolé de l'encéphale d'une vache atteinte d'encéphalite (FRIDGUT et STRAM, 2006) ; et de bovins présentant des troubles nerveux divers au rang desquels ataxie, décubitus, impossibilité de relever, opisthotonos, pédalage, nystagmus et ptialisme (COSTA *et al.*, 2011). Il est à noter que dans cette étude, parmi les 14 échantillons testés, tous sont revenus PCR-*BoHV-4* +, 2 également au *BoHV-5* mais aucun aux *BHV-1*, *SHV-1* ou *OHV-2*.

Des inoculations expérimentales du *BoHV-4* ont permis de retrouver le virus dans le système nerveux de l'organisme inoculé (CASTRUCCI *et al.*, 1987b) mais n'ont pas reproduit de signes cliniques d'ordre nerveux (ASANO *et al.*, 2003).

Dans la genèse des troubles nerveux, l'implication seule du *BoHV-4* doit être considérée avec beaucoup de prudence. Parmi les encéphales autopsiés par COSTA et collaborateurs, des lésions d'encéphalite non suppurative associées à des lésions vasculaires importantes (hémorragies, thrombus et vascularites lymphocytaires) ont été observées. Le tropisme du *BoHV-4* pour les cellules endothéliales (LIN *et al.*, 2000) et sa réplication en leur sein pourrait causer les dommages vasculaires et l'inflammation observés (COSTA *et al.*, 2011).

4. Coryza gangréneux

Le *BoHV-4* a été isolé de la glande thyroïde, de la glande surrénale et de la rate de bisons américains atteints de la forme européenne du coryza gangréneux (TODD et STORZ, 1983).

Ici encore, rien ne laisse présager de l'implication réelle du *BoHV-4* dans la clinique observée, ce pourrait juste être un isolement accidentel du à la présence du virus dans les CMS lors des prélèvements.

NB : L'herpèsvirus alcélapin (*AIHV-1*) est un gammaherpèsvirus, genre *macavirus*. Il revêt un caractère asymptomatique chez le gnou (*Connochaetes taurinus*), hôte naturel du virus chez qui il est hautement prévalent. Chez les ruminants domestiques, ce virus provoque un syndrome souvent léthal : le coryza gangréneux forme africaine. Or, il est intéressant de noter qu'il existe une relation sérologique croisée entre l'*AIHV-1* et le *BoHV-4*. Ainsi, les buffles africains, considérés comme hôtes naturels du *BoHV-4*, donc hautement infectés par le virus, sont protégés de l'infection contre l'*AIHV-1* grâce à la co-infection par le *BoHV-4*. Selon cette hypothèse, les rares cas de Coryza Gangréneux (forme africaine) observés chez le buffle représenteraient l'élimination des animaux séronégatifs envers le *BoHV-4*. Cette hypothèse permettrait ainsi d'expliquer la séroprévalence très élevée observée chez le buffle envers le

BoHV-4 par rapport à celles estimées pour l'espèce bovine (DEWALS, 2007). On peut qualifier les relations *AIHV-1*/gnou – *BoHV-4*/buffle africain de « symbiotiques », elles mettent en évidence les relations complexes qui régissent l'écosystème africain.

5. Troubles associés au tractus digestif

Le *BoHV-4* a été isolé à partir de fèces diarrhéiques d'une vache aux États-Unis (EUGSTER, 1979), de diarrhées néonatales associées à *Cryptosporidium sp.* ainsi que d'une tumeur ruminale au Kenya (KAMINJOLO *et al.*, 1972) ou encore d'une glossite ulcéreuse en Italie (FLAMMINI *et al.*, 1985).

L'inoculation expérimentale du *BoHV-4* chez des veaux a provoqué pour certains d'entre eux (3/5), de la diarrhée entre 5 et 8 jours post-infection (EGYED *et al.*, 1996). Selon les auteurs, la réplication virale du *BoHV-4* dans l'épithélium de la muqueuse intestinale contribuerait directement ou indirectement à l'invasion bactérienne des intestins, déclenchant la diarrhée. Cependant, dans cette expérience, le virus n'a pu être isolé à partir des intestins, malgré les PCR positives.

Une fois de plus, l'implication du *BoHV-4* dans les affections du tractus digestif n'est pas clairement déterminée.

Enfin, le *BoHV-4* a par ailleurs été isolé d'affections bovines autres que celles susmentionnées, par exemple dans des processus tumoraux de la vessie (KAMINJOLO JS, 1972) ou de l'ethmoïde (MORENO-LOPEZ *et al.*, 1989), des carcinomes squameux oculaires (ANSON *et al.*, 1982) ou lymphomes à cellules T (TOHO *et al.*, 1985). Récemment, des complications postopératoires inhabituelles et fatales ont été décrites dans un contexte d'infection par le *BoHV-4* (QUENTIN *et al.*, 2013).

6. *BoHV-4* et troubles de la reproduction

Depuis les années 70, plusieurs souches de *BoHV-4* ont été isolées en Afrique chez des animaux déclarant des symptômes associés au syndrome « épivag » (pour épидидymite-vaginite) (FRANCESCHI, 2009-2011). L'hypothèse de l'implication du *BoHV-4* dans les troubles de la reproduction a ainsi été soulevée précocement, et semble désormais faire consensus (au moins dans le cadre de métrites rebelles aux traitements classiques). De nombreuses données épidémiologiques à travers le monde viennent conforter cette thèse, par exemple BILGE-DAGALP et collaborateurs (2007) ont mis en évidence des séroprévalences vis-à-vis du *BoHV-4* de 57 et 45 % chez, respectivement, des vaches à problèmes de reproduction et des vaches apparemment saines (OR=1,6).

a. Infertilité chez le taureau

THIRY et collaborateurs (1981) ont isolé une souche de *BoHV-4* (souche V-test) dans un contexte d'orchite œdémateuse accompagnée d'azoospermie chez un taureau. L'injection expérimentale intra-testiculaire de cette souche n'a pas produit de lésions spécifiques. A noter que l'infiltration du tissu interstitiel par les cellules mononuclées était plus fréquemment observée dans l'épididyme que dans le testicule. Une étude plus tardive a isolé le *BoHV-4* d'un cas d'orchite (DUBUISSON *et al.*, 1987), une nouvelle injection expérimentale de la souche V-test a été réalisée dans le but de recréer orchite et azoospermie chez des taureaux, cependant aucun signes cliniques persistents n'ont été signalés, seulement une azoospermie temporaire et de la conjonctivite (DUBUISSON *et al.*, 1989b).

Des études complémentaires sont nécessaires pour caractériser le rôle du *BoHV-4* dans la pathologie génitale du taureau.

b. Affections propres à la vache

i. Pathologie mammaire

Comme mentionné précédemment dans l'item « lésions cutanées », la souche DN-599 du *BoHV-4* a été isolée à partir de lésions mammaires de vaches en lactation atteintes de dermatite pustuleuse mammaire (REED *et al.*, 1977). Le virus a également été isolé de la fraction cellulaire du lait collecté d'une vache souffrant de dermatite ulcéreuse chronique mammaire (CAVIRANI *et al.*, 1990) mais aussi dans des cas de mammites cliniques, sub-cliniques (WELLENBERG *et al.*, 2002d), dans un troupeau touché par une flambée de mammites d'allure contagieuses (IZUMI *et al.*, 2006) et même en l'absence de symptôme mammaire dans le lait d'animaux simplement séropositifs (DONOFRIO *et al.*, 2000b).

Il convient de rappeler qu'à l'heure actuelle, et malgré les nombreuses recherches bactériologiques menées par les acteurs de l'industrie laitière, entre 20 et 35 % des mammites ont une étiologie inconnue (WELLENBERG *et al.*, 2002d). L'implication éventuelle du *BoHV-4* dans les mammites, quelles soient cliniques ou sub-cliniques a fait l'objet de plusieurs études récentes.

- Mammites cliniques :

Deux études cas/témoins ont été réalisées parmi le cheptel laitier danois. Le *BoHV-4* a été isolé du lait dans 4,5 % (5/112) des cas de mammites cliniques étudiés et chez aucune vache contrôle (WELLENBERG *et al.*, 2000 ; WELLENBERG *et al.*, 2002c). Concomitamment à la survenue de ces mammites, de fortes séroconversions à l'égard du *BoHV-4* ont été observées chez 3 de ces 5 vaches. Dans ces deux études, la présence du *BoHV-4* s'accompagnait de celle de pathogènes mammaires classiques : *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus uberis*. Une étude hongroise a révélé que le lait issu de vache atteinte de mammites cliniques contient une charge virale 6,37 fois plus élevée que celui de vaches saines (KALMAN *et al.*, 2004).

MIYANO *et al.* (2004) ont rapporté les premières lésions mammaires associées à l'infection par le *BoHV-4* chez une vache atteinte de mammites cliniques. Cette infection y est décrite comme associée à la dégénérescence et la desquamation des cellules épithéliales, ces lésions sont rapportées comme similaires à celles observées sur l'endomètre des vaches infectées naturellement par le *BoHV-4* (EGYED *et al.*, 1996).

Une étude expérimentale n'a pas pu reproduire de mammites cliniques (i.e. lait d'aspect anormal) suite à l'inoculation intranasale et intramammaire simultanée du *BoHV-4* (WELLENBERG *et al.*, 2002a).

- Mammites sub-cliniques :

ALI et collaborateurs (2011) ont noté que, parmi les vaches présentant un comptage cellulaire somatique élevé (>200 000 c/ml) et un lait négatif en bactériologie, de hauts titres en anticorps spécifiques anti-*BoHV-4* ont été détectés, ainsi que pour l'un des échantillons de l'ADN viral. De plus, dans un troupeau laitier de Hongrie, le lait apparaît positif au *BoHV-4* par PCR chez 5,9 % des vaches à mamelle apparemment saine, contre 92,9 % chez des vaches présentant une mammites sub-cliniques (KALMAN *et al.*, 2004). Ces résultats épidémiologiques

viennent étayer un peu plus le rôle potentiel du *BoHV-4* dans la survenue des mammites subcliniques.

Enfin, l'inoculation conjointe intranasale et intramammaire du *BoHV-4* a reproduit une mammité sub-clinique (augmentation du comptage cellulaire somatique) chez 2 des 4 vaches éprouvées, soit chez 50 % des quartiers inoculés (WELLENBERG *et al.*, 2002a) et le virus a également été isolé à partir de ces quartiers.

L'isolement du *BoHV-4* s'accompagne souvent de l'isolement concomitant de *Staphylococcus aureus* (40,8% des échantillons PCR *BoHV-4+*), *Streptococcus uberis* (37,5%) et *Escherichia coli* (30%) (KALMAN *et al.*, 2004) mais aucune relation significative n'a été mise en évidence entre la présence du virus et celle d'une bactérie en particulier. Le rôle du *BoHV-4* en tant qu'agent potentialisateur d'autres pathogènes mammaires reconnus a été exploré. Ainsi, l'infection de la mamelle par *Streptococcus uberis* semble déclencher la réplication du *BoHV-4* chez des vaches infectées par ce virus 2 semaines auparavant. En effet, le virus a été isolé du lait de 2 des 4 quartiers, après inoculation intramammaire de *Streptococcus uberis* (WELLENBERG *et al.*, 2002a). Une association statistique positive entre la présence d'anticorps anti-*BoHV-4* et l'incidence des mammites à *S. aureus* a été mise en évidence par ZADOKS et collaborateurs (2001). Cette découverte suggérait qu'une infection par le *BoHV-4* favorisait le développement de mammites à *Staphylococcus aureus*. Cependant une récente étude canadienne a mis en défaut ce résultat : sur 50 échantillons de lait contaminés par *Staphylococcus aureus*, de faibles taux en anticorps *BoHV-4* ont été détectés et seul un échantillon est revenu *BoHV-4* positif à la PCR. Aucune relation significative n'a donc été mise en évidence dans cette dernière étude entre la présence avérée de *Staphylococcus aureus* et celle du *BoHV-4* (ALI *et al.*, 2011).

Ces études suggèrent l'implication du *BoHV-4* en pathologie mammaire bovine. Bien qu'il ne semble pas jouer un rôle de premier plan dans les mammites cliniques, il pourrait être impliqué dans la survenue des mammites sub-cliniques. Il est suggéré le rôle de l'infection bactérienne dans la réactivation virale du *BoHV-4* (ALI *et al.*, 2011) : cette réactivation virale sur le lit d'une infection bactérienne préexistante pourrait aggraver et prolonger l'épisode de mammité (KALMAN *et al.*, 2004). Le *BoHV-4* agirait ainsi en tant qu'agent potentialisateur. D'autres études sont nécessaires pour caractériser son rôle, mais certains auteurs soutiennent la thèse d'un rôle immunosuppresseur du virus via l'infection des cellules immunitaires (macrophages), d'autres avancent la très grande affinité du virus pour les cellules endothéliales bovines (LIN *et al.*, 1997), et donc son implication dans la genèse de dommages vasculaires, pouvant mener à une réaction inflammatoire chronique (LIN *et al.*, 2000), ici de la mamelle.

ii. Vaginite

Le *BoHV-4* a été isolé à partir d'une flambée de vulvo-vaginites nécrotiques chez des vaches laitières en Israël (FRIDGUT et STRAM, 2006). Il a été retrouvé sur des écouvillons vaginaux, en association avec une bactérie anaérobie, *Porphyromonas levii*.

iii. Métrite

Deux entités cliniques existent au sein des infections utérines. (i) La métrite est définie comme une inflammation de l'ensemble de la paroi utérine. Elle s'accompagne de symptômes généraux (hyperthermie >39,5°C, écoulements utérins nauséabonds bruns-rougeâtres, utérus flasque, anorexie, diminution de la production laitière) elle est dite « puerpérale aigüe » quand elle intervient dans les 10 jours *post-partum*. (ii) L'endométrite (ou « métrite chronique ») désigne l'inflammation de l'endomètre après 21 jours *post-partum*, elle n'implique pas d'atteinte de l'état général, malgré un utérus volumineux au contenu purulent. 40% des bovins sont affectés par la métrite *postpartum*, engendrant infertilité et pertes économiques. L'étiologie est majoritairement considérée comme bactérienne et l'isolation virale ou la sérologie ne sont que rarement envisagés en pratique courante (SHELDON *et al.*, 2009).

Le premier isolement du *BoHV-4* dans un contexte de métrite a été réalisé en 1973 (PARK et KENDRICK, 1973). Depuis lors, de nombreux isollements similaires ont été rapportés à travers le monde, à partir de l'endomètre, des liquides vaginaux, utérins et péritonéaux, mais aussi du sang des vaches atteintes, notamment en Inde (MEHROTRA *et al.*, 1986), en Italie (CASTRUCCI *et al.*, 1986), en Belgique (CZAPLICKI et THIRY, 1998), en Espagne (MONGE *et al.*, 2006), en Serbie (NIKOLIN *et al.*, 2007), en Turquie (BILGE DAGALP *et al.*, 2010) ou encore aux Etats-Unis (FRAZIER *et al.*, 2001 ; FRAZIER *et al.*, 2002) où les endométrites associées au *BoHV-4* sont décrites comme un syndrome émergent dans les troupeaux laitiers de Géorgie. En effet, la prévalence des métrites à *BoHV-4* peut être importante au sein d'un troupeau infecté : 59 % des animaux (VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1988). Dans une récente étude, l'isolement du virus dans les écouvillons vaginaux est significativement associé à la métrite (WELCHMAN *et al.*, 2012) mais il convient de rappeler que le virus a pu également être mis en évidence dans des prélèvements génitaux de vaches apparemment asymptomatiques (MONGE *et al.*, 2006).

Le virus semble réactivé lors de la mise-bas, du fait de l'hypercortisolémie et du stress lié au part. La durée de l'excrétion virale s'étend jusqu'à 21 jours après le part (WELLEMANS *et al.*, 1986). Une séroconversion *post-partum* peut-être observée, même si les vaches ne développent pas de métrite (11 vaches sur 15 (GRAHAM *et al.*, 2005), cependant durant la phase aiguë de la maladie, 19, 32 et 86 % des vaches ne présentaient pas d'anticorps circulants anti-*BoHV-4* respectivement dans ces trois études (BILGE DAGALP *et al.*, 2010 ; MONGE *et al.*, 2006 ; NAK *et al.*, 2011). L'analyse bactériologique d'exsudats de métrite a isolé plusieurs bactéries : *Arcanobacterium pyogenes*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sp.*, *Citrobacter* (MONGE *et al.*, 2006 ; NAK *et al.*, 2011). Une fois de plus donc, cet isolement concomitant du virus et de bactéries suggère une collaboration entre agents pathogènes, le virus à l'état latent est réactivé par la contamination bactérienne, bactéries et virus induisent une inflammation endométriale (DONOFRIO *et al.*, 2008 ; SHELDON *et al.*, 2009). Enfin, FRAZIER et collaborateurs (2001 ; 2002) avancent l'hypothèse que les différentes souches de *BoHV-4* n'aient pas la même affinité pour l'endomètre, ni la même pathogénicité.

L'inoculation expérimentale de la souche LVR-140 du *BoHV-4*, isolé de cas de métrites, chez des vaches en fin de gestation induit une métrite chez 3 vaches sur 10 (WELLEMANS *et al.*, 1986) le taux de mortalité observé suite au challenge viral s'est révélé élevé (4/10).

La pathogénie du *BoHV-4* dans le cadre de métrites puerpérales a fait l'objet de nombreuses études et peut être modélisée précisément comme suit, d'après CHASTANT-MAILLARD (2012), consulter également la figure 7 :

« La lumière de l'utérus est physiologiquement contaminée par des bactéries après vêlage, au rang desquelles *Escherichia coli*. Le lipopolysaccharide LPS d'*Escherichia coli* dans l'utérus stimule la production locale de la prostaglandine E2 (PGE2) par les cellules du stroma endométrial. LPS et PGE2 induisent la réplication virale du *BoHV-4*, ce virus a un tropisme marqué pour l'épithélium endométrial sur lequel il exerce un effet cytopathique. En particulier, la PGE2 provoque la réactivation de la réplication virale dans les macrophages infectés persistants, lesquels affluent physiologiquement dans la lumière utérine après le vêlage (DONOFRIO et al., 2005a). Ce sont donc les bactéries et la réponse de l'endomètre à leur présence qui vont stimuler la réplication virale. Un cercle vicieux s'installe ensuite puisque le *BoHV-4* accroît l'activité de COX-2 et induit, lui-aussi, la sécrétion de PGE2 par le stroma endométrial (DONOFRIO et al., 2008 ; SHELDON et al., 2009). La réplication virale provoque également la synthèse d'interleukine 8 par les cellules endométriales, laquelle stimule la diapédèse des leucocytes vers la cavité utérine (DONOFRIO et al., 2010). Cela peut être considéré soit comme un mécanisme de défense de l'endomètre contre l'infection virale soit, inversement, comme un facteur favorable à la virulence, puisque la réplication virale attire vers elle des cellules sensibles (cellules blanches sanguines), voire attire vers l'utérus des cellules hébergeant le virus à l'état latent. La métrite bactérienne peut ainsi être exacerbée par le recrutement de neutrophiles infectés persistants par le *BoHV-4* sur le site de l'inflammation (DONOFRIO et al., 2007) »

En pratique, le *BoHV-4* peut être suspecté lorsque dans un troupeau, beaucoup de vaches sont atteintes de métrites postpartum rebelles aux traitements antibiotiques classiques, et que les autres facteurs de risques classiquement admis ont été écartés, i.e. une carence minérale et vitaminique, une hygiène insuffisante des bâtiments d'élevage, des désordres métaboliques tels l'hypocalcémie, des scores corporels hors normes et une nutrition non adaptée au tarissement et au vêlage etc. (MONGE et al., 2006). La réponse aux traitements d'une métrite partiellement imputable au *BoHV-4* est réputée mauvaise (BANKS et al., 2008), cependant une meilleure efficacité thérapeutique est obtenue lorsque le diagnostic est précoce, le choix des antibiotiques adéquat, leur administration agressive et en association avec un traitement à base de PGF2 α (NAK et al., 2011). Dans cette étude, les 15 vaches souffrant de métrite à *BoHV-4* ont guéri.

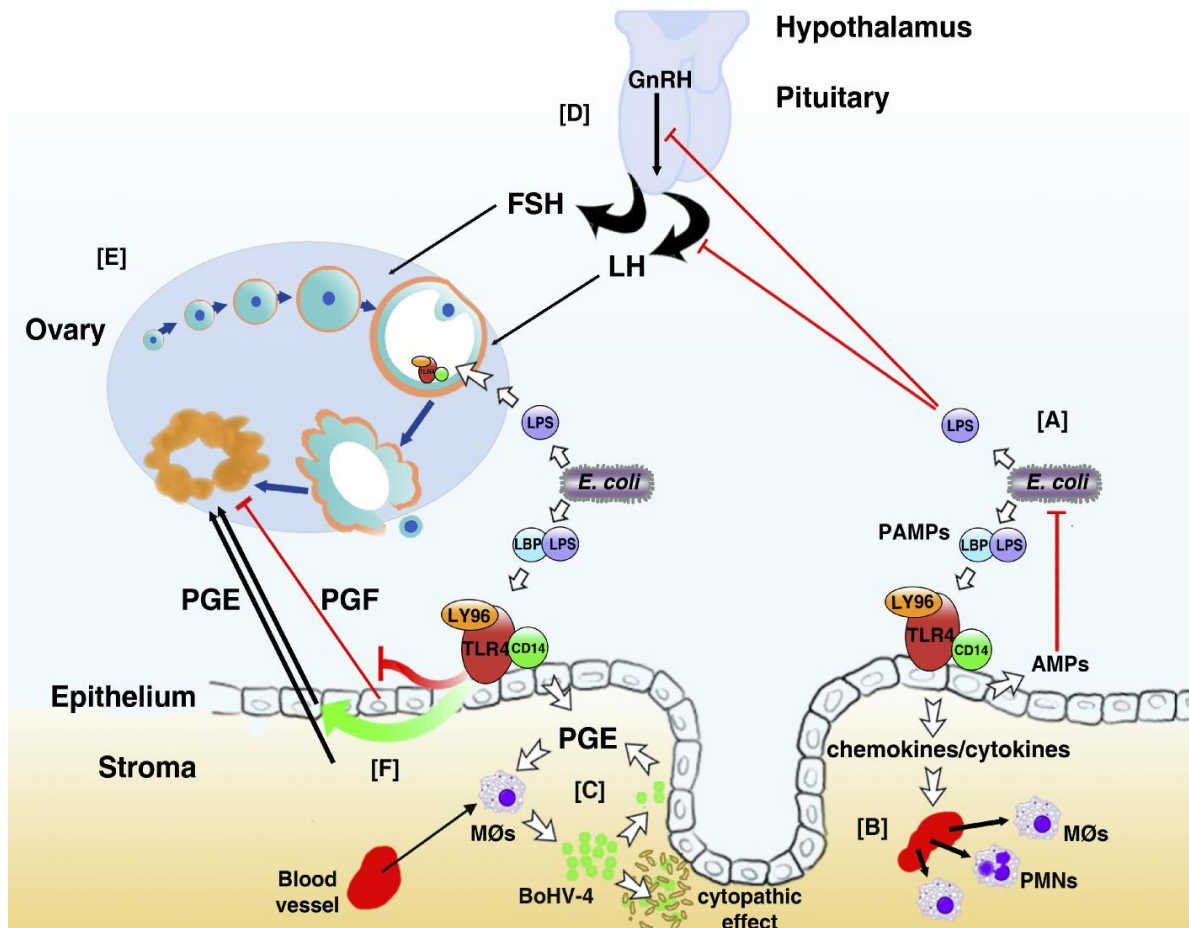
L'étude histologique des utérus n'a pas mis en évidence de lésions pathognomoniques.

iv. Infertilité

Plusieurs études ont tenté de mettre en exergue le rôle du *BoHV-4* chez les vaches *Repeat-Breeders* (i.e. vaches infertiles à chaleur normales, nécessitant plus de 3 IA avant de remplir) à travers le monde. Ainsi le *BoHV-4* s'est révélé hautement prévalent parmi les cas d'infertilité au Soudan (ELHASSAN *et al.*, 2011), ou en Argentine (PEREZ *et al.*, 2011). Il s'avère que la séroprévalence face au *BoHV-4* est significativement plus élevée chez les *Repeat-Breeders* que chez les vaches du groupe contrôle, respectivement 69 % et 44 % (Odd-Ratio=2,8) (GUR et DOGAN, 2010). Parmi 162 vaches laitières *Repeat-Breaders*, 53,70 % ont présenté des anticorps dirigés contre le *BoHV-4*, cette infection s'accompagne d'une baisse du taux de fécondation (*conception rate*), d'une augmentation de l'intervalle Vêlage-Insémination fécondante et de l'intervalle vêlage-4^e IA (KALE *et al.*, 2011). On citera enfin qu'une étude réalisée à l'abattoir, sur des utérus de vaches infertiles, a révélé que dans 87,1 % le *BoHV-4* y était détecté par PCR, et dans 81 % en association avec des bactéries et champignons (FABIAN *et al.*, 2008).

Ces nombreuses observations suggèrent un peu plus l'implication éventuelle du *BoHV-4* dans les troubles de la reproduction, dont l'infertilité est l'un des volets, et dont la métrite et l'endométrite peuvent être l'une des causes, consulter la figure 7.

FIGURE 7 : Les mécanismes à l'origine de l'infertilité associée aux affections utérines et à l'infection par le BoHV-4, d'après (SHELDON *et al.*, 2009)



Légende tirée de SHELDON *et al.* (2009) :

[A] : La colonisation utérine par *Escherichia coli* et *Arcanobacterium pyogenes* est physiologique après le part. La réponse immunitaire est déclenchée par l'interaction des récepteurs TLR des cellules endométriales avec des molécules pathogènes (ADN ou lipides bactériens) ou avec le LPS d'*Escherichia coli* (dont la protéine de transport est LBP). L'endomètre bovin sécrète des cytokines dont des chémokines pour guider la réponse immunitaire, augmenter l'expression des AMPs, et sécréter préférentiellement des prostaglandines de type E (PGE) plutôt que de type F (PGF). L'infection bactérienne engendre des dommages cellulaires, pouvant être à l'origine d'infertilité.

[B] : Les cytokines dirigent la réponse immunitaire. Ainsi, les chémokines attirent les neutrophiles (PMNs) et les macrophages (MØs) sur le site d'infection pour éliminer les bactéries. Cependant, la fonction neutrophilique est souvent altérée chez les bovins autour de la parturition, et la persistance des PMNs dans l'endomètre en l'absence de bactérie est connue comme une caractéristique des endométrites subcliniques.

[C] : La réplication virale du BoHV-4 dans les macrophages infectés de manière latente est stimulée par les PGE et le LPS. Le BoHV-4 peut infecter les cellules épithéliales et celles du stroma endométrial, générant à nouveau des dommages tissulaires.

[D] : Les concentrations en FSH ne sont pas affectées par les affections utérines, ainsi des vagues folliculaires émergent dès la première semaine *post-partum*. Cependant, le LPS peut réduire la sécrétion de GnRH et LH, réduisant de fait la capacité d'ovuler un follicule dominant.

[E] : Les vaches atteintes d'endométrite ont une croissance de leur follicule dominant ralentie dans l'ovaire et une concentration plus faible en œstradiol circulant, elles sont ainsi moins enclines à ovuler. En cas d'endométrite, les liquides folliculaires contiennent le LPS, les cellules de la granulosa expriment le complexe TLR4/CD14/LY96 (MD2) nécessaire à la détection du LPS, et le LPS en réduisant l'expression de l'aromatase perturbe la sécrétion d'œstradiol par les cellules de la granulosa.

[F] : Si les vaches atteintes d'endométrites ovulent, un corps lutéal se forme, il sécrète la progestérone et réinitie un cycle ovarien. Cependant, leur concentration plasmatique en progestérone est plus faible que chez une vache fertile. Les cytokines pourraient perturber la stéroïdogénèse des cellules lutéales. La lutéolyse est probablement perturbée, la phase lutéale souvent allongée parce que les bactéries induisent la sécrétion de PGE plutôt que PGF par les cellules de l'épithélium endométrial.

v. Avortement

Le rôle du *BoHV-4* dans l'avortement bovin n'est pas encore élucidé (SMITH, 1997), bien que des évidences épidémiologiques et expérimentales plaident pour son intervention. Dans une enquête menée sur 10 ans sur un total de 8995 avortons et mort-nés, un virus a été isolé dans 10,58 % des cas, le *BoHV-1*, défini comme agent abortif, chez 5,4% des échantillons, et le *BoHV-4* chez 0,52%, des échantillons (KIRKBRIDE, 1992).

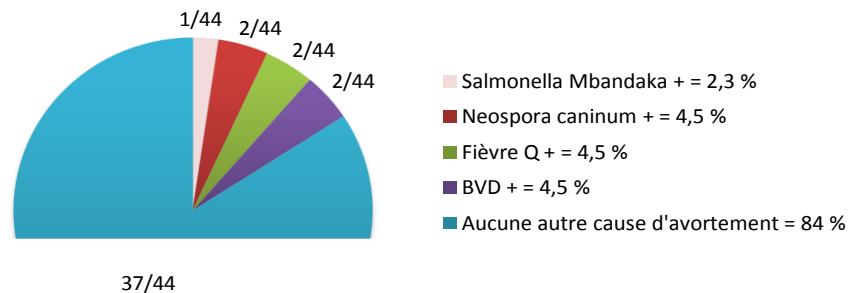
La littérature fait état de nombreux isollements du *BoHV-4* ou de son génome dans les avortons, et ce à différents stades de gestation. Par exemple, sur un avorton de 6 mois aux Etats-Unis en association avec le BVDV (cytopathogène) (REED *et al.*, 1979) ; des anticorps spécifiques anti-*BoHV-4* ont été détectés d'épanchements thoraciques de 4 avortons sur 420 testés (NAEEM *et al.*, 1989) ; en Israël, il a été dénombré 6 PCR-*BoHV-4* + sur 96 avortons même si aucun isolement viral n'a été rapporté (FRIDGUT et STRAM, 2006) ; DEIM et collaborateurs (2007) ont quant à eux détecté l'ADN du *BoHV-4* chez 7 des 24 avortons étudiés.

Après des avortées maintenant, plusieurs études sérologiques ont démontré que le *BoHV-4* était hautement prévalent parmi cette population, même si les résultats diffèrent. On citera par exemple que 48,6 % des avortées présentaient des anticorps anti-*BoHV-4* au Soudan (ELHASSAN *et al.*, 2011), ou encore 64,7 % d'un cheptel argentin affecté par des avortements et de l'infertilité hébergeait le génome du *BoHV-4*, mis en évidence par PCR nichée (PEREZ *et al.*, 2011) ; une séroprévalence 14,1% est avancée par WELLEMANS et VAN OPDENBOSCH (1989) sur un total de 205 avortées échantillonnées. En France, le laboratoire de la Manche a réalisé une étude rétrospective sur des échantillons d'ADN issus de prélèvements d'avortement (au nombre de 640), éprouvés par PCR. Il en ressort que le taux de prévalence individuelle apparent du *BoHV-4* est de 6,9 % et le taux de prévalence cheptel est de 7,8 % (LEBOEUF, 2013). Cette étude a été complétée en 2012 à partir de 1102 échantillons, le *BoHV-4* a été retrouvé par PCR chez 6,6 % des vaches avortées (TREILLES *et al.*, 2013), ces résultats sont proches des 8 % précédemment avancés par CZAPLICKI et THIRY (1998) en Belgique.

De manière plus pertinente, grâce à des études cas/témoins, une différence significative de séroprévalence a été mis en évidence entre 2 groupes : les avortées d'un côté et un lot témoin de l'autre. Ainsi, en Belgique, une étude séro-épidémiologique a révélé que la séroprévalence individuelle du *BoHV-4* était significativement plus élevée chez les avortées (17,2 %) comparée au groupe témoin (10 %) avec un Odd-Ratio=1,87, différent de 1 il reste faible (CZAPLICKI et THIRY, 1998). Localement, dans le département de la Manche en 2008, un résultat comparable a été obtenu : une différence significative de séroprévalence a été observée entre les vaches avortées (350 bovins) et une population de référence (118 bovins), respectivement 16,9 et 5,9% (TREILLES *et al.*, 2013).

Enfin, une récente enquête menée par le laboratoire ARSIA en Belgique rapporte que sur 368 cas d'avortements sélectionnés aléatoirement pendant l'hiver 2012, 75,8 % des mères avortées étaient séropositives, seulement 3 fœtus étaient séropositifs (0,8 %) mais PCR négatifs tandis que l'ADN viral a été détecté par PCR chez 4 fœtus [rate] (1,1 %) tous séronégatifs (DELOOZ *et al.*, 2012b). Dans cette étude, l'impact du *BoHV-4* dans les avortements paraît faible mais non négligeable et l'implication du virus a été démontrée dans 1,9 % des fœtus étudiés puisqu'aucun autre agent pathogène n'y a pu être isolé concomitamment (*Neospora caninum*, *BVDV*, *SBV*, *FCO*, *Coxiella Burnetii*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira sp.*, *Salmonella sp.*). Pour TREILLES et collaborateurs (figure 8), pour 37 des 44 échantillons d'ADN PCR+ au *BoHV-4* issus de prélèvements d'avortement dans la Manche, aucune autre cause infectieuse d'avortement n'a été détectée (TREILLES *et al.*, 2013)

FIGURE 8 : Autres agents pathogènes présents dans les prélèvements d'avortement positifs au *BoHV-4* (TREILLES *et al.*, 2013)



Malgré ces résultats, plusieurs auteurs font état de l'impossibilité de démontrer que seul, le *BoHV-4*, est responsable d'avortement (DEIM *et al.*, 2006 ; DEIM *et al.*, 2007). En 2007, est rapporté en Argentine le premier isolement du *BoHV-4* depuis des échantillons issus d'avortons bovins (VERNA *et al.*, 2008), les avortements s'étaient produits entre 4 et 8 mois de gestation et d'autres agents pathogènes abortifs ont été mis en évidence concomitamment dans les écouvillons vaginaux : *Leptospira*, *Neospora caninum*, *BVDV*, *Histophilus somni* et *Arcanobacterium pyogenes*. Dans une enquête turque menée par YILDIRIM et collaborateurs (2011), les auteurs ont recherché simultanément, sur des sérums de 140 avortées, la présence d'anticorps spécifiques aux *BoHV-1*, *BoHV-4* et *BVDV*. Ces avortements sont rapportés par les éleveurs comme ayant eu lieu courant les premier et second trimestres de gestation. Il en ressort que 11,4 % des échantillons présentaient une triple positivité face à ces 3 anticorps spécifiques ; 8,6 % étaient *BoHV-1* et *BoHV-4* positifs ; 6,4 % positifs au *BoHV-4* et *BVDV* ; en somme 29,3 % des échantillons possédaient des anticorps dirigés contre le *BoHV-4*.

Expérimentalement, l'inoculation *in utero* du *BoHV-4*, obtenu à partir de cas de métrites, chez des fœtus entre 3 et 4 mois de gestation a provoqué leurs morts avec une activation lymphoréticulaire dans les poumons et les nœuds lymphatiques (KENDRICK *et al.*, 1976) mais aucun signe n'était observé chez les vaches infectées à 7 mois de gestation. Le potentiel pathogénique de différents isolats de *BoHV-4* a été étudié chez les lapins. Toutes les souches ont montré une prédilection pour le tractus reproducteur, mais la fréquence d'avortement et la sévérité des maladies variaient (NAEEM *et al.*, 1991a). L'inoculation intra-utérine de virus infectant à des lapines à mi-gestation a provoqué l'avortement et le virus a été ré-isolé du fœtus et de l'ovaire, l'utérus et le placentome des lapines (NAEEM *et al.*, 1991b).

L'analyse transversale des données épidémiologiques et expérimentales du *BoHV-4* face aux avortements bovins n'est pas évidente. Elle met en évidence des résultats différents voire contradictoires, cependant, il convient de garder à l'esprit que des anticorps anti-*BoHV-4* ont été détectés chez les avortées, les séroprévalences observées chez ces dernières sont significativement plus élevées que chez les lots contrôles, du génome viral a également été mis en évidence chez les avortées et les avortons et dans certains cas sans aucun autre agent abortif ne soit concomitamment isolé. Enfin, certains auteurs ont essayé de préciser l'épidémiologie des avortements suspectés à *BoHV-4* ; ainsi pour KIRKBRIDE (1992), le virus semble être associé à des avortements sporadiques plus qu'à une épidémie d'avortement au sein d'un troupeau infecté, cette observation est partagée par FRIDGUT et STRAM (2006), préférentiellement entre 5 et 9 mois de gestation (CZAPLICKI et THIRY, 1998 ; LEBOEUF, 2013).

Des données sur la pathogénie présumée du *BoHV-4* dans les avortements bovins peuvent être tirées de la littérature scientifique. La sensibilité des cellules endothéliales bovines à l'infection par le virus *BoHV-4* suggère le passage du virus des cellules mononuclées sanguines à l'endothélium vasculaire, ouvrant la voie à l'infection de tissus et d'organes variés. Le virus croit *in vitro* sur toutes les lignées cellulaires épithéliales bovines, les cellules endothéliales sont particulièrement permissives au virus (LIN *et al.*, 1997). Ainsi, la couche épithéliale du chorion, et les deux couches cellulaires endothéliales sont probablement aisément franchies par le virion *BoHV-4* (EGYED *et al.*, 2011). Le virus peut ainsi passer la barrière placentaire et infecter le fœtus chez la vache gravide (WELLEMANS *et al.*, 1986). Cependant, l'efficacité de cette transmission est faible et les veaux naissent séronégatifs (EGYED *et al.*, 2011), dans certains cas cette infection au veau ne s'accompagne pas de conséquences graves, à l'image des herpèsviroses décrites en médecine humaine. La réplication du génome viral exige aussi des cellules en division active, principalement en phase S du cycle cellulaire, cellules rencontrées en grand nombre dans le fœtus (THIRY, 2002). Le virus peut atteindre les tissus fœtaux à tout moment de la gestation par fusion directe des membranes placentaires, ou via des macrophages infectés, considérés comme les principaux refuges du *BoHV-4* latent (DONOFRIO et VAN SANTEN, 2001). Le moment exact de la transmission virale au fœtus n'est pas encore déterminé, mais devrait selon certains auteurs se produire après le 4^e mois de gestation, puisque des inoculations intra-utérines du virus à partir de ce moment induisent une mort embryonnaire (KENDRICK *et al.*, 1976). DEIM et collaborateurs (2007) ont isolé le génome du *BoHV-4* dans le fœtus à partir de lymphocytes et monocytes spléniques, dans les cellules épithéliales des tubules rénaux, dans les cellules de Küpffer hépatiques mais pas dans les leucocytes circulants. L'*ante-partum* est une période de stress pour les vaches gestantes (déficit énergétique, poids du veau, activation du tissu mammaire, changements hormonaux), l'hypothèse d'une réactivation virale (CZAPLICKI et THIRY, 1998) consécutive à ce stress et d'une transmission placentaire du virus peut être avancée. Plusieurs faits soutiennent une transmission virale en

fin de gestation au fœtus : (i) un placenta ‘âgé’ en fin de gestation peut se révéler plus sensible à la transmission virale, (ii) les veaux naissent séronégatifs mais PCR positifs, (iii) les veaux contiennent quantitativement moins de génome viral que leur mère (Rt-PCR), et enfin, (iv) cette transmission transplacentaire ne résulte pas toujours en de lourdes conséquences histologiques et immunologiques chez le veau (EGYED *et al.*, 2011).

Des lésions histopathologiques associées à la présence du *BoHV-4* ont été décrites dans le placenta et l’avorton. Ainsi, il a été observé des corps d’inclusion acidophiles dans le noyau de plusieurs cellules chorioépithéliales dans uniquement un placenta sur les 33 étudiés (DEIM *et al.*, 2006). Des lésions modérées d’hépatite, de lymphadénite ou de bronchite purulente ont été notées chez 3 des 7 avortons autopsiés dans lesquels le *BoHV-4* a été isolé. Les auteurs avancent l’hypothèse que le *BoHV-4*, en détruisant les cellules fœtales et initiant une réponse immunitaire locale et donc perturbant la physiologie placentaire, pourrait causer l’avortement (DEIM *et al.*, 2007). Sur un avorton de 6 mois et demi, l’observation par microscopie électronique a révélé des corps d’inclusion cytomégaloviroïdes dans les pneumocytes, tubules rénaux, conduits biliaires, foie, myocarde et rate (SCHIEFER, 1974). Expérimentalement, sur fœtus inoculés à 3-4 mois de gestation, une hyperplasie lymphoïde dans les poumons et les nœuds lymphatiques a été observée (KENDRICK *et al.*, 1976).

En conclusion sur la pathologie associée au *BoHV-4*, on peut avancer que le *BoHV-4* est un virus présent chez les bovins de part le monde mais n’a pas encore été clairement associé à une entité pathologique particulière, les infections expérimentales ne reproduisent que difficilement les signes cliniques observés *in vivo*. Il a été fréquemment isolé à partir d’individu apparemment sain, ou à partir d’animaux présentant une multitude de signes cliniques, et même de cultures de cellules primaires. L’infection des CMS par le *BoHV-4* favoriserait ou aggraverait l’infection opportuniste par de multiples agents pathogènes. Les données actuelles de la littérature laisseraient sous-entendre son rôle en tant que pathogène secondaire chez les bovins (DONOFRIO *et al.*, 2005a), plusieurs zones d’ombres subsistent encore autour de ce virus concernant son épidémiologie et sa pathogénie.

C. Méthodes de diagnostic

L'épidémiologie (faisant intervenir des porteurs latents asymptomatiques) et la clinique du *BoHV-4* ne sont pas assez spécifiques pour permettre à elles seules le diagnostic d'une infection. Ces éléments rendent nécessaires, pour le praticien vétérinaire et les professionnels de la santé animale, le recours aux analyses de laboratoires.

1. Diagnostic de laboratoire

Sensibilité : capacité d'un test à mettre en évidence la plus petite quantité possible de l'élément recherché (dépend de la technique).

Spécificité : capacité du test à mettre en évidence exclusivement l'élément recherché (dépend du couple anticorps-antigène).

a. Diagnostic indirect

Il convient de rappeler qu'aucune relation antigénique entre le *BoHV-4* et les autres herpèsvirus bovins n'a été démontrée par les tests classiques. Les anticorps anti-*BoHV-4* peuvent être mis en évidence par différentes méthodes : via des réactions mettant en jeu l'union antigène-anticorps ou via des réactions mettant en jeu les propriétés biologiques intrinsèques des anticorps anti-*BoHV-4*.

Parmi les réactions ne mettant en jeu que l'union antigène-anticorps, peuvent être citées (i) les réactions immuno-enzymatiques ELISA (ou *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) (EDWARDS et NEWMAN, 1985) notamment l'ELISA indirecte (GUO *et al.*, 1988), avec en France : ID Screen® *BHV-4* développée par ID.Vet Montpellier et validée en 2009 (CARPINSCHI *et al.*, 2009) ; le (ii) *Dot Immunobinding Assay* ou DIA, décrite comme une forme modifiée d'ELISA (ESSMAIL *et al.*, 1999 ; NAEEM et GOYAL, 1990) ; (iii) les tests d'immunofluorescence notamment indirecte ou IFi (SASS B, 1974) (LEBOEUF, 2009) ; (iv) les tests d'épreuve d'immunoperoxydase sur monocouche de culture cellulaire ou IPMA pour *ImmunoPeroxidase Monolayer Assay* (WELLENBERG *et al.*, 1999).

Parmi les réactions mettant en jeu les propriétés biologiques des anticorps anti-*BoHV-4*, on citera la réaction de fixation au complément (GUO *et al.*, 1988). Les vaches infectées par le *BoHV-4* produisent peu voire pas d'anticorps neutralisants à l'égard de ce virus (figure 9), la réponse est faible et transitoire (ESSMAIL *et al.*, 1999 ; MOHANTY *et al.*, 1971 ; OSORIO *et al.*, 1985 ; VAN OPDENBOSCH *et al.*, 1988 ; WELLEMANS *et al.*, 1986) mais peut être améliorée par l'addition de complément (THIRY *et al.*, 2000). Cependant la réaction de séro-neutralisation (SN) reste inutilisable en pratique chez les bovins (EDWARDS et NEWMAN, 1985).

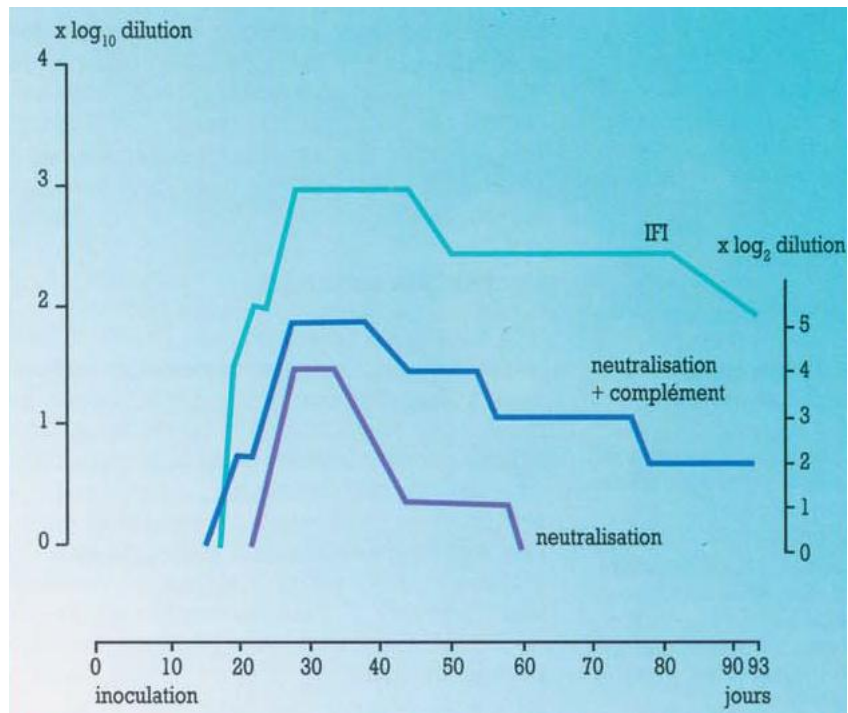
Le tableau 3 regroupe quelques caractéristiques de ces tests indirects relatives au *BoHV-4*.

TABLEAU 3 : Quelques caractéristiques des tests de diagnostic indirect utilisés dans la recherche du BoHV-4

Méthode indirecte	Avantages	Inconvénients
Fixation au complément		Peu sensible (<ELISAI pour les Ig G) (GUO <i>et al.</i> , 1988)
Test de séro-neutralisation (SN)		Peu sensible, peut être amélioré par l'addition de complément (THIRY <i>et al.</i> , 2000)
ELISA indirecte	Lecture des résultats automatisable Peu couteux, traitement d'un grand nombre d'échantillons (TREILLES <i>et al.</i> , 2013) Sensibilité : IFi \approx ELISAI Kit commerciaux	Qualitative (positive ou négative) (CARPINSCHI <i>et al.</i> , 2009) Détection uniquement Ig G1 et G2 (EDWARDS et NEWMAN, 1985) Détection des anticorps à 30 jours post-infection (WELLENBERG <i>et al.</i> , 1999)
DIA	Sensibilité (lapin) : DIA > SN+complément (ESSMAIL <i>et al.</i> , 1999) Sensibilité et spécificité : DIA \approx IFi (ESSMAIL <i>et al.</i> , 1999 ; NAEEM et GOYAL, 1990)	
IFi	Quantitative (utile pour les séroconversions) (LEBOEUF, 2009) Sensibilité : IFi \approx ELISAI (EDWARDS S, 1985)	Réalisation laborieuse Il existe des réactions croisées avec d'autres herpèsvirus (EDWARDS et NEWMAN, 1985)
IPMA (WELLENBERG <i>et al.</i> , 1999)	Sensibilité : IPMA > ELISAI Spécificité : IMPA \approx ELISAI (100%) Détection toutes les classes d'Ig : M, G1, G2 Détection Anticorps dès 16-18 jours post-infection Technique facilement adaptable à la souche virale locale ²	Lecture subjective des résultats, nécessité d'un personnel de laboratoire entraîné

² Pour rappel, la souche du BoHV-4 isolée localement dans la Manche est 100 % homologue à la souche de référence européenne V.Test (TREILLES *et al.*, 2013).

FIGURE 9 : La réponse sérologique chez un taureau après infection expérimentale par le BoHV-4 (THIRY et al., 2000)



Des trousse ELISA pour la recherche d'une séroconversion vis-à-vis du BoHV-4 à partir de sérum ou lait bovins sont disponibles sur le marché.

b. Diagnostic direct

A l'instar des autres gammaherpèsvirus, le *BoHV-4* a le potentiel d'établir une latence chez l'organisme infecté et possède un faible pouvoir immunogène. Ainsi, la détection de l'ADN viral est souvent utilisée pour compléter les résultats sérologiques (FABIAN et EGYED, 2004), et vérifier une suspicion.

Deux méthodes sont souvent décrites dans la littérature, l'isolement viral (IV) suivi d'un test d'immunofluorescence indirecte (IFi) pour identifier les souches et l'extraction d'ADN par amplification génomique (PCR). Le diagnostic de certitude reste l'IV, il peut se réaliser sur des prélèvements d'avortement (placenta) mais reste difficile en pratique. Avant l'utilisation de l'IFi à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques (IDvet®, Montpellier), trois jours de culture sur cellules primaires de rein de fœtus sont nécessaires (TREILLES *et al.*, 2013). Bio-X® commercialise également de tels kits. La recherche de fragments d'ADN propres au *BoHV-4* par hybridation (dot-blot, Southern blot) après amplification génomique par PCR est décrite comme la méthode d'avenir (DEIM *et al.*, 2007). En effet, la PCR présente plusieurs avantages : une très bonne sensibilité, un délai d'obtention des résultats plus court que pour les autres techniques, la détection des animaux porteurs latents est possible et la viabilité du virus non obligatoire. Historiquement, des sondes ADN ont été développées à partir de la souche DN599 du *BoHV-4* pour détecter et identifier la maladie par hybridation dot-blot (GALIK *et al.*, 1992). Plus tard, des tests utilisant une PCR nichée, de grande sensibilité que la PCR classique et compatibles avec l'espèce bovine, ont été mis au point (DONOFRIO *et al.*, 2000b ; EGYED *et al.*, 1996). Il est à noter que récemment, FABIAN et EGYED (2004) ont développé un test de PCR nichée duplex pour la détection conjointe des gammaherpèsvirus *BoHV-4* et *AIHV-1* à partir d'un même échantillon.

Des études ont comparé les sensibilités des différentes méthodes susmentionnées : la PCR présente la meilleure sensibilité. A noter que les amorces utilisées pour la PCR sont les gènes codant pour la glycoprotéine B (gB) (BOERNER *et al.*, 1999) ou la thymidine kinase (TK) (EGYED et BARTHA, 1998). Ainsi, sur le lait, les sensibilités de la PCR-TK, PCR-gB et IV étaient respectivement 95, 93 et 61 % (WELLENBERG *et al.*, 2001) ; un constat similaire a été déduit sur des écouvillons vaginaux (BILGE DAGALP *et al.*, 2010).

En France, la détection du virus par Rt-PCR (Real-time PCR, test quantitatif) en routine chez les bovins a récemment été développée, et réalisé à partir d'écouvillons vaginaux ou placentaires (Adiavet® *BoHV-4*) (TREILLES *et al.*, 2013).

2. Détection du *BoHV-4* en cas de suspicion clinique

Les données expérimentales suggèrent que de l'ADN du *BoHV-4* peut être détecté par PCR entre 10 et 32 jours après primo-infection (EGYED *et al.*, 1999), puis lors d'infection latente durant toute la vie de l'animal dans les CMS et/ou les organes lymphoïdes ; les anticorps anti-*BoHV-4* sont détectables dès 14 à 20 jours post-infection (OSORIO et REED, 1983).

La séroconversion signe soit une primo-infection, soit une réinfection ou une réactivation virale. Une sérologie simple ne signera qu'un passage viral que l'on ne pourra dater, ni inculper³. Pour réaliser une cinétique d'anticorps, il convient de réaliser deux sérologies à 2-3 semaines d'intervalle, le premier échantillon étant prélevé en phase aigüe de la maladie pour laquelle le *BoHV-4* est suspecté.

Cette cinétique en anticorps pourra se révéler utile dans des troupeaux à problèmes de reproduction, i.e. affectés par des 'flambées' de métrites rebelles aux traitements classiques, touchés par de l'infertilité ou des avortements. Il faudra dans un premier temps que l'enquête vétérinaire ait écarté les étiologies courantes de ces affections. Les analyses pourront se réaliser sur le sang, le lait ou des écouvillons vaginaux des malades. La détection des anticorps sera dans l'idéal accompagné d'une recherche du génome viral du *BoHV-4*⁴, sur sang et placenta de l'avortée ou sur l'avorton lui-même.

En cas d'avortement et lorsque l'implication du *BoHV-4* est suspectée, les taux en anticorps retrouvés sont très élevés (compris entre 320 et 1280, pour un seuil fixé au LDA 50 à 40) (TREILLES *et al.*, 2013), il n'est alors plus possible de mettre en évidence une séroconversion chez l'avortée. En revanche, il peut être intéressant tester les autres animaux du troupeau de manière à vérifier que l'infection suspectée est toujours bien active au sein du troupeau : si plusieurs animaux font une séroconversion franche à l'égard du *BoHV-4*, son implication dans les troubles de la reproduction alors observés peut être appuyée (Trousse Avortement ELISA *BoHV-1*, *BVDV*, *BHV-4* commercialisée par Bio-X®). L'UMT (Unité Mixte Technologique) « Maitrise de la santé des troupeaux bovins » a récemment proposé des recommandations pour les prélèvements sur une série d'avortements où le *BoHV-4* est suspecté : (i) Placenta, ou écouvillon vaginal ou rate de l'avorton pour virologie ; (ii) sérums de 6 vaches (avortée(s) et vaches à problème de reproduction en quantité suffisante pour 6, dans l'idéal 3 primipares/3 multipares pour sérologie ELISA). Le *BoHV-4* est classé parmi les agents abortifs « occasionnels » (GUATTEO *et al.*, 2011). Pour rappel, il n'existe pas de lésions pathognomoniques, facilement observables, du *BoHV-4* sur le placenta de l'avortée ou sur l'avorton lui-même.

³ La sérologie en cas d'avortement bovin présente le grand intérêt de pouvoir se réaliser sur des prélèvements réglementaires (prélèvements aisés et homogènes qui se conservent) mais l'interprétation des résultats est délicate, car dépendante du délai de séroconversion, de la persistance de la réponse immunitaire mais aussi de la variabilité individuelle de cette réponse immunitaire.

⁴ La PCR est un « diagnostic de certitude » de la présence de l'agent pathogène, elle est couteuse et nécessite des prélèvements de bonne qualité (dans certains cas des organes particuliers), cependant elle peut se réaliser sur des prélèvements réglementaires, les extraits peuvent être conservés au LDA et peut s'avérer rapide si les analyses sont regroupés.

D. Prophylaxie

L'infection intra-utérine de la mère infectée au fœtus rend l'éradication du virus dans un cheptel très difficile (EGYED *et al.*, 2011), le caractère peu pathogène et la relative méconnaissance du virus rend sa détection clinique par le praticien vétérinaire peu aisée, enfin la vaccination contre le *BoHV-4* n'est pas possible. Les seules mesures de lutte efficaces contre le *BoHV-4*, à l'heure actuelle, demeurent les mesures prophylactiques.

1. Prophylaxie sanitaire

Le seul moyen de lutte actuel contre une infection du cheptel par le *BoHV-4* consiste en des mesures de prophylaxie sanitaire. Cette prophylaxie s'articule sur deux piliers : détecter les animaux infectés et prévenir l'infection des animaux indemnes.

Ainsi, pour éradiquer le *BoHV-4* dans un cheptel il faudra dans un premier temps effectuer un sondage sérologique sur l'ensemble du troupeau puis isoler, et au mieux éliminer tous les animaux séropositifs (infectés de manière latente). Si l'élimination est impossible, suivant le contexte de l'élevage, l'isolement des séropositifs préviendra la transmission directe du virus par voie respiratoire (THIRY, 2002). Difficile à mettre en œuvre, cette mesure ne peut être plus précisément définie, et ce par le manque de connaissance sur les distances de diffusion du virus par aérosols.

Puis, pour prévenir les nouvelles infections au sein d'un cheptel, plusieurs mesures peuvent être proposées. En premier lieu, des mesures d'hygiène générales doivent être entreprises. La transmission indirecte du virus est prévenue par l'utilisation de matériel distinct pour les deux groupes d'animaux, les séropositifs et les séronégatifs (THIRY, 2002), en extrapolant sur les voies de transmission des autres herpesvirus bovines, des points d'alimentation et d'abreuvement distincts pourront être mis en place pour les deux groupes. Le vêlage, moment de stress et possible facteur de réactivation virale, doit se réaliser dans un endroit calme et isolé du reste du troupeau. Les animaux naïfs, à savoir ceux qui n'ont jamais rencontré le virus, correspondant généralement aux animaux les plus jeunes, sont les plus sensibles et la période du vêlage semble être la plus à risque. Quand cela est possible, la séparation des génisses autour du terme (primipares) des femelles plus âgées (surtout les pluripares autour du terme), pourrait constituer un élément important pour le contrôle de la circulation virale. L'élimination des placentas, liquides et autres déchets biologiques liés à la parturition doit être rapidement réalisée. Une attention particulière sera donnée aux vaches post-parturientes séropositives, susceptibles d'excréter le *BoHV-4* en grande quantité et de manière prolongée dans les exsudats utérins (THIRY *et al.*, 2000) et potentiellement dans le lait (DONOFRIO *et al.*, 2000b). En l'absence de données contradictoires sur la transmission horizontale du *BoHV-4* en salle de traite, les vaches séropositives pourront être conduites en dernières en salle de traite. Il convient de rappeler que la séropositivité de la mère n'est pas un indicateur fiable de la présence du virus chez le fœtus (DELOOZ *et al.*, 2012b), en effet la transmission intra-utérine du virus n'est efficace que dans 54,8 % des cas (EGYED *et al.*, 2011). Il est fortement préconisé d'écarter le plus rapidement possible le veau issu d'une mère séropositive et ne pas distribuer le colostrum ou le lait provenant de vaches séropositives, il

peut être décidé d'acheter des mères négatives et utiliser leur lait (ou du colostrum stocké dans une banque) pour alimenter des veaux PCR négatifs à la naissance (EGYED *et al.*, 2011).

Dans des élevages séropositifs, les traitements à base de glucocorticoïdes sont déconseillés (LEBOEUF, 2013) pour prévenir les réactivations virales iatrogènes, même si les doses expérimentales les engendrant excèdent les doses usuellement administrées.

Des contrôles à l'introduction devront être conduits avec comme condition *sine qua non* une sérologie négative associée ou non à une PCR *BoHV-4* négative, ainsi qu'une quarantaine respectée, entre-autres pour les taureaux de monte naturelle. Pour les paillettes d'IA, une attention sera portée par l'acheteur sur les analyses conduites par le centre d'IA, même si les transmissions du *BoHV-4* par voie vénérienne, ou par une semence contaminée ne sont pas documentées.

Enfin, il paraît judicieux de rappeler que les conditions de bien-être animal doivent être également prises en compte, ceci est valable pour plusieurs maladies. En réduisant, par des moyens zootechniques, le stress ressenti par l'animal et en améliorant son statut sanitaire, la probabilité de réactivation virale et de ré-excrétion consécutive est diminuée. On citera par exemple une conduite réfléchie de l'élevage, une alimentation équilibrée, des soins réguliers tels un déparasitage et/ou des vaccinations éventuelles et des conditions de logement adaptées au bien-être de l'animal.

Il semblerait qu'aucun lien épidémiologique concernant la circulation du *BoHV-4* ne puisse être dressé entre la faune sauvage et le bétail. Une étude hongroise avance l'un des arguments suivant : la circulation *BoHV-4* mise en évidence chez les ruminants sauvages par PCR est bien inférieure à celle observée chez les bovins autochtones (KALMAN et EGYED, 2006). Aucun témoignage d'une infection au *BoHV-4* (anticorps, ADN) n'est rapporté chez les 261 Bisons Européens (*Bison bonasus*) sauvages testés en Pologne (BORCHERS *et al.*, 2002). Enfin, plus localement en Belgique et en France, sur 748 prélèvements sanguins réalisés sur un large panel de ruminants sauvages, collectés entre 1981 et 1986, aucun n'est revenu séropositif au *BoHV-4* (THIRY *et al.*, 1988). Cependant, une fois de plus, le manque d'information publiée à ce sujet nous impose la prudence.

2. Prophylaxie médicale

La littérature fait très brièvement mention d'un vaccin contre le *BoHV-4* utilisé aux Etats-Unis, aucune donnée allant dans ce sens ne nous est parvenue. Depuis les travaux de CASTRUCCI dans les années 80, et l'observation d'une différence de potentiel pathogénique entre différentes souches de *BoHV-4* (par exemple : V.test), il serait envisageable d'utiliser une souche non pathogène pour développer un vaccin, mais ce développement ne semble pas faire l'objet de travaux à l'heure actuelle. De plus, l'absence de parenté antigénique avec le *BoHV-1* ne permet pas d'utiliser des vaccins contre l'IBR pour protéger les bovins de l'infection par le *BoHV-4* (THIRY, 2002).

Dans la mesure où la lutte directe contre le virus est impossible, le traitement consiste plutôt à limiter les conséquences sur l'état général de l'animal et à lutter contre le développement bactérien dans le cadre de métrite par exemple (CHASTANT-MAILLARD, 2012). NAK et collaborateurs (2011) ont décrit une bonne réponse aux traitements instaurés sur des métrites à *BoHV-4*, si elles sont diagnostiquées précocement.

Pour information, WELLENBERG et collaborateurs (2002b) ont testé la susceptibilité du *BoHV-4* à différents agents antiviraux *in vitro* (tableau 4). L'activité anti-herpétique de ces agents a précédemment été démontrée notamment sur un autre gammaherpèsvirus : le Murine HerpesVirus 68 (*MHV-68*). La brivudine et le cidofovir, et dans une moindre mesure le ganciclovir, peuvent représenter des pistes pour le traitement des infections au *BoHV-4*.

TABLEAU 4 : Action inhibitrice d'agents anti-herpétiques sur la réplication *in vitro* du *BoHV-4* (souche Tolakker) (WELLENBERG et al., 2002b)

Agent antiviral	EC50 ⁵ (µg/ml)	CI ⁶ (µg/ml)	MTC ⁷ (µg/ml)
Brivudine	0.05	≥ 0.05	> 100
Cidofovir	0.2-0.8	≥ 1.6-3.2	> 100
Ganciclovir	6.3-12.5	≥ 25	> 100
Foscarnet	100	> 100	> 100
Acyclovir	> 100	> 100	> 100
Penciclovir	> 100	> 100	> 100
Adefovir	> 100	> 100	> 100

⁵ EC50 : concentration requise de l'agent antiviral pour réduire l'effet cytopathique du *BoHV-4* sur les cellules de 50 %

⁶ CI : concentration requise de l'agent antiviral pour totalement inhiber l'effet cytopathique du *BoHV-4*

⁷ MTC (*Minimal Toxic Concentration*) : la concentration minimale de l'agent antiviral requise pour altérer la morphologie des cellules BUE (*Bovine Umbilical Cord Endothelial*), cellules sur lesquelles le *BoHV-4* est cultivé.

E. *BoHV-4* et santé publique

Certaines lignées cellulaires humaines sont expérimentalement sensibles (peuvent supporter l'entrée du virus) et permissives (peuvent supporter la réplication virale) à l'infection du *BoHV-4* (DONOFRIO *et al.*, 2002) ; d'autres lignées cellulaires humaines, sensibles mais non permissives sont le support d'une infection persistante par le *BoHV-4*, protégeant les cellules de l'apoptose induite par le *tumor necrosis factor α* (GILLET *et al.*, 2004). Ces observations soulèvent naturellement le problème de la transmission inter-espèce du virus, entre l'homme et le bétail. En effet, le *BoHV-4* est hautement prévalent parmi le bétail et aucun plan d'éradication du virus n'est mené dans ces productions animales. De plus, le virus est isolé du sérum bovin ainsi que du lait de vaches, atteintes ou non de mammites ; ces produits ou leurs dérivés sont largement utilisés par l'industrie pharmaceutique ou agro-alimentaire. Plusieurs voies de transmission aux humains sont ainsi potentiellement envisageables : entérale et parentérale. Cependant, aucun cas d'infection humaine au *BoHV-4* n'est rapporté. La pasteurisation du lait et la décomplémentation thermique du sérum abolit l'infectiosité du virus en inactivant sa propriété à entrer ou à se répliquer dans les cellules permissives (BONA *et al.*, 2005), et ce probablement grâce à l'instabilité de la membrane virale face à ces traitements. Enfin, il a été démontré que le sérum humain naïf neutralise de façon innée et efficace le *BoHV-4*, par reconnaissance du motif alphagal (exprimé par les cellules bovines) par les anticorps naturels humains (FRANCESCHI, 2009-2011 ; MACHIELS *et al.*, 2007). Il semblerait donc que le *BoHV-4* ne présente pas de potentiel zoonotique.

L'Epstein-Barr virus (EBV) et le virus associé au sarcome de Kaposi (KSHV) sont deux gammaherpèsvirus présents parmi la population humaine, à des taux d'infection très importants. Capables d'établir une latence, ces virus peuvent engendrer, chez les personnes immunodéprimées, des désordres lymphoprolifératifs. L'étude de l'infection du *BoHV-4* chez son hôte naturel représente un modèle d'étude pour ces pathogènes humains, soulignant le concept « *One Health*⁸ », pour une santé animale au service de la santé publique.

⁸ Le concept *One Health* ou « une seule santé » porté par l'Organisation Mondiale de la Santé et l'Organisation Mondiale de la Santé Animale OIE.

II. Les avortements bovins en France

A. Définitions légales

La législation française a défini l'avortement bovin dans le décret du 24 décembre 1964 comme suit : « *l'avortement dans l'espèce bovine est l'expulsion du fœtus ou du veau né mort ou succombant dans les 48 heures suivant la naissance* ». Une nouvelle définition, plus restrictive et se focalisant sur l'étiologie infectieuse est en développement, ainsi sera « *considéré comme avortement possiblement infectieux l'expulsion d'un fœtus ou d'un animal mort-né ou succombant dans les 12 premières heures suivant la naissance sauf si la mort peut être rapportée de façon certaine à un accident ou à une intervention obstétricale de la mise bas* ». D'après les travaux de l'UMT « Maîtrise de la santé des troupeaux bovins », on parlera de série d'avortements dès la survenue de 2 avortements ou plus dans le mois, ou trois avortements dans l'année pour des effectifs de moins de 100 vaches, et plus de 4 % de vaches ayant avorté dans l'année, pour des effectifs de plus de 100 vaches (REMY, 2012a).

B. Problématiques de la recherche « avortement bovin » en France

Les avortements bovins, plus particulièrement lorsqu'ils surviennent en série comptent parmi les troubles les plus fréquents et pénalisants économiquement pour les exploitations bovines, ils peuvent en outre représenter les signes d'appels de maladies à fort potentiel zoonotiques (fièvre Q et brucellose). La surveillance des avortements en France comporte deux volets, l'un obligatoire et réglementaire (au titre de la brucellose), l'autre facultatif dans le cadre du diagnostic différentiel des avortements (TOURATIER *et al.*, 2012). Des travaux collaboratifs sont actuellement menés en France entre l'administration et l'ensemble des acteurs de la santé animale pour articuler de façon cohérente la surveillance de maladie d'intérêt d'état (brucellose et fièvre Q) avec les actions de diagnostic différentiel des avortements conduites dans beaucoup de départements par les GDS (BRONNER *et al.*, 2011) sous l'appellation de « plan avortement cheptel ».

Une récente et large étude menée par l'ACERSA et le GDS France en 2010, à destination des GDS et GTV, s'est intéressée aux actions départementales ou régionales de diagnostic différentiel des avortements chez les ruminants (TOURATIER *et al.*, 2012). Elle a révélé de fortes disparités entre départements dans les protocoles de diagnostic de maladies abortives. Ci-après les résultats majeurs de cette étude : le taux d'avortement bovin déclaré reste faible en France⁹, il est de 0,79 % avec une forte variabilité entre les départements (entre 0,18 % et 2,49 %). Dans 69 % des départements participant à cette étude, des actions de diagnostic différentiel des avortements bovins sont engagées, ces actions sont particulièrement anciennes puisque 46 % de ces dernières ont plus de 10 ans. Pour 100 % des départements conduisant de telles actions, il existe un appui financier d'aide aux analyses

⁹ Et ce en partie par le fait des éleveurs : une récente enquête menée par l'unité d'épidémiologie de l'Anses-Lyon a révélé que près de 73 % des éleveurs bovins ne déclareraient pas les avortements (BRONNER *et al.*, 2012), cette proportion étant plus élevée pour les élevages allaitants que pour les élevages laitiers ou mixtes.

(entre 85 et 95 % du coût des analyses est pris en charge par le GDS ou les collectivités territoriales) qui selon les personnes sondées est un point clé du développement de l'action. Dans 73 % des départements participant à cette étude, l'appui financier est assorti de la définition d'un protocole technique (agents pathogènes ciblés, choix des prélèvements et analyses). Dans les départements qui font état d'un protocole technique, l'inclusion dans l'action de diagnostic différentiel se fait soit dès le premier avortement ou suite à une série d'avortement. Malgré le fait que dans cette étude, 4 maladies ressortent largement premières parmi celles recherchées en première intention (Fièvre Q, Néosporose, BVD, Chlamydiae voir figure 10), la liste des maladies recherchés y compris en première intention est très variable en fonction des départements (28 protocoles différents dans 35 départements, figures 10 et 11). En pratique, le diagnostic repose pour beaucoup de maladies sur des analyses sérologiques, lesquelles, dans plus de la moitié des cas, sont réalisées exclusivement sur le ou les animaux ayant avorté, or le résultat d'une analyse sérologique isolée est le plus souvent ininterprétable. Il apparaît qu'en cas d'inclusion au protocole standardisé lors d'un avortement isolé, aucun GDS ne fournit de grille d'interprétation des résultats (un exemple : (JOLY et LEPELIER, 2007)), seuls 15 % des GDS le font lorsque l'inclusion est faite sur la base d'une série d'avortements bovins. Enfin, seuls 9 % des départements estiment que le pourcentage de diagnostic réellement établis est supérieur à 40 %, ce qui traduit le réalisme des acteurs départementaux sur la difficulté d'établir un diagnostic en matière d'avortement bovin. Ce résultat va dans le sens de publications récentes par le laboratoire belge ARSIA qui rapportait une mise en évidence directe de l'agent pathogène responsable de l'avortement dans respectivement 20,15 % (DELOOZ, 2012a) et 14,25 % (DELOOZ, 2011) des cas en 2012 et 2011, le panel d'analyse alors proposé ne comprenait pas le *BoHV-4* (DELOOZ *et al.*, 2012b).

En somme, le faible taux de déclaration des avortements bovins en France, et la grande variété des conduites tenues, à différents niveaux, par les acteurs de la santé animale face à ces avortements (isolés ou en série) contribuent à pénaliser l'identification des causes réelles des avortements bovins en France. En effet, au niveau même des LDA, le panel d'analyse proposé localement pour la recherche d'une étiologie infectieuse en cas de série d'avortements peut varier d'un département à l'autre, fonction des politiques et/ou initiatives locales (GUATTEO *et al.*, 2011). Ces investigations « avortement bovin » ne sauraient être exhaustives dans tous les cas de figures, le manque de connaissance sur certains agents abortifs (le *BoHV-4* par exemple) peut être une cause, le manque de financement une autre. Malgré les avancées technologiques de ces 15 dernières années (notamment l'avènement de la PCR) qui ont permis de réels progrès dans l'élucidation des causes des maladies abortives bovines (LE DREAN, 2008), des efforts sont encore nécessaires pour améliorer les investigations en cas de série d'avortements bovins en France.

FIGURE 10 : D'après l'étude ACERSA-GDS France 2010, pour chaque maladie, le nombre de département procédant à une recherche en première intention

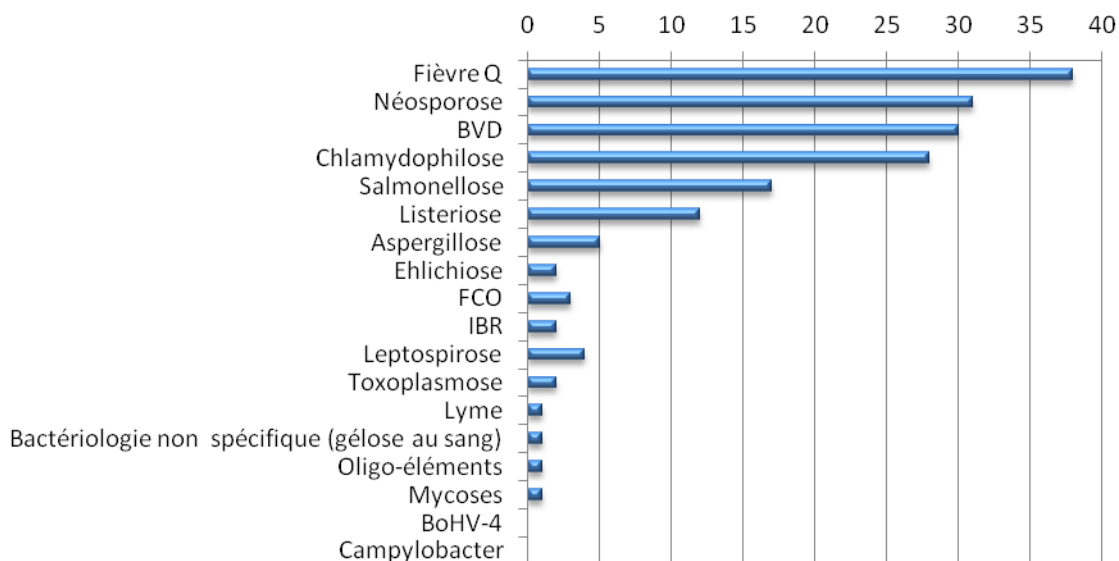
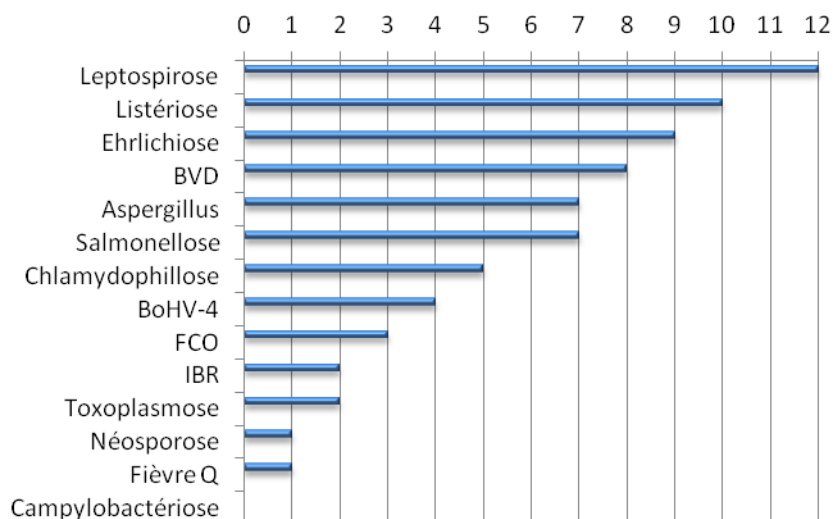


FIGURE 11: D'après l'étude ACERSA-GDS France 2010, nombre de départements recherchant en seconde intention les agents abortifs suivants



C. Vers une démarche standardisée d'investigation

Une tentative d'optimisation et d'harmonisation des protocoles d'investigation a été soumise par l'UMT « Maitrise de santé des troupeaux bovins » basée à ONIRIS. Le groupe de travail formé en 2010 s'y est attelé, en définissant des protocoles de recherches systématisés en première et seconde intention en cas de série d'avortement, et en développant une boîte de prélèvement à destination des vétérinaires praticiens (GUATTEO *et al.*, 2011). Ainsi, le « *pack national de première intention* » inclue systématiquement Fièvre Q, Néosporose et BVD, et en fonction du contexte épidémiologique local et/ou d'éventuels enjeux en matière de sécurité sanitaire des aliments : Listériose et Salmonellose. Selon l'UMT, le choix des maladies en seconde intention doit être ajusté à l'échelon local (région, département, élevage) et s'inspirer des critères suivants : prévalence locale, responsabilité avérée de l'agent en tant qu'agent abortif et conséquences sanitaires et/ou économiques notables, moyens de diagnostic et de prévention/lutte disponibles et bien sur le contexte épidémiologique et clinique spécifiques de l'élevage. Ils citent pour les recherches en seconde intention : FCO, Chlamydie, les avortements à leptospires, dûs au *BoHV-1* et ceux d'origine mycosique (notamment liés à *Aspergillus*).

Pour rappel, l'UMT classe le *BoHV-4* comme agent abortif « occasionnel » mais de priorité II i.e. au même rang que *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydomphila abortus*, *Anaplasma phagocytophilum* ou *Leptospira sp* (GUATTEO *et al.*, 2011).

DEUXIÈME PARTIE : Enquête auprès des laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires

La première partie bibliographique avait pour but d'aider les professionnels de la santé animale à cerner les véritables enjeux du *BoHV-4*, et à les situer dans le contexte actuel des recherches sur les causes d'avortements bovins en France. La deuxième partie, indépendante de la précédente, complètera modestement notre connaissance du virus en France.

Ainsi, nous nous attèlerons à une étude expérimentale, sous la forme d'une enquête auprès des laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires français (LDA). Elle sondera, par le biais d'un formulaire en ligne, et sur la base du volontariat, le maximum de LDA français. Cette enquête s'articulera en deux temps, obtenir des informations générales sur les LDA et la conduite des recherches « avortement bovin » en leur sein pour ensuite placer le *BoHV-4* dans ce cadre.

Cette étude inédite sera un cliché instantané, menée sur l'année 2013, de la recherche « avortement bovin » et du *BoHV-4* en France vécue du côté des LDA. Elle ne prétendra pas fournir des données d'ordre épidémiologique sur le *BoHV-4* mais pourra constituer une étude préliminaire auprès des LDA, pouvant servir de base à une étude chiffrée ultérieure.

I. Intérêts et objectifs de l'enquête

Une rapide méta-analyse des études de prévalence du *BoHV-4* dans le monde (exposées en Partie I, I-6-b Prévalence dans l'espèce bovine) révèle que ce virus fait l'objet de sondages sérologiques depuis la fin des années 80. Pour autant les données manquent sur le territoire français. Une raison à cela est que le *BoHV-4* n'est pas l'objet en France, d'une lutte collective à l'image du *BoHV-1* (BRONNER *et al.*, 2010). En effet, à la lumière des connaissances actuelles son impact sur l'économie de la filière bovine semble limité (par exemple, il n'existe pas d'entraves commerciales relatives à l'infection au *BoHV-4*, contrairement au *BoHV-1*) et son caractère zoonotique très peu probable (contrairement à la brucellose et la fièvre Q, autres maladies abortives). N'étant pas l'objet d'une attention collective (qui aurait alors déclenché une surveillance épidémiologique, une maîtrise des foyers cliniques, une protection et une certification des élevages sains et *in fine* l'éradication de la maladie) puisque son rôle pathogène est sur le terrain controversé, sa recherche en France semble rare, et semble tenir au fait d'initiatives et convictions personnelles.

Le taux d'élucidation des avortements bovins reste faible et il subsiste encore des zones d'ombres sur l'étiologie infectieuse de ces avortements, le *BoHV-4* trouve ici une place séduisante. Même si l'implication directe de ce virus dans les avortements bovins est encore à l'étude, il semble engendrer préférentiellement des pathologies de la reproduction. En pratique, les séries d'avortements bovins peuvent s'accompagner d'autres troubles de la reproduction en élevage (métrites et endométrites consécutives, infertilité etc.). Dans ce contexte, la recherche du *BoHV-4* en première ou seconde intention lors de série d'avortements, associée à d'autres pathogènes reconnus se justifie. Des études ont évalué les actions de diagnostic différentiel des avortements bovins au plan départemental ou régional, la plus récente remonte à 2010 (TOURATIER *et al.*, 2012), une mise à jour des connaissances nous paraissait être un préalable judicieux à l'étude spécifique du *BoHV-4*. Même si ce virus est connu depuis plusieurs années, les récentes publications françaises (de la part du LDA 50, du Professeur Chastant-Maillard et de laboratoires de développement d'outil diagnostic ID.Vet et Adiaçène) à son sujet ont provoquées un regain d'intérêt pour le *BoHV-4* et nous ont motivés pour cette étude.

La présente enquête auprès des LDA est inédite, elle ne prétendra pas fournir des données d'ordre épidémiologique sur le *BoHV-4* en France (aucune donnée de prévalence ne leur sera demandée), elle poursuivra quatre objectifs prédéfinis et clairs :

- (i) Obtenir un taux de participation satisfaisant auprès des LDA pour pouvoir émettre un cliché précis de la recherche du *BoHV-4* en France en 2013,
- (ii) obtenir des informations sur la conduite des recherches « avortement bovin » auprès des LDA, en particulier lors de série d'avortements, et situer le *BoHV-4* dans ce cadre,
- (iii) plus spécifiquement sur le *BoHV-4*, caractériser pour la première fois sa recherche en France et dans une moindre mesure,
- (iv) poursuivre la sensibilisation des acteurs de la santé animale face au *BoHV-4*.

II. Matériel et méthodes

A. Les interlocuteurs

1. Choix de l'interlocuteur

Plusieurs organisations représentant le maillage vétérinaire français sont impliquées dans les recherches étiologiques d'avortements bovins, entre autres : l'Etat et l'Administration française (la direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations ou DDCSPP et la direction générale de l'alimentation ou DGAL), les laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires (LDA ou LVD, laboratoire national de référence ou LNR), les vétérinaires des groupements de défense sanitaire (GDS) locaux et les vétérinaires praticiens ruraux via les groupements techniques vétérinaires (GTV) locaux.

Notre enquête s'intéressant plus spécifiquement à la recherche du *BoHV-4* en cas d'avortement bovin, recherche que l'on estime relativement rare en France, s'est tournée vers les LDA. Ces derniers, par leur expertise en matière de diagnostic, sont en mesure de répondre de la conduite technique de la recherche du virus ainsi que de chiffrer certains résultats. Les LDA constituent un réseau vétérinaire ténu et relativement homogène sur le territoire français, en tant que prestataires, ils restent neutres. Leur sondage permet ainsi d'avoir une idée précise de la situation française face au *BoHV-4* en 2013.

Cette enquête s'intéressant aux recherches du *BoHV-4* auprès des LDA français est inédite.

NB : les représentants des laboratoires pharmaceutique (*Merial*®) et de diagnostic vétérinaire (*ARSIA*®, *Bio-X*®, *Adiagène*®) ont également contribué, à travers leurs connaissances et leur réseau, à l'enrichissement de cette étude.

2. Choix de l'échantillon

Les interlocuteurs principaux seront les laboratoires départementaux d'analyse vétérinaires. Leur coordonnées ont été tirées de l'annuaire vétérinaire *ROY*® 2012. Le *BoHV-4* étant un virus présent chez un spectre d'hôte naturel étendu et ubiquiste, aucune sélection n'a été réalisée sur la base du profil d'activité des LDA (dont les domaines d'action couvrent l'hygiène alimentaire et la santé animale) ni sur leur localisation (France métropolitaine et Outre-mer). L'un des objectifs de l'étude était de conduire l'enquête la plus large possible, même auprès des LDA ne réalisant pas de recherche « avortement bovin », pour définir quelle était la perception du *BoHV-4* à l'échelle française. Aucune contrainte n'a été posée sur la participation des LDA, purement volontaire.

B. Le questionnaire

1. Choix du support

D'abord envisagé sous format papier, le choix du formulaire en ligne s'est assez rapidement imposé. Cette forme de questionnaire permet une diffusion rapide, peu coûteuse (les relances étant nécessaires) et instantanée du document source. Il permet en outre de le modifier avec une grande réactivité (si une erreur dans sa conception est mise en évidence après diffusion du formulaire, une telle erreur dans la présente enquête a participé à l'exclusion d'un formulaire), les réponses sont également archivées sous format numérique, avec une grande sécurité et simplicité.

Ce support a été préféré à une enquête téléphonique, des données chiffrées précises étant demandées, une enquête par téléphone aurait requis de nombreux appels, empiétant sur l'emploi du temps souvent chargé du personnel de laboratoire. Cependant certains laboratoires ont préféré ce canal de communication, pour des raisons protocolaires, l'entretien téléphonique a alors strictement suivi le plan défini dans le formulaire en ligne et le nombre maximal de relances téléphoniques a été fixé à 2.

En somme, ce sont les exigences en terme de logistique, de coût, de pouvoir de diffusion et de simplicité d'utilisation pour le sondeur comme pour les sondés qui ont orienté le choix du support vers un formulaire en ligne.

2. Réalisation

L'interface d'édition du formulaire en ligne *Google Drive*®, simple d'utilisation, a permis une création très souple du formulaire. Ci-après les ajustements du formulaire rendus possibles par cette interface : (i) le travail de thèse et la présentation du formulaire ont été exposés sur une première page dite d'accueil (annexe 2), elle s'affiche dès que le sondé clique sur le lien présent dans le courriel de participation. Une page en fin de questionnaire s'affiche également pour confirmer au sondé que ses réponses ont été prises en compte et le remercier, elle comprend également un courriel (ou adresse *mail*) et un numéro de téléphone pour toute réclamation (annexe 8). (ii) Un système de réponses obligatoires a été mis en place, nous assurant d'une collecte minimale de réponses (elles sont marquées d'un astérisque rouge dans les annexes 2 à 7). (iii) Sous les questions peuvent figurer, en gris, des conseils sur la façon d'y répondre. (iv) Le sondé peut revenir sur les réponses de son formulaire même après envoi par simple clic sur le lien présent dans le courriel initial. (v) Enfin, le nombre de question et leur formulation s'adapte instantanément en fonction des réponses données aux questions précédentes, rendant l'expérience des sondés moins rébarbative. Trois profils ont ainsi été définis (X, Y ou Z) et sont présentés en tableau 5 (pour une vision d'ensemble consulter conjointement l'annexe 1) :

TABLEAU 5 : Adaptation automatique du formulaire en ligne selon les réponses des LDA

	Recherches « avortement bovin » (Question 2 : Oui/Non)	Recherche du <i>BoHV-4</i> (Question 15 : Oui/Non)	Formulaire en ligne		Annexes
			Nombre de questions	Nombre de pages	
LDA 'X'	Non	Non	6	4	2,3,4,8
LDA 'Y'	Oui	Non	19	7	2,3,5,6,8
LDA 'Z'	Oui	Oui	27	7	2,3,5,7,8

3. Diffusion

Les courriels des LDA ont été tirés l'annuaire *ROY*® 2012 lorsque ceux-ci étaient renseignés, 82 courriels ont été saisis. Les LDA contactés sont ceux dont les courriels ont pu être obtenus, ainsi, la non-participation de certains LDA peut ne tenir que de notre fait. L'enquête a été bornée de manière arbitraire, du 1^{er} Juin 2013 au 1^{er} Novembre 2013, et à 8 relances mails consécutives, intéressant à chaque fois les LDA n'ayant pas répondu.

4. Collecte et analyse des données

L'interface *Google Drive*®, dont l'accès est sécurisé par un identifiant et un mot de passe, se charge de collecter les réponses envoyées par les LDA. Elles sont téléchargeables sous plusieurs formats (.pdf, .xls entre autres). Seul le détenteur de l'identifiant et du mot de passe peut consulter et modifier les réponses. Les exigences en termes d'archivage et de confidentialité des réponses sont alors respectées. Une fois les réponses téléchargées, leur classement et la génération de figures ont été réalisés grâce au logiciel *Microsoft Office Excel*®. Au cours des deux seuls entretiens téléphoniques, les formulaires ont été simultanément remplis par nos soins.

III. Résultats de l'enquête

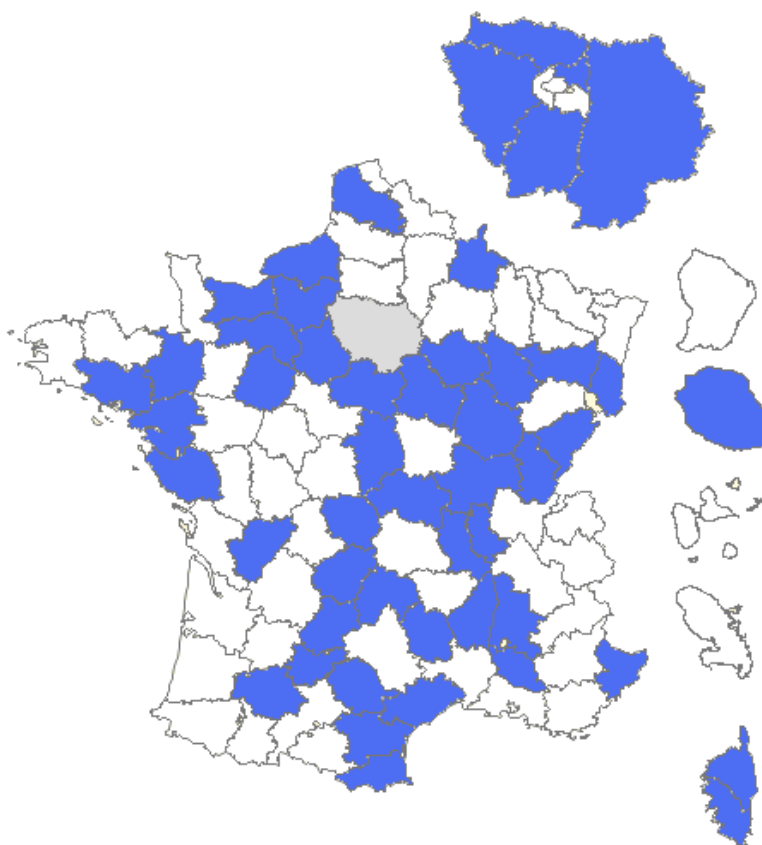
A. À propos des LDA

1. Participation à l'étude

Q1 : Vous êtes le Laboratoire Départemental Vétérinaire du ... ?

La figure 12 représente, en bleu, les départements ayant participé à l'enquête en ligne, c'est-à-dire les départements cités par LDA comme faisant partie de leur territoire d'influence et dont les réponses au formulaire en ligne étaient exploitables¹⁰. Ainsi, sur 37 formulaires en ligne, 36 étaient exploitables ce qui correspond à 50 départements, dont un territoire d'Outre-mer. Le taux de participation à l'échelle française est de 50 % (50/101 départements).

FIGURE 12 : Les 50 départements ayant participé (en bleu) à l'enquête en ligne



Cinquante pourcents des départements français ont participé à la présente enquête.

¹⁰ Formulaire exploitable : formulaire dont la qualité des réponses communiquées sont satisfaisantes et peuvent faire l'objet d'une analyse

2. Profil d'activité des LDA ayant répondu

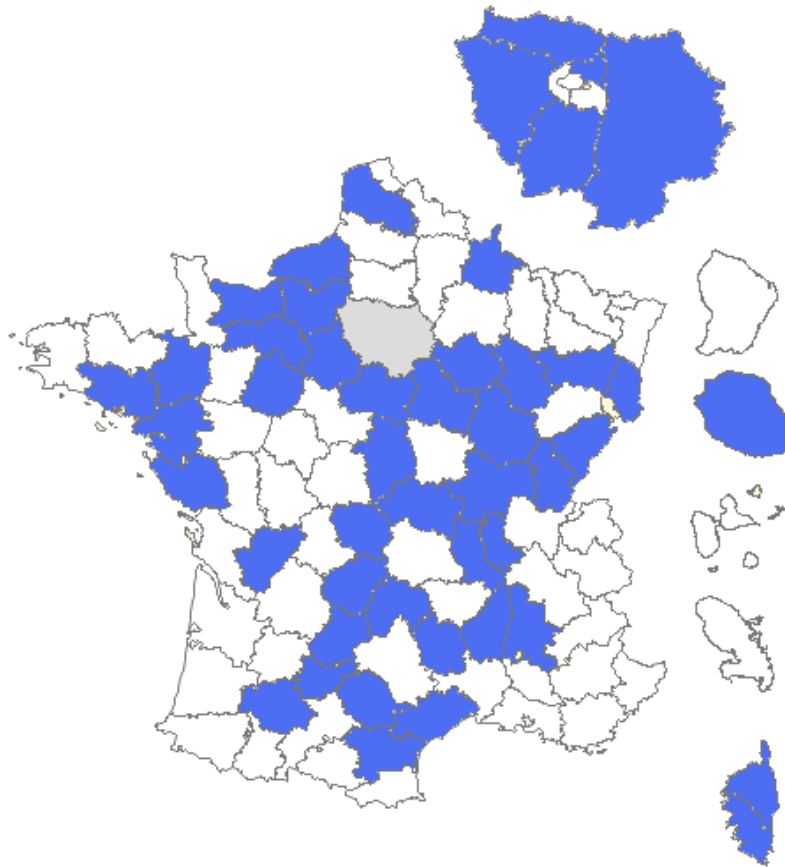
Q2 : Réalisez-vous des recherches « avortement bovin » dans votre laboratoire ? (O/N)

Trois LDA (sur 36), correspondant à trois départements ne réalisent pas de recherche « avortement bovin » en leur sein, soit 6 % des départements participant à l'enquête.

Q3 : Quel est le nombre de département(s) envoyant leurs recherches « avortement bovin » dans votre laboratoire ?

Les 33 autres LDA réalisent des analyses « avortement bovin » sur 47 départements, soit 94 % des départements participant à l'enquête, la figure 13 signale ces départements.

FIGURE 13 : Les 47 départements (en bleu) correspondant aux LDA réalisant des recherches « avortement bovin » dans l'enquête en ligne



Q4 : Sur l'aire géographique que vous couvrez, pouvez-vous donner le nombre de bovins et les deux races bovines prédominantes ?

La question Q4, pas assez précise a mis en difficulté les LDA, leur réponses chiffrées n'ont pas été prises en compte, au profit de données tirées du recensement agricole-Agreste 2010 (Ministère de l'Agriculture, 2012).

NB : d'après un bulletin « conjoncture » de l'Agreste publié en Octobre 2013 (Ministère de l'Agriculture, 2013), en Mai 2013 le nombre de vaches allaitantes en France était d'environ 4 137 100 têtes et le nombre de vaches laitières d'environ 3 544 700 têtes. En comparant ces données avec celles du recensement agricole de 2010, le cheptel adulte bovin français a diminué en nombre de têtes de 2 %, -5 % dans le secteur laitier et +0,1 % dans le secteur allaitant. On se référera donc aux chiffres fournis lors du recensement agricole de 2010, plus précis et jugés peu différents de ceux de Mai 2013.

Ainsi, d'après les chiffres tirés du recensement agricole de 2010, sur les 47 départements réalisant des recherches « avortement bovin », on recense 2 204 031 vaches nourrices et 1 806 291 vaches laitières. La présente enquête en ligne, concerne donc, d'après des données de 2010, près de 51 % du cheptel adulte bovin français, plus précisément 49 % du cheptel adulte laitier et 53 % du cheptel adulte allaitant français.

Pour chaque département, les deux races bovines prédominantes ont été renseignées, ainsi les races évoquées sont par ordre décroissant : « *Prim'Holstein* ou *Française Frisonne Pie Noire*, *Normandes*, *Montbéliardes*, *Brunes* » pour les races laitières et « *Charolaises*, *Limousines*, *Blondes d'Aquitaine*, *Salers*, *Maine-Anjous* » pour les races allaitantes. Il est impossible de tirer des conclusions chiffrées sur la prédominance d'une race particulière dans l'échantillon.

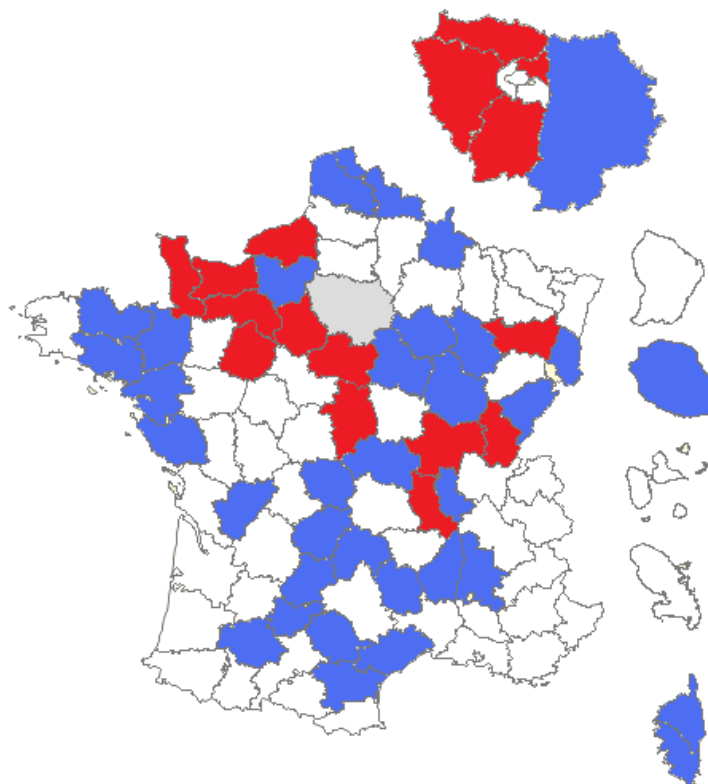
Dans 94 % des départements participant à l'enquête se réalisent des recherches « avortement bovin ». Ces départements abritent 51 % du cheptel adulte bovin français (49 % du cheptel laitier et 53 % du cheptel allaitant français), d'après les chiffres du recensement agricole 2010.

3. Les LDA impliqués dans la recherche du *BoHV-4*

Q15 : Recherchez-vous le *BoHV-4* dans votre laboratoire ? (O/N)

Trente trois LDA ont répondu à l'enquête comme réalisant des recherches « avortement bovin ». Trois LDA supplémentaires ont été rajoutés en figure 14, ils ont uniquement renseigné par courriel, le fait qu'ils réalisent/ou non des recherches *BoHV-4*. Les réponses de ces 3 LDA n'ont été prises en compte que pour cette question. Ainsi, sur un groupe de 36 LDA (50 départements), 10 LDA (16 départements) proposent la recherche *BoHV-4* en leur sein, soient 32 % des départements réalisant des analyses « avortement bovin » et 28 % des LDA réalisant des recherches « avortement bovin » dans la présente enquête.

*FIGURE 14 : D'après les formulaires exploitables et les communications courriel, les 16 départements réalisant des recherches *BoHV-4* (rouge) parmi les 50 réalisant des recherches « avortement bovin » (bleu)*



Pour 32 % des départements ayant répondu à Q15 et où se réalisent des recherches « avortement bovin », des analyses *BoHV-4* y sont également conduites (figure 14). Les 15 départements (figure 23) dont les formulaires étaient exploitables représentent 17 % du cheptel bovin adulte français (17 % du cheptel laitier et 16 % du cheptel allaitant français), d'après les chiffres du recensement agricole 2010.

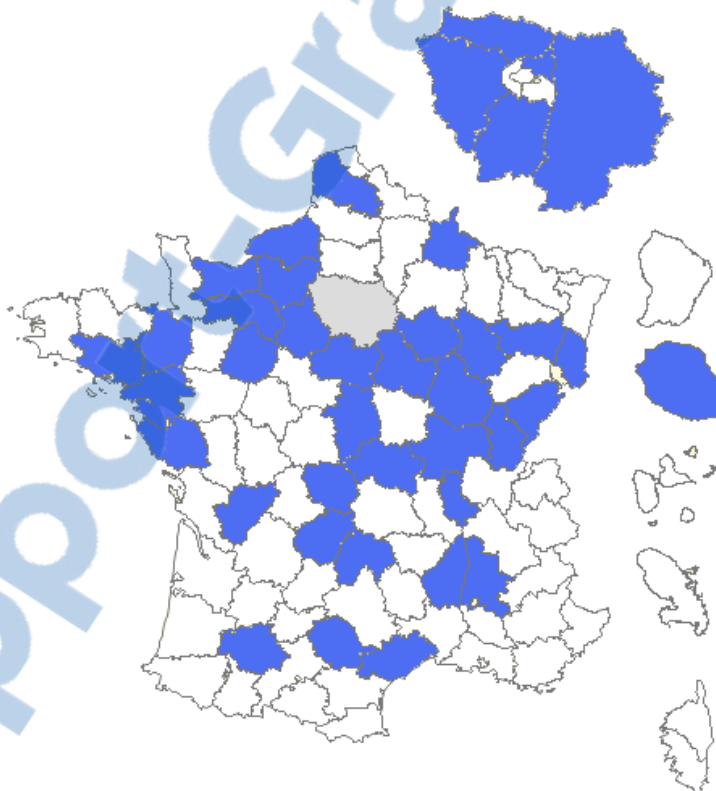
B. Recherches « avortement bovin » menées aux LDA

Une carte de France représentant les départements concernés (colorés) sera présentée avant traitement de certaines questions, pour plus de clarté.

1. Déclaration des avortements bovins dans ces départements

Q5 : Quel est le nombre d'avortements déclarés (i.e. recherches brucellose) dont vous recevez les prélèvements par an et par département, dans votre LVD ?

FIGURE 15 : Les 40 départements pris en compte pour le nombre d'avortements déclarés par an



D'après les chiffres tirés du recensement agricole de 2010, les 40 départements (32 LDA) ayant renseigné leur nombre d'avortements bovins déclarés par an sur leur territoire (figure 15) correspondent à 47 % du cheptel adulte bovin français. Plus précisément, sont recensées 1 963 647 vaches nourrices, soit 47 % du cheptel adulte allaitant et 1 704 406

vaches laitières, soit 46 % du cheptel adulte laitier français. Sur ces 40 départements, 31 302 avortements bovins ont été déclarés annuellement¹¹.

Sur ces 40 départements, le taux de déclaration médian des avortements bovins¹² est de 0,86 % (l'écart interquartile¹³ est de 0,61 %). Le taux de déclaration médian des avortements dans les départements à dominante allaitante¹⁴ est de 0,56 %, celui des départements à dominante laitière est de 1,12 % dans la présente étude.

Sur les 40 départements concernés, représentant 47 % du cheptel bovin adulte français, le taux de déclaration médian des avortements bovins est de 0,86 %, avec une forte dispersion de ce taux entre les départements sondés : l'écart interquartile est de 0,61 %.

2. Taux d'élucidation des avortements bovins aux LDA

Q6 : Pourriez-vous nous communiquer le pourcentage de causes infectieuses identifiées lors de recherche avortement dans votre laboratoire ? (par an et par département)

Pour les départements nous ayant communiqué une réponse chiffrée, les taux d'élucidation variaient grandement, entre moins de 5 % et 75 % avec une moyenne de 39 % (sur 12 LDA soit 20 départements, soit 42 % (20/48) des départements réalisant des recherches « avortement bovin »). Tous les autres LDA réalisant des recherches « avortement bovin » ont été dans l'impossibilité de répondre : « *difficile de savoir* », « *non connu* », « *impossible d'obtenir ce type d'information via notre outil statistique au laboratoire* » ou encore « *impossible à dire car beaucoup de demandes d'analyses sous-traitées* ».

D'après les réponses fournies par les LDA, ce taux d'élucidation des avortements bovins est difficile à obtenir, sa définition même est sujette à controverse. Néanmoins, en moyenne, les laboratoires nous ayant renseigné ce taux le situent en dessous des 40 %.

¹¹ Nombre d'avortements bovins déclarés annuellement dans l'échantillon = Somme (soit du nombre d'avortement déclarés en 2010 par département-pour concorder avec les données du recensement agricole 2010-soit une approximation du nombre d'avortements déclarés ces dernières années, fournie par le département)

¹² Taux de déclaration médian des avortements bovins = médiane (nombre d'avortements déclarés dans un département/nombre de vaches adultes du département)

¹³ Différence entre le troisième quartile et le premier quartile. Cet outil statistique illustre ainsi la dispersion des valeurs données autour de la médiane.

¹⁴ Département à dominante allaitante : département pour lequel le nombre de vaches allaitantes est supérieur à celui du nombre de vaches laitières, établi d'après les chiffres du recensement agricole 2010 Agreste.

3. Protocoles avortement cheptel

a. Nombre de protocoles avortement cheptel suivis par les LDA

Q7 : Combien de PLANS AVORTEMENT CHEPTEL accompagnez-vous par an et par département ?

La question Q7 avait un double emploi : savoir si le LDA questionné suivait au quotidien de tels plans, et à hauteur de combien. Parmi les réponses fournies exploitables, (i) 19 % des départements (8 départements pour 8 LDA) ne suivent pas de « plan avortement cheptel ». Parmi ces départements, deux départements (2 LDA) ont récemment abandonné ce type de plan (dont l'un pour faute de financement), un autre LDA ne savait pas ce qu'était un « plan avortement cheptel ». (ii) 5% des départements concernés par la question (2 départements soit 2 LDA) ont leur propre « forfait avortement laboratoire » qui correspond également à des recherches systématiques en cas de série d'avortements, mais à l'initiative du LDA et non du GDS. Nous avons pris en compte ces « forfaits laboratoires » dans la suite du questionnaire. (iii) Enfin, 76 % des départements (32 départements pour 21 LDA) ont affirmé suivre un « plan avortement cheptel ». Dans un département sont proposés conjointement un « forfait avortement laboratoire » et un « plan avortement cheptel GDS ».

Dans le traitement des réponses à ce questionnaire en ligne, nous entendrons par « actions standardisées de diagnostic différentiel lors de série d'avortements bovins » (ou plus simplement de « protocole avortement cheptel »), la synthèse des « plans avortement cheptel » et des « forfaits avortement laboratoire ».

Ces actions étant menées au sein d'un élevage touché par des problèmes de reproduction, nous avons confronté le nombre d'actions par département avec le nombre de cheptels bovins du département. Ainsi, parmi les 21 départements nous ayant renseigné le nombre de « plan avortement cheptel » ou de « forfait avortement laboratoire », on recense 5 076 « actions » par an sur 63 882 cheptels bovins (dont 37 878 allaitants et 26 004 cheptels laitiers d'après le recensement agricole 2010). Le taux médian d'exploitations bovines déclenchant annuellement des actions standardisées de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements¹⁵ est de 5,4 % dans notre étude, on observe une très forte dispersion de ces taux entre les départements sondés, car l'espace interquartile est très élevé : 11,6 %. Pour information, ce taux a été calculé pour les départements de l'enquête hébergeant une majorité d'exploitations laitières (5 départements) et pour ceux abritant une majorité d'exploitations allaitantes (16 départements), respectivement 3,8 % et 6,3 %.

Dans cette étude 19 % des départements ne suivent pas d'actions standardisées de diagnostic différentiel lors de série d'avortements bovins. Parmi ceux suivant de telles actions, elles sont conduites par le GDS pour 76 % des départements (« plan avortement cheptel ») et par le LDA pour 5 % des départements (« forfait avortement laboratoire »).

Dans cette étude, et suivant les chiffres du recensement agricole de 2010, le taux médian d'exploitations bovines déclenchant des actions standardisées de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements est de 5,4 %.

¹⁵ Taux médian d'exploitations bovines déclenchant des actions standardisées de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements bovins = Nombre de plans ou forfaits avortements dans un département / Nombre de cheptels bovins du département, d'après les chiffres du recensement agricole 2010 Agreste.

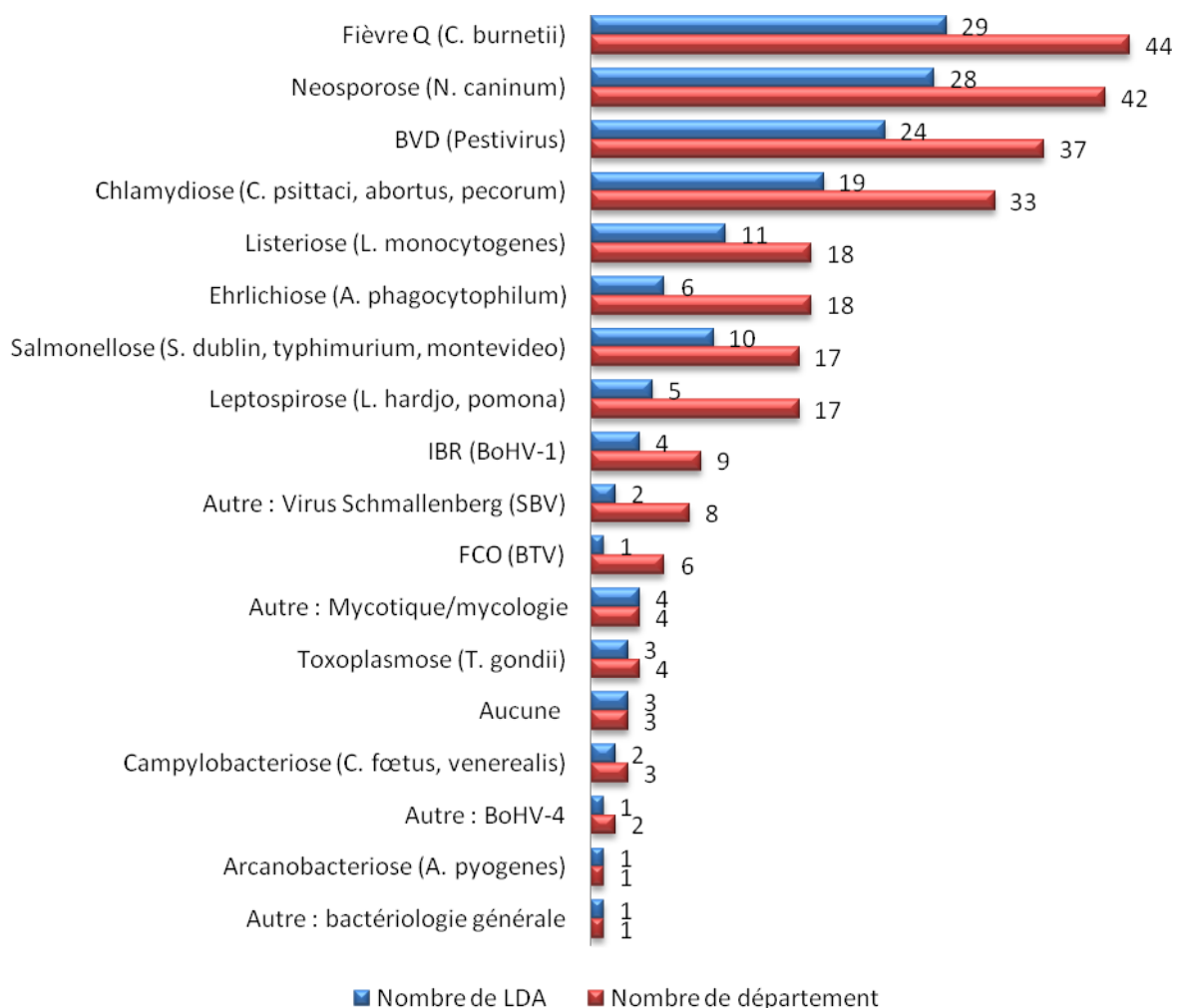
b. Description des protocoles avortement cheptel

Pour rappel : la possibilité d'un « forfait avortement laboratoire » proposé par le LDA n'a pas été envisagée lors de la réalisation du questionnaire, leurs descriptions ont été incluses dans les réponses Q8 à Q13. Nous parlerons ainsi d'actions standardisées de diagnostic différentiel lors de série d'avortements bovins (ou plus simplement de protocoles avortement cheptel).

Q8 : Dans le cadre d'un PLAN AVORTEMENT CHEPTEL, quelles recherches d'agents infectieux abortifs réalisez-vous en PREMIÈRE INTENTION ?

La figure 16 compile les réponses obtenues sur les recherches étiologiques réalisées en première intention en cas de série d'avortement. Elle recense 17 analyses d'agents pathogènes différents recherchés en première intention. Le traitement des réponses révèle que 4 agents abortifs sont largement en tête dans le diagnostic différentiel en cas de série d'avortements : *Coxiella burnetii* agent de la Fièvre Q dans 92 % des départements réalisant des recherches « avortement bovin », *Neospora caninum* agent de la Néosporose dans 87 %, le pestivirus BVD dans 77 % et *Chlamydia sp.* agents de la Chlamydie dans 69 %. Dans 2 départements (soit 1 LDA), le *BoHV-4* est recherché en première intention, soit dans 4 % des départements réalisant des recherches « avortement bovin ». Parmi les 31 actions décrites en première intention dans cette étude, on en dénombre 25 différentes (4 sont identiques l'une à l'autre, 3 identiques l'une à l'autre et 2 identiques l'une à l'autre). A noter que la réponse « Aucune » renvoie au fait qu'il n'est pas établi de protocole systématique de diagnostic différentiel des avortements bovins au sein de ces départements ; et que la mention « Autre » cite des étiologies non proposées dans les réponses multiples de Q8 (annexe 5).

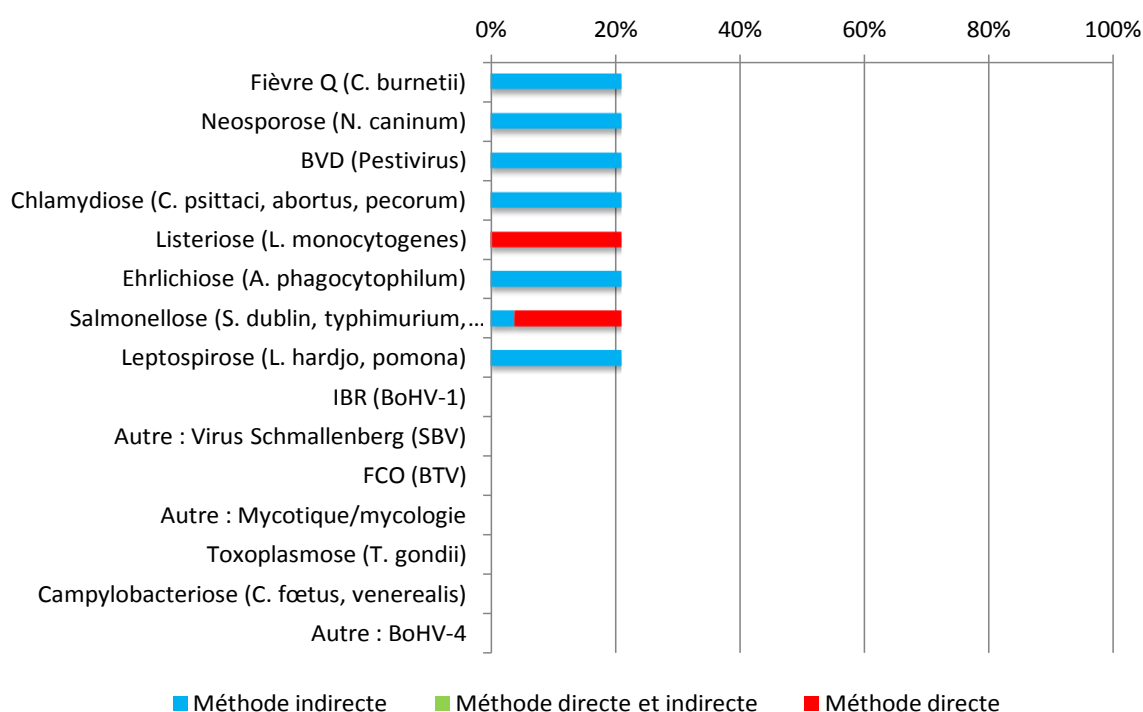
FIGURE 16 : Nombre de départements et de LDA correspondant, réalisant des recherches étiologiques en première intention en cas de série d'avortements bovins



Q9 : Veuillez spécifier pour chacune des analyses réalisées, la méthode de laboratoire de choix utilisée.

A noter que les prélèvements réalisés dans l'élevage touché par une série d'avortement peuvent varier entre l'avortée et les autres vaches à troubles de reproduction et que certains de ces prélèvements, en pratique courante, peuvent ne pas être réalisables par les vétérinaires praticiens, bridant les actions du LDA en aval. On raisonnera donc plus globalement, sur les méthodes de laboratoires proposées par agent pathogène recherché en première intention (figure 17).

FIGURE 17 : Méthodes de laboratoires proposées lors des recherches en première intention



D'après les réponses des LDA à l'enquête, la recherche du *BoHV-4* en première intention se réalise par méthode directe au sein des départements ayant participé à l'étude.

Q10 : Si la conduite des recherches de 1^{ère} intention varie sur votre aire géographique, veuillez exposer les différences ci-après Aucune réponse

Concernant les actions standardisées de diagnostic différentiel lors de série d'avortements bovins, on observe 25 actions différentes pour 31 décrites en première intention.

Parmi les 17 agents pathogènes recherchés en première intention, les 4 premiers agents cités par les LDA sont dans l'ordre décroissant : *Coxiella burnetii* (Fièvre Q), *Neospora caninum* (Néosporose), le pestivirus BVD, *Chlamydia sp.* (Chlamydieuse).

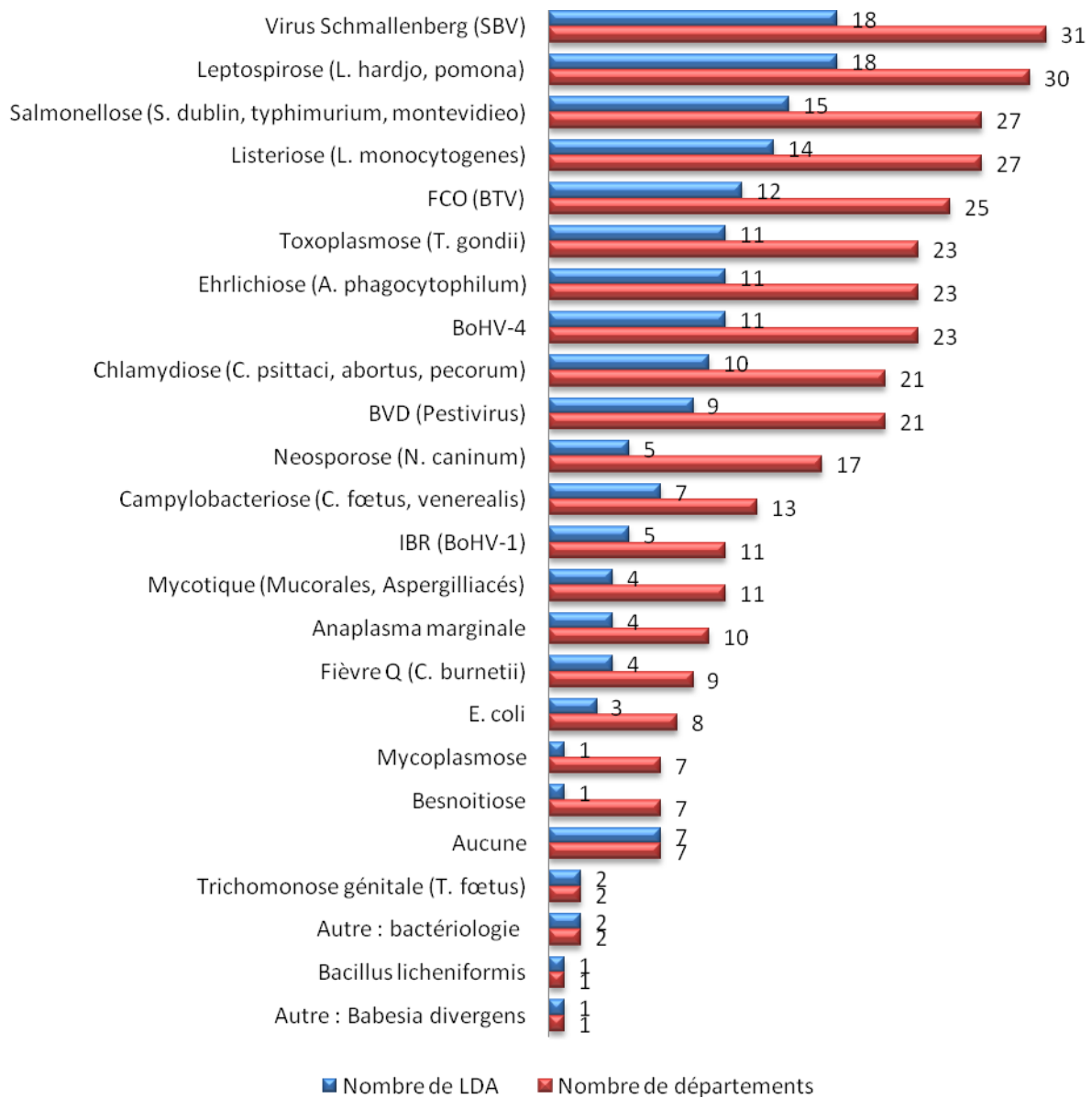
Dans 4 % des départements conduisant de telles actions, le *BoHV-4* est recherché systématiquement en première intention, par méthode directe.

Q11 : Toujours dans le cadre d'un PLAN AVORTEMENT CHEPTEL, quelles recherches d'agents infectieux abortifs réalisez-vous en SECONDE INTENTION ? (par an et par département)

Les réponses en Q11 sont présentées sur le même modèle que celles de Q8, en figure 18. La figure 18 recense 23 analyses différentes d'agents pathogènes recherchés en seconde intention. Le virus *BoHV-4* la 6^{ème} place parmi les agents pathogènes recherchés en seconde intention, il est recherché dans 23 départements dans cette étude, à la même hauteur que *Toxoplasma gondii* agent de la Toxoplasmose et *Anaplasma phagocytophilum* agent de l'Ehrlichiose (égalité en nombre de LDA et de départements). Parmi les 27 actions de diagnostic différentiel décrites en seconde intention, 26 sont différentes. A noter que les actions en première intention correspondant aux 2 actions identiques en seconde intention sont différentes. La mention « *Aucune* » renvoie au fait qu'il n'existe pas de recherches standardisée en seconde intention lors de série d'avortements bovins. La mention « *Autre* » précède des étiologies qui n'avaient pas été proposées dans les réponses multiples de Q11 (annexe 5).



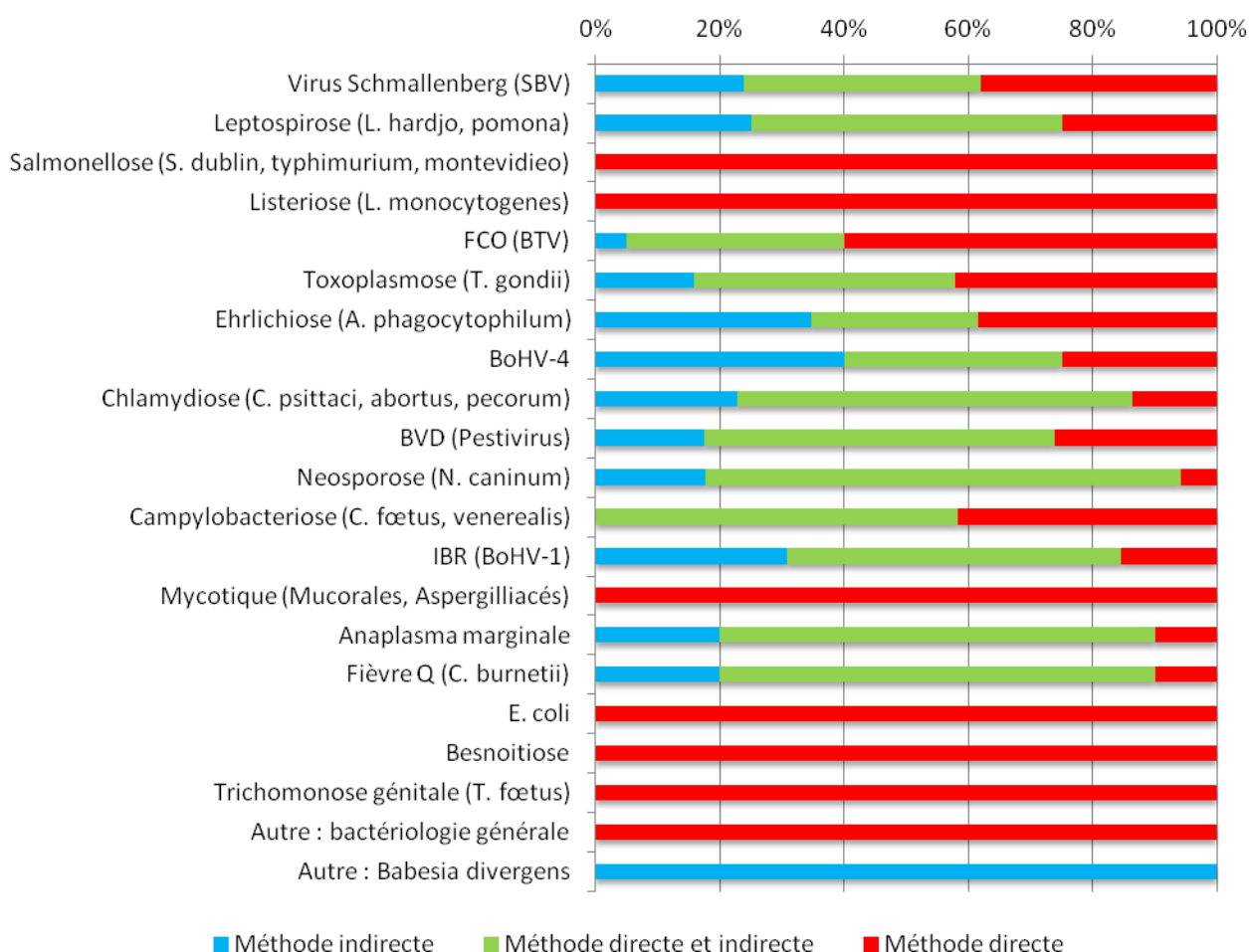
FIGURE 18 : Nombre de départements et de LDA correspondant, réalisant des recherches étiologiques en seconde intention en cas de série d'avortements bovins



Q12 : Veuillez spécifier pour chacune des analyses réalisées, la méthode de laboratoire de choix utilisée

Les réponses exploitables des formulaires en ligne ont été compilées en figure 19. De même que pour la question Q9, on raisonnera en méthodes de laboratoires proposées par agents pathogènes recherchés en seconde intention dans cette étude.

FIGURE 19 : Méthodes de laboratoires proposées pour la recherche en seconde intention



Q13 : Si la conduite des recherches en 2nde intention varie sur votre aire géographique, veuillez exposer les différences ci-après

Cette question ouverte a été l’occasion pour 6 LDA de rappeler que prévalait « la demande du prescripteur de l’analyse » lors de recherches en seconde intention. Un LDA a rappelé que les analyses s’adaptent en fonction « des échantillons fournis par le préleveur ». Trois LDA ont confié sous-traiter certaines des analyses de seconde intention, dont un pour le BoHV-4.

Lors d’actions standardisées de diagnostic différentiel lors de série d’avortements bovins on observe 26 actions différentes pour 27 décrites en seconde intention.

Le BoHV-4 est le 6^e agent le plus recherché en seconde intention, *ex-æquo* avec *Toxoplasma gondii* et *Anaplasma phagocytophilum*, parmi les 23 agents pathogènes recherchés en seconde intention dans cette étude. Sa recherche est menée par méthode directe et/ou indirecte, un LDA sous-traite son analyse dans cette enquête.

C. Le *BoHV-4* dans les LDA

1. Entend-on parler du *BoHV-4* ?

Q3' : Avez-vous déjà entendu parler du *BoHV-4*, comme agent pathogène chez le bovin ?
Jamais / Oui depuis plusieurs années / Très récemment (depuis moins de 2 ans) / Autre

A cette question fermée, 3 formulaires exploitables sont parvenus. Q3' visait les LDA ne réalisant pas de recherche « avortement bovin », correspondant à 3 départements. Pour 2 d'entre eux, ils n'ont « *Jamais* » entendu parler du *BoHV-4*, le dernier connaît le *BoHV-4* comme agent pathogène chez les bovins depuis plus de 2 ans.

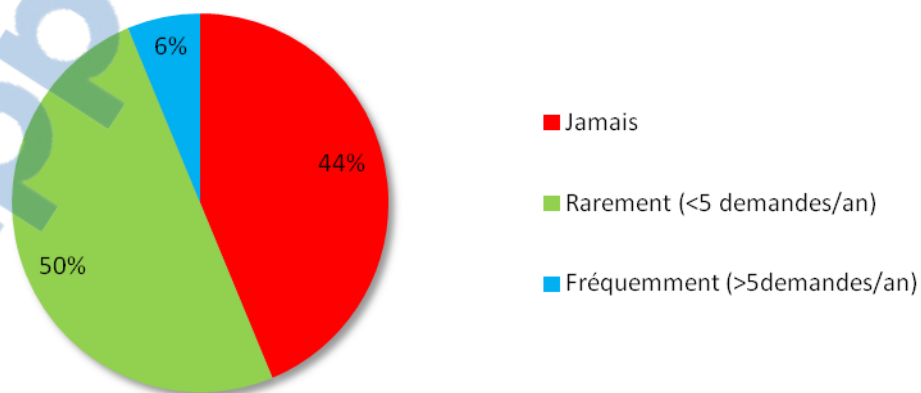
2. Est-il l'objet de demandes de recherche de la part des vétérinaires praticiens ?

Q4'/Q17'/Q17 : Recevez-vous des demandes isolées de recherche du *BoHV-4* de la part des vétérinaires praticiens ? Jamais / Rarement (< 5 demandes/an) / Fréquemment (> 5 demandes/an)

Parmi 3 départements ne réalisant pas de recherche « avortement bovin » (question Q4'), tous ont répondu « *Jamais* ».

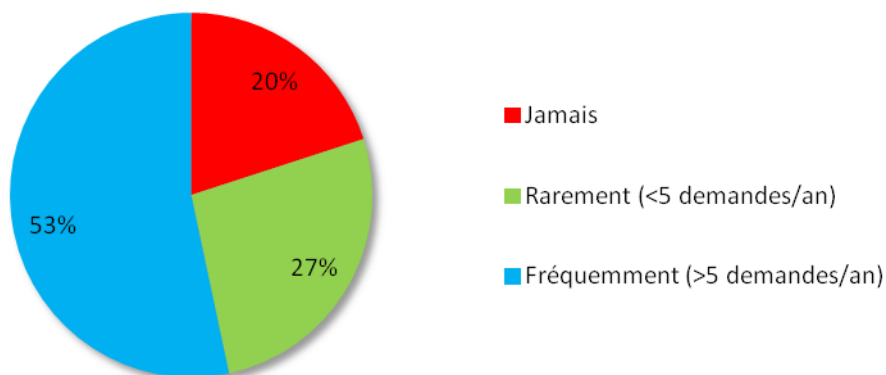
Parmi les 32 départements réalisant des recherches « avortement bovin » mais pas d'analyse *BoHV-4* en leur sein (question Q17'), 14 départements ont répondu « *Jamais* », 16 départements « *Rarement* » et 2 « *Fréquemment* » (figure 20). Pour 56 % de ces départements, au moins une demande annuelle d'analyse *BoHV-4* est émise de la part des vétérinaires praticiens.

FIGURE 20: Synthèse des réponses obtenues en Q17'



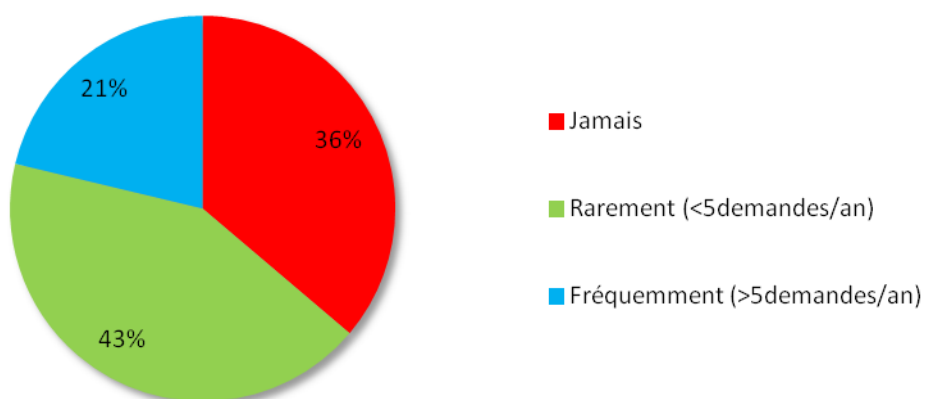
Parmi les 15 départements réalisant des recherches « avortement bovin » et *BoHV-4* (question Q17), 3 ont répondu « *Jamais* », 4 « *Rarement* » et 8 « *Fréquemment* » (figure 21). Ainsi, 80 % des départements concernés reçoivent au moins une demande annuelle d'analyse *BoHV-4* de la part des praticiens vétérinaires.

FIGURE 21 : Synthèse des réponses obtenues en Q17



La synthèse des réponses des 47 départements réalisant des analyses « avortement bovin » (figure 22) révèle que 64 % de ces départements reçoivent au moins une demande annuelle d'analyse *BoHV-4* de la part des vétérinaires praticiens locaux. Pour 36 % des ces départements, le *BoHV-4* n'est jamais l'objet de demandes de la part des vétérinaires praticiens.

FIGURE 22 : Synthèse des réponses obtenues en Q17' et Q17

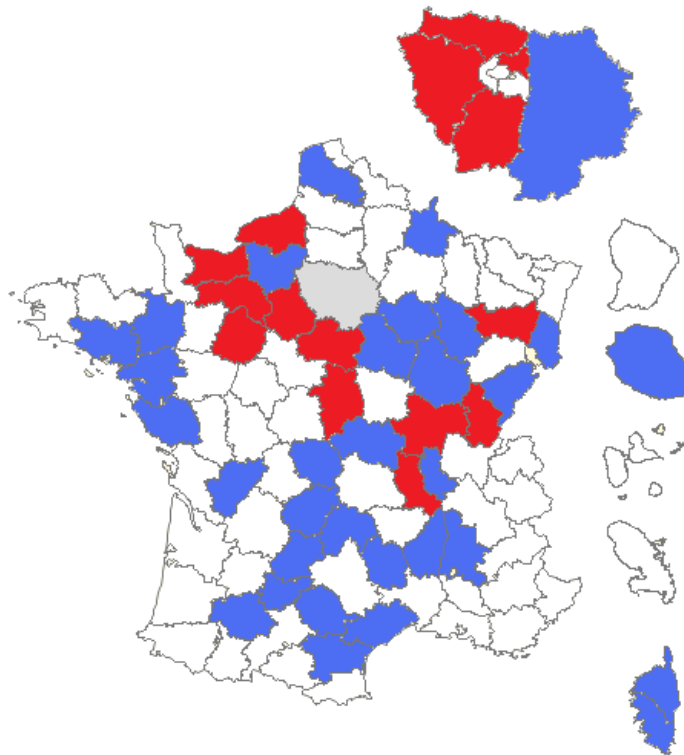


3. La recherche du *BoHV-4* au LDA

a. Où le recherche-t-on ?

Q15 : Recherchez-vous le *BoHV-4* dans votre laboratoire ? O/N

FIGURE 23 : Les 15 départements ayant répondu au formulaire en ligne et réalisant des analyses *BoHV-4* (rouge) parmi les 47 réalisant des recherches « avortement bovin » (bleu)



Parmi les formulaires exploitables, 9 LDA soit 15 départements (sur 47) réalisent actuellement des recherches *BoHV-4* (figure 23). Si l'on additionne les cheptels bovins correspondant à ces 15 départements, d'après les chiffres du recensement agricole 2010, ils représentent 17 % du cheptel bovin adulte français, plus précisément 17 % du cheptel laitier et 16 % du cheptel allaitant. Les recherches *BoHV-4*, dans cette enquête, sont conduites sur 10 départements à dominante laitière et 5 départements à dominante allaitante.

Dans la présente enquête, 32 % des départements réalisent des analyses « avortement bovin » et *BoHV-4*. L'analyse *BoHV-4* est « proposée » pour 17 % du cheptel bovin adulte français (17 % du cheptel laitier et 16 % du cheptel allaitant français), d'après les chiffres du recensement agricole 2010.

Quatre départements ont rapportés avoir abandonné cette analyse *BoHV-4*. Dans la plupart de ces départements, les recherches *BoHV-4* avait été initiées « à titre expérimental » par les acteurs de la santé animale (GDS local principalement). Après des « résultats jugés non satisfaisants », ces analyses ont été abandonnées. En exemple on citera un LDA, en question Q19', qui rapporte que l'analyse *BoHV-4* avait été précédemment proposée

localement, mais ne présentait pas de « *valeur diagnostique suffisamment intéressante pour les éleveurs* », la demande fut alors en « *chute libre* ». En effet, à la demande de leur GDS local, une vaste enquête séro-épidémiologique (par ELISA *BoHV-4*) avait été menée dans le département correspondant, intéressant une dizaine d'animaux par élevage, dont des élevages témoins (pas ou peu d'avortements) et des élevages présentant des troubles de reproduction. Des animaux positifs avaient été détectés dans tous les élevages. L'analyse *BoHV-4* leur était donc apparue comme « *non pertinente* » et abandonnée, préférant « *se centrer sur d'autres agents infectieux* ». Les autres LDA concernés invoquent l'absence de « *circulation virale* » dans le département après une enquête sérologique, une « *interprétation délicate* » des résultats, absence de « *plan de traitement ou d'éradication* » face au *BoHV-4*.

b. Depuis quand ?

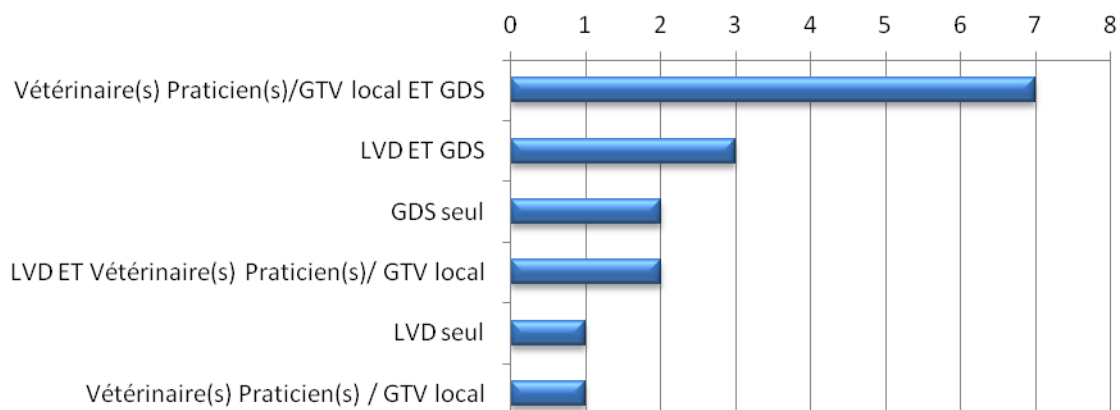
Q16 : Depuis quand recherchez vous le *BoHV-4* ?

D'après l'exploitation des réponses aux formulaires en ligne, pour les 15 départements réalisant des analyses *BoHV-4* en leur sein dans la présente enquête, 7 le font depuis moins de 3 ans, 6 depuis 2008, et 2 depuis plus de 10 ans.

c. À l'initiative de qui ?

Q18 : À l'initiative qui recherchez-vous le *BoHV4* ? (LVD / GDS / Vétérinaire(s) Praticien(s)-GTV local)

FIGURE 24 : Synthèse des réponses obtenues en Q18, exprimée en nombre de département



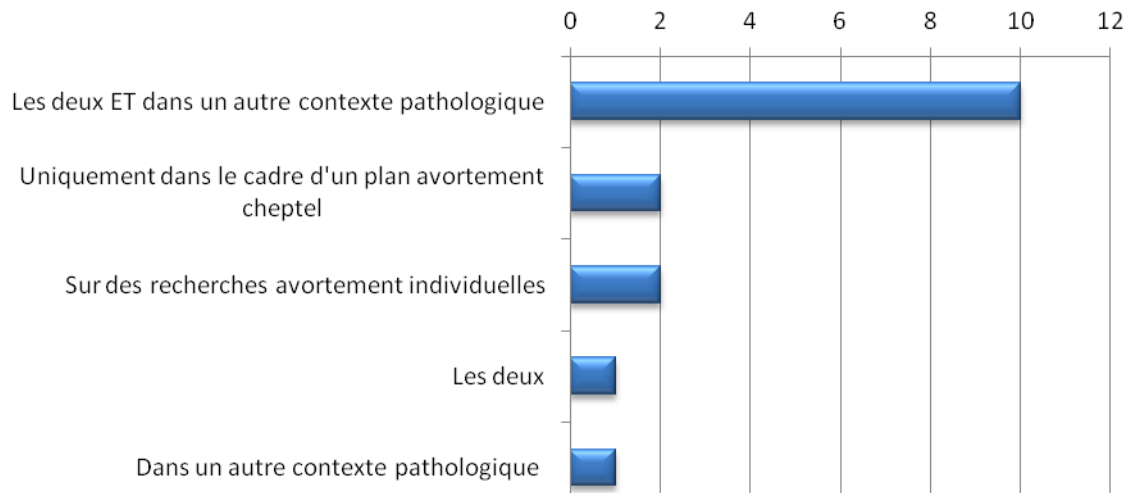
Pour 75 % des réponses fournies par les LDA recherchant le *BoHV-4*, le GDS fait partie des acteurs à l'initiative de la recherche du *BoHV-4* à l'échelle départementale, dans 63 % les vétérinaires praticiens ou le GTV local et dans 38 % les LVD (figure 24).

Dans la présente enquête, 32 % des départements réalisent des analyses « avortement bovin » et *BoHV-4*. Pour 87 % d'entre eux, ces recherches *BoHV-4* sont conduites depuis moins de 5 ans, à l'initiative dans l'ordre décroissant des GDS puis des vétérinaires praticiens ou du GTV local puis enfin des LDA.

d. Dans quel contexte pathologique ?

Q19 : Cette recherche du *BoHV-4* se réalise : Uniquement dans le cadre d'un plan avortement cheptel / Sur des recherches avortement individuelles / Les deux / Dans un autre contexte pathologique-veuillez les citer

FIGURE 25 : Synthèse des réponses obtenues en Q19, exprimée en nombre de département



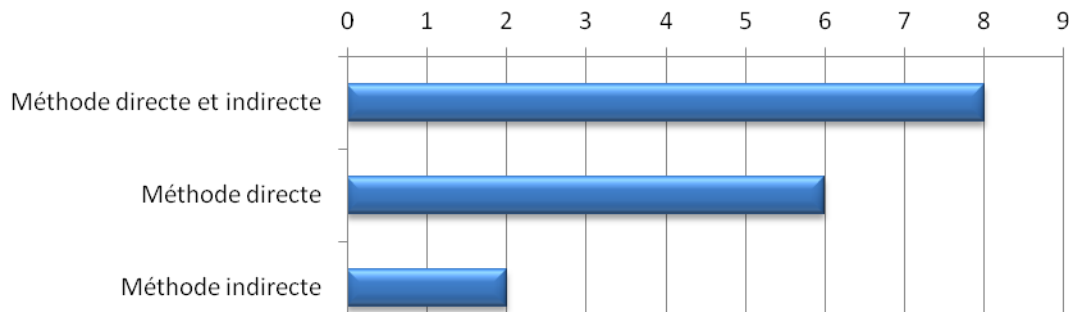
Pour 63 % des réponses obtenues à cette question, la recherche du *BoHV-4* est motivée, dans les LDA le recherchant, à la fois par des avortements et d'autres contextes pathologiques, dans 31 % uniquement en cas d'avortement (individuel ou en série) et dans 6 % uniquement dans d'autres contextes pathologiques (figure 25).

Parmi les autres contextes pathologiques cités, le *BoHV-4* fait partie du diagnostic différentiel des troubles de la reproduction suivants : « métrites rebelles aux traitements classiques » ou « apparaissant après des césariennes » pour un département et « infertilité ». Des recherches *BoHV-4* ont été conduites lors de « contrôle d'achat » dans un département (arrêtées depuis 2009 pour cause de « sérologie non négligeable et pas de moyen d'action ») et pour un département, dans le cadre de pathologie respiratoire, pour « contre-expertise IBR ».

e. Avec quelles méthodes de laboratoire ?

Q20 : De quelle(s) méthode(s) de laboratoire disposez-vous au LVD pour rechercher le *BoHV-4* ? Méthode directe : PCR / Méthode indirecte : IFI / Méthode indirecte : ELISA / Autre

FIGURE 26 : Synthèse des réponses obtenues en Q20, exprimée en nombre de départements



Dans la majorité des LDA réalisant des analyses *BoHV-4*, la détection directe du virus est privilégiée, associée ou non à un diagnostic indirect d'infection (figure 26).

Parmi les méthodes directes utilisées, la PCR est présente dans 81 % des départements concernés, l'isolement en culture cellulaire dans 44 % des départements. Parmi les méthodes indirectes, l'ELISA est utilisée dans 25 % des départements (4 LDA) et l'IFI dans 38 % des départements (1 seul LDA).

f. Sur quels prélèvements ?

Q21 : En fonction des outils employés (cochés à la question précédente), veuillez indiquer sur quels types de prélèvement vous réalisez ces analyses

Peu de réponses ont été fournies à cette question ouverte : ainsi, dans cette enquête la PCR est utilisée en pratique principalement sur des «*écouvillons endo-cervicaux*», sur «*mucus vaginal*», sur le «*placenta*», ou plus marginalement sur le «*liquide stomacal d'avorton*». L'isolement viral en culture de cellule se réalise à partir d'échantillons d'organe : «*placenta*». La méthode ELISA, quant à elle, se réalise sur «*sérum de la malade*».

La grande majorité des analyses *BoHV-4* sont motivées, dans les départements le recherchant, non seulement par des avortements mais aussi par d'autres troubles de la reproduction bovine. La recherche directe du virus par PCR est privilégiée dans cette enquête, elle peut être conduite en pratique sur la vache malade, avortée ou non (écouvillon endocervical, exsudat utérin, placenta) et sur l'avorton (liquide stomacal).

g. Coût des analyses

Q22 : À combien est facturé chacune de ces analyses ? (données confidentielles)

Cette question a été jugée « *mal venue* » ou simplement non traitée par les LDA sous couvert de confidentialité. Il a été demandé que soit rappelé que le tarif pratiqué par le LDA tient aussi compte de la « *collecte des échantillons, des frais de dossier et parfois de la fourniture du matériel de prélèvement* ». Les quelques réponses qui nous sont parvenues font état d'une PCR-*BoHV-4* entre 35 et 40 € HT (86 € TTC pour « *PCR multiplex* » recherchant plusieurs agents simultanément dont le *BoHV-4*), un isolement en culture cellulaire autour de 40 € HT et une ELISA entre 4 et 10 € HT. Enfin, pour ordre d'idée, le prix avancé pour un « *pack* » avortement cheptel est variable, entre 60 et 150 € HT par élevage, fonction des analyses prescrites.

Q23 : Ces analyses *BoHV-4* effectuées sont-elles pris en charge par le Groupement de Défense Sanitaire local ? Uniquement dans le cadre d'un plan avortement cheptel / Sur des recherches avortement individuelles / Les deux / Autre

Les analyses *BoHV-4* sont prises en charge par le GDS local uniquement dans le cadre de « plan avortement cheptel » (ou « *programme pilote Fièvre Q*¹⁶ ») dans 11 départements. Elles ne sont plus prises en charge dans un département, et non prises en charge dans trois départements. Dans un cas particulier (un département) ces analyses *BoHV-4* étaient prises en charge dans le cadre de contre-expertise IBR.

Q24 : Si ces analyses *BoHV-4* sont effectivement prises en charge par le GDS local, veuillez indiquer à hauteur de combien ?

Dans le cadre d'un plan avortement cheptel, la prise en charge est variable pour l'éleveur, elle peut être totale (par exemple : 50 % à charge du GDS local, 50 % à charge du Conseil Général local) ou à hauteur de moitié. Ces financements ont également été rapportés comme « *variables selon les années* ».

Aborder la question de la facturation reste un sujet sensible auprès des LDA en France. Lorsque l'analyse *BoHV-4* rentre dans une action standardisée de diagnostic différentiel des avortements bovins, elle peut être partiellement ou totalement financée pour l'éleveur.

¹⁶ Travaux conduits en 2011 sous l'égide de la direction générale de l'alimentation pour la mise en place de la surveillance de la Fièvre Q dans 10 départements pilotes.

h. Quel rôle lui attribuer ?

Q25 : En fonction des résultats obtenus par votre laboratoire, pensez-vous que le *BoHV-4* est :
Un agent uniquement responsable de métrites / un agent potentialisateur d'autres agents abortifs / Un agent abortif en soi / Autre

Parmi les 15 départements réalisant des analyses *BoHV-4*, lorsque ne sont pas invoqués pour 40 % d'entre eux les manques de connaissances ou de recul autour du *BoHV-4* (en section « *Autre* »), 60 % des départements restant répondent de concert sur le rôle « *potentialisateur du BoHV-4 d'autres agents abortifs* ». Aucun département réalisant des analyses spécifiques contre ce virus ne considère le *BoHV-4* comme « *un agent uniquement responsable de métrite* ».

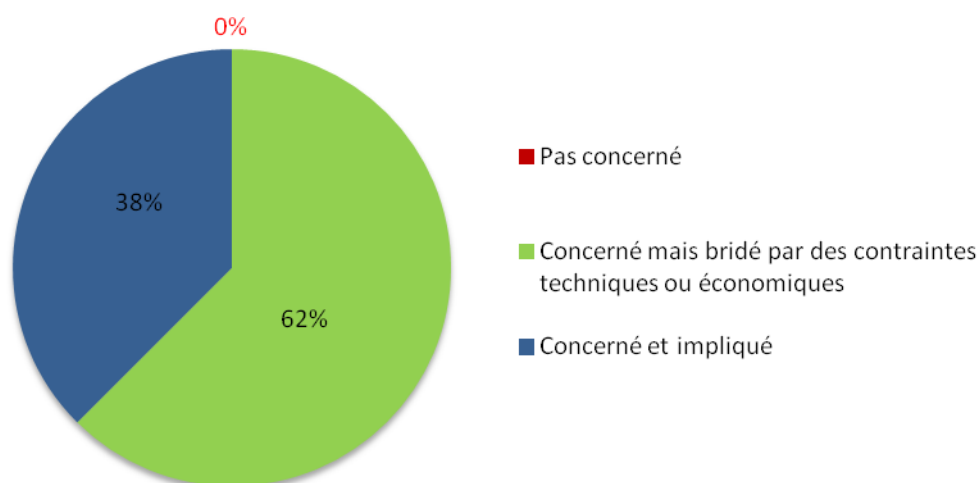
Cette question Q25 a été construite pour être analysée avec Q16'. Q16' intéresse les LDA réalisant des recherches « avortement bovin » mais pas d'analyse *BoHV-4* (Q16' sera exposée ultérieurement en détail dans l'item « 4-Le *BoHV-4* sera-t-il l'objet de futures investigations»). Ainsi, à la question « *Si vous ne réalisez pas de recherches BoHV-4 dans votre laboratoire, est-ce dû à* », 4 laboratoires sur les 23 concernés ont répondu que « *l'implication éventuelle du BoHV-4 dans les avortements bovins ne faisait pas partie des préoccupations du laboratoire* ».

Des réponses prudentes des LDA recherchant le *BoHV-4*, il ressort pour ce virus l'image d'un pathogène secondaire, notamment potentialisateur d'agents abortifs. Parmi les laboratoires impliqués dans les recherches « avortement bovin » mais ne réalisant pas d'analyse *BoHV-4*, 17 % déclarent ne pas considérer ce virus comme agent pathogène éventuellement abortif.

i. Retour sur l'expérience des LDA qui recherchent le BoHV-4

Q26 : À l'égard de l'implication du BoHV-4 dans les avortements bovins, vous sentez-vous :
Pas concerné / Concerné mais bridé par des contraintes techniques ou économiques / Concerné et impliqué

FIGURE 27 : Synthèse des réponses obtenues en Q26



Tous les laboratoires réalisant des recherches *BoHV-4* se sentent « *concernés* » par l'implication de ce virus dans les avortements bovins à l'échelle locale (figure 27). Cependant, il ressort de cette étude que près de 62 % de ces LDA se sentent bridés dans leurs recherches *BoHV-4*, par des contraintes techniques ou économiques.

À l'image du couple de question Q25-Q16', la question Q26 (intéressant les LDA recherchant le *BoHV-4*) trouve son pendant en Q16' (destinée aux LDA réalisant des recherches « avortement bovin » mais pas d'analyses *BoHV-4*). Ainsi, à la question « *Si vous ne réalisez pas de recherches BoHV-4 dans votre laboratoire est-ce dû à* », 2 LDA sur 23 concernés ont répondu « *par manque de moyen technique mis à disposition au LVD* ».

Les réponses à Q26 témoignent de la prise de responsabilité (100 % « *concernés* ») des LDA face au *BoHV-4*, mais cette recherche est frustrée localement par des contraintes matérielles (techniques ou économiques). Neuf pour cent des départements ayant répondu à Q16' ne réalisant pas de recherches *BoHV-4* invoquent le manque de moyens techniques à disposition au LDA.

4. Le *BoHV-4* sera-t-il l'objet de futures investigations ?

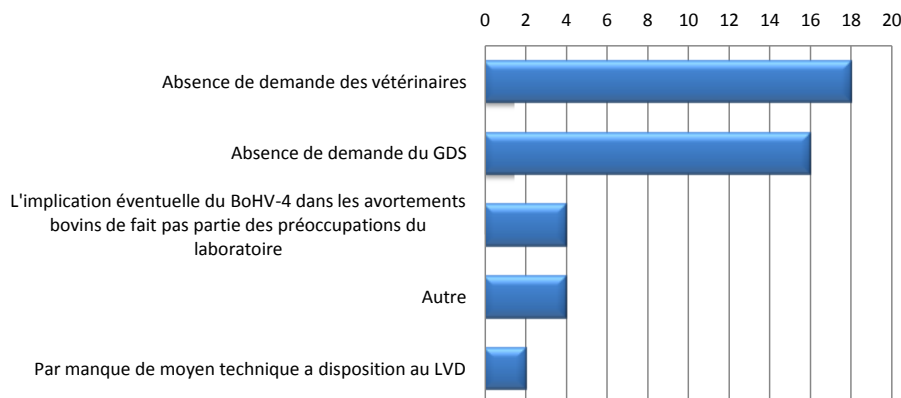
Q5' : Si vous ne réalisez pas de recherches *BoHV-4*, comptez-vous dans un avenir proche vous équiper pour le rechercher en routine ? (O/N)

Les trois départements (soit 3 LDA) n'effectuant pas d'analyse « avortement bovin » ont tous répondu « *Non* ».

Q16' : Si vous ne réalisez pas de recherches *BoHV-4* dans votre laboratoire est-ce dû à : Absence de demande des vétérinaires / Absence de demande du GDS / Par manque de moyen technique à disposition au LVD / L'implication éventuelle du *BoHV-4* dans les avortements bovins ne fait pas partie des préoccupations du laboratoire / Autre

Parmi les 23 LDA impliqués dans les recherches « avortement bovin » mais ne réalisant pas d'analyse *BoHV-4* en leur sein, 78 % invoquent « l'absence de demande des vétérinaires », et 70 % « l'absence de demande du GDS local » (figure 28). Quatre LDA ont répondu que « l'implication éventuelle du *BoHV-4* ne fait pas partie des préoccupations du laboratoire » et parmi ces derniers un LDA a mené des recherches antérieures *BoHV-4* sur son territoire.

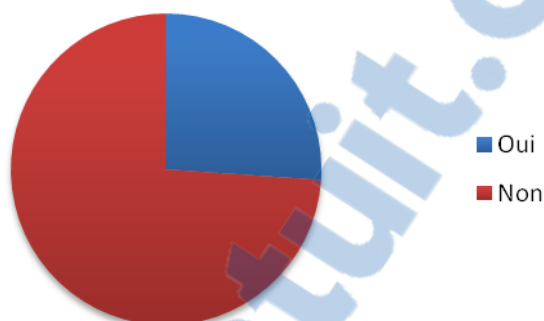
FIGURE 28 : Synthèse des réponses obtenues en Q16', exprimée en nombre de LDA



Q18' : Si vous ne réalisez pas de recherches *BoHV-4*, comptez-vous dans un avenir proche vous équiper pour le rechercher en routine ? (O/N)

Parmi les LDA réalisant des recherches « avortement bovin » mais pas d'analyse *BoHV-4*, 6 laboratoires ont répondu « *Oui* », correspondant à 26 % des LDA (figure 29).

FIGURE 29 : Synthèse des réponses obtenues à la question Q18' (unité : LDA)



Dans cette étude, les vétérinaires praticiens (GTV) et le GDS sont les moteurs à l'échelle locale de la recherche du *BoHV-4*, 26 % des LDA comptent s'équiper pour rechercher le *BoHV-4* en routine dans un avenir proche.

Q6'/Q19'/Q27 : Avez-vous des remarques complémentaires à faire part sur le *BoHV-4* ?

Plusieurs remarques ont fait suite à cette question ouverte : parmi les LDA réalisant des recherches « avortement bovin » mais pas d'analyse *BoHV-4*, un LDA s'est déclaré « *disposé à mettre en œuvre le dépistage de cette infection virale si la demande venait à augmenter* » dans leur département, « *demande de la part des GDS et vétérinaires praticiens* ». La même réflexion est amenée par un autre LDA, qui possède selon lui « *les compétences et équipements techniques* » pour réaliser la recherche du *BoHV-4* mais qui attend « *une campagne de sensibilisation du GDS auprès des vétérinaires et éleveurs* ». Enfin, un LDA rapporte que depuis quelques années « *les catalogues de diagnostic des maladies abortives des LDA* » s'agrandissent mais « *les praticiens restent peu enclin à chercher des causes d'avortement, peut-être par manque de solution thérapeutiques efficaces dans certains cas (BoHV-4 en l'occurrence)* ».

TROISIÈME PARTIE : Discussion

Dans cette troisième et dernière partie de thèse seront discutées la pertinence des résultats obtenus, relatifs aux protocoles « avortement bovin » et la place des analyses *BoHV-4* dans ce contexte dans les laboratoires départementaux d'analyse vétérinaire français.

Les limites de l'enquête auprès des LDA seront présentées, puis, les réponses obtenues en Partie II seront mises en perspectives avec les données actuelles françaises pour affiner nos connaissances sur les recherches « avortement bovin » en France et la place que tient le *BoHV-4* dans ce contexte auprès des LDA.

I. Limites de l'enquête

Q6'/Q19'/Q27 : Avez-vous des remarques complémentaires à faire part sur ce questionnaire ?

A. Population ayant participé à l'enquête

La population des LDA ayant répondu volontairement à l'enquête ne saurait constituer un échantillon représentatif (par l'absence de tirage au sort). Notre premier objectif annoncé était d'obtenir le maximum de réponses de la part des LDA, pour pouvoir éditer un cliché précis de la recherche du *BoHV-4* en France en 2013. Avec 36 formulaires exploitables de LDA (sur 56 LDA français) correspondant à 50 départements, le taux de participation national s'élève à 50 % (50/101 départements français). La population obtenue s'avère homogène si l'on raisonne avec les données du recensement agricole 2010, puisque les départements participant à l'enquête abritent 51 % du cheptel bovin adulte français, avec une proportion équivalente de vaches laitières et allaitantes (respectivement 49 % du cheptel bovin adulte laitier et 53 % du cheptel bovin adulte allaitant français). Ce résultat est très satisfaisant, d'autant plus que la participation des LDA était purement volontaire. Il témoigne de l'intérêt porté par les acteurs départementaux à la question des avortements bovins et du *BoHV-4*. Cependant, puisqu'il s'agit d'une étude déclarative, nous ne pouvons pas assurer la justesse ou la précision de toutes les réponses obtenues.

Cinquante et un départements français (métropolitains et d'outre-mer) n'ont pas répondu à l'enquête. On déplore l'absence de certains départements densément peuplés en bovins, notamment dans le Grand-Ouest. C'est un des biais majeur de l'enquête (l'action de l'UMT « Maîtrise de santé des troupeaux bovins » s'est focalisée sur la région Bretagne et Pays de Loire, on peut imaginer que notre étude leur a paru redondante). Parmi les 50 départements participant à l'enquête, 32 % proposent des recherches *BoHV-4* en leur sein, ils abritent 17 % du cheptel bovin adulte français. Cette sous-population de départements est également homogène puisque la proportion de vaches laitières et allaitantes y est encore équivalente, respectivement 17 % et 16 %. On peut raisonnablement estimer que la proportion de laboratoires recherchant le *BoHV-4* dans notre population surestime la réelle proportion de tels laboratoires à l'échelle nationale (le titre même de l'enquête faisait mention du virus). Enfin, il convient de rappeler que certains LDA couvrent un large territoire d'influence (jusqu'à 7 départements pour un LDA dans cette étude), cette tendance globale à la concentration des analyses vétérinaires peut biaiser certains résultats de l'enquête, notamment lorsqu'un avis de clinicien est demandé, cet avis se généralise alors sur beaucoup de départements à la fois.

B. Protocole d'enquête

1. Canal de communication : le formulaire en ligne

a. *Choix du canal de communication*

L'emploi du formulaire en ligne comme canal de communication a été critiqué par un LDA, pour lequel un appel téléphonique aurait été préférable plutôt qu'un envoi « *de masse* ». Ce choix nous apparaissait pourtant cohérent avec la forte diffusion voulue de l'étude et la facilité de traitement des réponses. Les entretiens téléphoniques auraient pu être complémentaires dans un second temps, à l'enquête en ligne. Il convient de reconnaître que le formulaire en ligne reste auprès des sondés un canal de communication immatériel et impersonnel, la valeur qui lui est attribuée et l'implication des sondés restent plus faibles que lors d'une enquête téléphonique. On peut également évoquer la défiance qu'ont engendré les questions relatives au coût des analyses *BoHV-4* dans un formulaire en ligne. En contrepartie, l'ergonomie du formulaire a été travaillée pour rendre l'expérience des sondés plus agréable : 3 retours positifs de LDA quant à sa conception nous ont été transmis.

b. *La diffusion*

La majorité des 51 départements français n'ayant pas répondu au formulaire en ligne n'ont pas pris la peine de signaler leur non participation : ainsi seuls 2 LDA ont envoyé un courriel s'excusant de ne pouvoir participer à l'enquête faute de temps et 3 LDA ont été dans l'impossibilité d'ouvrir le lien. Nous n'avons pas à l'heure actuelle d'explication à ce dernier problème (incompatibilité, protection du système informatique des LDA avec pare feu ...). On considère que les courriels utilisés pour la diffusion de l'enquête étaient valides, puisqu'aucun message d'erreur de destinataires ne nous a été renvoyé. Il semblerait que la présente enquête auprès des LDA ait été desservie par le fait que ces derniers sont visiblement « *très exposés au quotidien par des sondages* » divers.

c. *Temps nécessaire pour le compléter*

Lors de la conception du formulaire en ligne, le temps nécessaire pour le compléter en fonction des différents profils des LDA n'a pas été évalué. Seul peut être assuré le nombre de questions auxquelles un LDA aura à répondre en fonction de son profil d'activité (tableau 6). L'implication du LDA dans l'étude et l'accessibilité des données informatiques localement déterminent le temps nécessaire pour répondre au formulaire. L'effort d'adaptabilité du présent formulaire en ligne allait dans le sens d'une réduction du temps de sondage (en réduisant le nombre de question et orientant le sondé vers des questions qui le concernent plus). On peut néanmoins avancer qu'un LDA ne réalisant pas de recherche « avortement bovin » remplira le formulaire en une minute (6 questions majoritairement fermées). Cette précision a été mentionnée dans les courriels de relance, malgré cela seuls trois LDA ne réalisant pas de recherche « avortement bovin » ont participé à l'enquête. Parmi les LDA

réalisant des recherches « avortement bovin », deux LDA ont mentionné en remarque que les réponses chiffrées demandées nécessitaient trop de temps de préparation. De manière plus générale la qualité des réponses (exhaustivité et précision) décroît plus on avance dans le questionnaire. Ces constats signent le fait que le questionnaire était trop long (ou contenait trop de questions ouvertes).

2. À propos des questions du formulaire

A posteriori, une contradiction a été notée dans le présent questionnaire : deux objectifs difficilement conciliables dans une large enquête en ligne ont été menés de front, soit la volonté d'obtenir de nombreuses réponses, et parmi ces nombreuses réponses des réponses chiffrées (tableau 6).

TABLEAU 6 : Nombre et type de questions en fonction du profil du LDA

	Recherches « avortement bovin » (Question 2 : Oui/Non)	Recherche du <i>BoHV-4</i> (Question 15 : Oui/Non)	Formulaire en ligne			
			Nombre de questions	Dont fermées ¹⁷	Dont ouvertes ¹⁸	Dont chiffrées ¹⁹
LDA 'X'	Non	Non	6	4	2	0
LDA 'Y'	Oui	Non	19	7	12	6
LDA 'Z'	Oui	Oui	27	10	17	7

D'après le tableau 6, on note la prédominance des questions ouvertes pour les questionnaires visant les LDA réalisant des recherches « avortement bovin ». Certaines de ces questions amenaient une réponse chiffrée, cette exigence de précision ne correspond pas parfaitement à l'utilisation d'un formulaire en ligne, le sondé peut se retrouver démuni, seul devant son écran d'ordinateur (pour tenter de pallier à cela, les coordonnées du sondeur ont été mentionnées en début et fin de questionnaire). A posteriori, il aurait été judicieux d'inclure plus de questions intermédiaires fermées (par exemple entre Q6 et Q7 : Dans la recherche étiologique en cas de série d'avortements bovins, suivez-vous un protocole prédéfini ? O/N ou Avez-vous connaissance des travaux de l'UMT « Maitrise de santé des troupeaux bovins » relatifs à l'harmonisation des démarches de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements bovins ? O/N ou Vous êtes-vous inspiré des travaux de l'UMT pour revoir votre protocole de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements bovins ? O/N). Sur la forme encore, des critères d'exclusion de certaines réponses auraient dû être ajoutés au questionnaire pour rendre le traitement des réponses plus facile (par exemple, pour une

¹⁷ Question fermée : question pour laquelle des réponses prédéfinies sont à cocher (peuvent être parfois complétées par une réponse « Autre »)

¹⁸ Question ouverte : question pour laquelle le LDA sondé doit formuler lui-même sa réponse

¹⁹ Question chiffrée : question pour laquelle le LDA sondé doit renseigner un/des chiffre(s) précis qu'il aura préalablement collecté(s).

question à choix multiples tels Q8 ou Q11 (annexe 5), si la réponse « *Aucune* » est cochée, alors aucune autre réponse ne peut être simultanément cochée). Ce détail a participé à l'exclusion de réponses d'un formulaire. Malgré l'accueil mitigé qu'a reçu la question relative au coût des analyses *BoHV-4* (« *non réponse* », « *confidentiel* » ou question jugée « *mal venue* »), sa présence dans le formulaire en ligne reste justifiée, même si elle traite un sujet délicat en France. Enfin la légitimité des LDA à certaines questions a été ponctuellement mise en doute : par exemple, pour quatre LDA la description des « plans avortement cheptel » revenait aux GDS locaux (de tels protocoles, s'ils existent, ont été définis par le GDS local) même si finalement, les questions Q7 à Q13 ont offert aux LDA l'opportunité de décrire leur « forfaits (ou packs) avortements laboratoires », dont l'existence n'avait pas été prise en compte dans la réalisation du questionnaire. De même, trois LDA nous ont invité à consulter le GDS ou la chambre d'agriculture locale pour la question relative au nombre de bovins sur leur territoire d'influence. Il aurait été possible mais dangereux de questionner séparément et parallèlement plusieurs organismes, comme le GDS, la chambre d'agriculture ou encore la DDCSPP. Nous aurions pris le risque de s'exposer potentiellement à une disparité plus élevée des réponses : obtenir les réponses d'un GDS local sans celle du LDA correspondant ou inversement, obtenir des réponses différentes pour des questions équivalentes etc.

Sur le fond, la présente enquête était orientée vers un « *mode de fonctionnement unique* » dans la recherche étiologique des avortements bovins : le « plan avortement cheptel », et n'intégrait pas dans ses questions l'existence d'autres protocoles standardisés ou leur absence localement. Elle n'a donc pas permis de récolter des données relatives à ces prises de décision à l'échelle locale (pourquoi ne pas ou ne plus suivre de tels protocoles standardisés ? depuis combien de temps suivez-vous ou ne suivez-vous plus de tels protocoles ? ont-ils évolué dans le temps ?), ces données intéressantes nous semblaient éloignées notre objectif initial qui était de récolter des données relatives au *BoHV-4*. Un LDA a reproché le fait que « le *sens clinique du vétérinaire* » praticien n'a pas été abordé dans le questionnaire. Cependant notre cible était les LDA. Ces derniers, en pratique, font face au manque de commémoratifs associés aux prélèvements d'avortement, somme des données épidémiologiques et cliniques récoltées par le vétérinaire praticien (REMY D, 2012), il aurait donc été hasardeux d'évoquer le sens clinique du vétérinaire dans une enquête en ligne, qui ne prétendait pas fournir des données d'ordre épidémiologiques sur le *BoHV-4*. Enfin, deux questions maladroitement formulées, ont naturellement mis en difficulté les LDA : (i) l'absence de définition de la catégorie de bovin intéressée par Q4 nous a contraints à fournir un travail supplémentaire compilant les résultats du recensement agricole de 2010, ce travail n'était pas initialement envisagé. (ii) Pour la question Q6, la définition du « *taux d'élucidation* » des avortements bovins est floue. Il aurait été certes plus clair de manipuler les termes de diagnostic d'exclusion, de présomption et de certitude dans le cadre de recherches étiologiques d'avortement bovin, mais encore faut-il supposer l'existence de grilles d'interprétation standardisée pour chaque analyse dans les LDA.

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

C. Résultats de l'enquête

1. Présentation des résultats

Dans un souci de confidentialité de certaines données communiquées par les LDA, nous sommes restés neutres dans la présentation des réponses en n'associant pas une réponse à un département en particulier, seules les cartes de France colorées font entorse (figures 12, 13, 14, 15 et 23). L'intégralité des questions, hormis Q10, ont fait l'objet de réponses, ce constat très satisfaisant est imputable à la forte proportion de questions « obligatoires » dans le formulaire en ligne, ainsi qu'à l'implication des sondés.

L'adaptabilité des questionnaires en fonction du profil d'activité du LDA a compliqué le traitement des réponses, contrepartie d'une meilleure expérience pour le sondé.

Pour le traitement statistique des réponses aux questions Q5 et Q7, ont été utilisées la médiane et l'écart interquartile pour mesurer la dispersion statistique des données autour de la médiane (le nombre d'avortements déclarés localement, ou le nombre de « plans avortement cheptel » ou « forfaits avortement laboratoires » suivis localement dépendent, entre autres, de la motivation des prescripteurs et des éleveurs et ces variables pourraient ne pas suivre de loi normale).

2. À propos de la qualité des réponses obtenues

Une grande hétérogénéité des réponses au formulaire a pu être observée. Les questions Q9 et Q12 notamment ont amené des réponses dont la réelle valeur informative est à tempérer. Il convient cependant de souligner le fait que certains LDA se sont parfaitement pliés à l'exercice, rendant le traitement de leurs réponses aisé. Plusieurs LDA ont demandé en fin de questionnaire à être informés de la publication de la synthèse de l'enquête : « *J'espère que vous nous communiquerez la synthèse de l'enquête car on manque de données !* », témoignant par la même occasion de l'enthousiasme des LDA face à cette enquête, « *l'importance du BoHV-4 dans la pathologie abortive étant encore mal connue, nous envisageons un étude sur ce sujet avec le GDS local, à l'instar des publications d'autres départements français (Manche par exemple)* » et des perspectives encourageantes pour la recherche du BoHV-4 en France.

II. Mise en perspective des résultats de l'enquête

Sous l'impulsion de l'UMT « Maîtrise de santé des troupeaux bovins », les recherches étiologiques en cas d'avortements bovins tendent à se standardiser à l'échelle locale (GUATTEO *et al.*, 2011). Ces protocoles de recherche permettent entre autres de proposer au vétérinaire praticien ainsi qu'aux éleveurs de nouvelles pistes d'investigations. Le *BoHV-4*, quant à lui, est l'objet de publications récentes étrangères (BILGE DAGALP *et al.*, 2012) mais aussi françaises (CHASTANT-MAILLARD, 2012 ; LEBOEUF, 2013), elles soulignent son rôle dans les troubles de la reproduction bovine, notamment les métrites (WELCHMAN *et al.*, 2012) et l'avortement (DELOOZ *et al.*, 2012b). Ainsi, c'est dans ce contexte particulier que la présente enquête s'est intéressée, plus spécifiquement, à la place du *BoHV-4* dans les protocoles de recherche étiologiques des avortements bovins en France.

A. Les recherches « avortement bovin » dans l'enquête, confrontation des résultats avec ceux de l'enquête ACERSA-GDS France 2010

L'ACERSA et le GDS France ont publié en Septembre 2010 le « traitement de l'enquête sur les actions départementales ou régionales de diagnostic différentiel des avortements chez les ruminants ». [Pour revue des résultats, consulter (TOURATIER *et al.*, 2012)]

Cette vaste étude a intéressé les GDS et GTV locaux et rassemble 75 départements français (seuls les départements métropolitains étaient visés) tandis que la participation à la présente enquête, intéressant les LDA, est de 50 départements (dont un d'Outre-mer). Cependant, plusieurs de leurs résultats concordent avec ceux obtenus dans le présent travail, malgré une différence de population sondée et trois ans d'intervalle :

1. Taux de déclaration des avortements bovins

Il est admis qu'en moyenne, entre 2 à 4 % des vaches présentes dans un département avortent (REMY *et al.*, 2012b). Dans cette enquête, le taux de déclaration médian des avortements bovins est faible : 0,86 %, à l'image de celui révélé par l'étude ACERSA-GDS France : 0,79 %. Leur enquête a révélé une forte variabilité de ce taux entre les départements, entre 0,18 % et 2,49 %. Le même constat est tiré de la présente enquête puisque qu'un écart interquartile de 0,61 % a été calculé. Les départements à dominante laitière ont un taux de déclaration des avortements bovins plus élevé que ceux à dominante allaitante dans la présente enquête (respectivement 1,12 % et 0,56 %), ce qui ne semble pas surprenant, le secteur laitier étant plus enclin à investiguer en profondeur les problèmes de reproduction. Un effort de communication auprès des éleveurs est encore nécessaire pour augmenter ce taux de déclaration, de la part des vétérinaires praticiens lors de la visite sanitaire annuelle d'élevage et de la part du GDS via des plans d'aide au diagnostic (LE DREAN, 2008).

2. Taux d'élucidation des avortements bovins

Un département sur dix estime que le pourcentage de diagnostics réellement posés est supérieur à 40 % dans l'étude de 2010, un résultat similaire a été exposé dans la présente enquête où 20 départements, suivant des actions standardisées de recherche étiologique des avortements bovins, estiment leur taux d'élucidation en cas d'avortements bovins en série à 39 % en moyenne. Ces résultats montrent la difficulté du diagnostic étiologique des avortements bovins, même lorsqu'un protocole standardisé est mis en place localement. Cette étude ne saurait discuter de l'évolution de ce taux d'élucidation après la mise en place de tels protocoles, ce taux dépend également de la qualité du prélèvement en amont, et de l'interprétation des résultats en aval (LE DREAN, 2008).

3. Actions standardisées de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements bovins

a. Nombre de départements

Dans l'étude ACERSA-GDS France de 2010, 29 % des départements intéressés ont déclaré ne pas suivre d'action standardisée de diagnostic différentiel des avortements bovins, et près de 20 % des départements dans la présente enquête de 2013. Cependant, nous avons compilé les données relatives au « plan avortements cheptel » et aux « forfaits avortement laboratoires ». La présente enquête ne saurait objectivement témoigner d'une évolution en termes de nombre de départements suivant de telles actions. Dans la présente enquête, le taux médian d'exploitations bovines déclenchant des actions standardisées de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements est de 5,4 % avec une très forte variabilité entre les départements sondés (l'espace interquartile est très dispersé : 11,6 %). Seulement, le déclenchement de telles actions dépend très fortement des motivations (et de la sensibilisation) du prescripteur, de l'éleveur et des autres acteurs de la santé animale (GTV, GDS, LDA) ainsi que, de manière prosaïque, aux financements disponibles pour de telles actions. De plus, les conditions de déclenchement de telles actions doivent être comparables entre les départements sondés pour rendre ce résultat pertinent, or l'enquête de 2010 révèle que les actions de diagnostic différentiel peuvent être déclenchées à partir d'un avortement isolé ou d'une série d'avortement selon les départements.

b. La variabilité de ces actions

Pour les départements conduisant de telles actions standardisées, les deux études se rejoignent sur le fait qu'il existe une grande variabilité des protocoles techniques existants en termes de maladies recherchées et des techniques d'analyse. Ainsi 28 protocoles différents ont été décrits pour 35 départements selon l'étude de l'ACERSA GDS France. Dans la présente enquête, une grande variabilité des actions standardisées de diagnostic différentiel a été observée puisque sur 31 actions décrites en première intention, 25 sont différentes ; sur 27 actions décrites en seconde intention, 26 sont différentes. Aucune action décrite dans cette étude n'est similaire en première et seconde intention simultanément. La présente enquête recense un nombre plus important d'agents pathogènes recherchés en première et seconde

intention que dans l'enquête ACERSA-GDS France, respectivement 17 agents versus 16 en première intention (figure 14 et 10), 23 agents versus 13 en seconde intention (figure 16 et 11). Cela pourrait tenir au fait que, dans cette étude, les LDA ait été enclin à décrire tous les agents possiblement recherchés en première ou seconde intention, contrairement au GDS qui ont défini des protocoles étiologiques « minimaux ». Lors du traitement des réponses à Q9 et Q12 (figures 15 et 17), une autre ambiguïté nous est apparue, inhérente, elle, au contexte « terrain ». Les techniques de laboratoire énoncées par certains LDA sont celles possiblement réalisables et non préférentiellement réalisables (malgré la mention « *de choix* » dans les questions). En effet, le choix de la technique de laboratoire est dicté par le prescripteur, le prélèvement disponible, le panel d'outil diagnostic proposé localement par le LDA mais aussi par la motivation financière de l'éleveur (ou de ceux qui le finance). Décrire la technique de laboratoire de choix, revenait à demander pour chaque analyse le prélèvement biologique associé. Cependant, la prise de sang est un acte « normalisé » en pratique sur une vache avortée (ou à problème de reproduction) et lorsqu'en question Q9 et Q12 les LDA répondent qu'à plus de 25 %, la sérologie est exclusivement choisie pour le diagnostic des 4 premiers agents les plus recherchés en première intention, nos résultats rejoignent ceux de l'étude de 2010 qui a soulevé l'existence en pratique d'un diagnostic souvent fondé sur la sérologie du ou des animaux avorté(s), le plus souvent ininterprétable.

c. Recherches étiologiques en première intention et le BoHV-4

Les quatre agents pathogènes les plus recherchés en première intention en cas de série d'avortements bovins sont les mêmes dans les deux études : *Coxiella burnetii*, *Neospora caninum*, le virus BVDV et *Chlamydia sp* (consulter conjointement les figures 16 et 10). Suivant les recommandations de l'UMT « Maîtrise de santé des troupeaux bovins », le « *pack national de première intention* » comporte Fièvre Q, Néosporose et BVD, et dans certains cas Listériose et Salmonellose (GUATTEO *et al.*, 2011). Ces maladies représentent respectivement le trio de tête et les 5^{ème} et 7^{ème} agents les plus recherchés dans la présente enquête (figure 16).

Contrairement à l'enquête ACERSA-GDS France, le BoHV-4 intègre ici les agents recherchés en première intention dans 2 départements, soit un LDA. Il convient cependant d'être prudent quant à l'analyse d'un phénomène aussi ponctuel, il semblerait que l'analyse BoHV-4 en première intention tiennent principalement à des convictions ou initiatives personnelles. En effet, les résultats exposés en figure 16 témoignent de la priorité donnée, dans les départements concernés, à la recherche de trois « types » d'agents abortifs en première intention : les agents représentant un risque zoonotique indépendamment de leur réelle prévalence chez les bovins tels *C.burnetii*, *Chlamydia sp.*, *L.monocytogenes* ou *Salmonella sp.* (REMY et RICHARD, 2013), ceux fréquemment impliqués dans les troubles de la santé animale comme *N.caninum*, le pestivirus BVD et enfin des agents « émergents » i.e. dont la recherche en cas d'avortements est récente : *A.phagocytophilum* ou *L.hardjo/pomona*. Le BoHV-4, quant à lui, ne semble pas présenter de risque zoonotique (MACHIELS *et al.*, 2007), sa réelle prévalence en France est inconnue et son rôle abortif propre est encore matière à discussion (THIRY, 2007), même si une récente étude dans la Manche n'a isolé concomitamment, dans 84 % d'échantillons issus d'avortements PCR-BoHV-4 +, aucun autre agent pathogène (LEBOEUF, 2013).

Concernant les méthodes de laboratoire utilisées pour les recherches en première intention, il paraît hasardeux de vouloir exploiter la figure 17. En effet, distinction n'a pas été

faite entre les méthodes de laboratoire utilisées préférentiellement sur l'avortée et celles utilisées sur les autres vaches de l'élevage, élues sur la base de troubles de reproduction et prélevées simultanément. Les grilles d'interprétation des résultats (JOLY et LEPELIER, 2007) nous renseignent, de manière stéréotypée, des conditions d'un diagnostic de certitude (positif ou négatif), mais ces résultats doivent être croisés avec le contexte épidémiologique de l'élevage analysé (REMY *et al.*, 2012b). Dans cette étude, la recherche du *BoHV-4* se réalise par examen direct en première intention. L'examen direct sied à la datation de l'infection au *BoHV-4* (PCR), information que ne peut renseigner l'examen indirect, sauf si une séroconversion est réalisée (Ifi) (TREILLES *et al.*, 2013). En l'absence des commémoratifs sur l'animal prélevé dans cette étude, on ne peut qu'avancer que cet examen direct doit être privilégié sur l'avortée (GUATTEO *et al.*, 2011) ou l'avorton.

d. Recherches étiologiques en seconde intention et le *BoHV-4*

Lors d'investigation en seconde intention, les recherches étiologiques deviennent moins « systématiques ». Les analyses en seconde intention s'adaptent, encore plus, à la situation épidémiologique locale, le contexte d'élevage, la conviction du vétérinaire praticien ou du LDA et la motivation de l'éleveur. Ainsi, le nombre de départements concernés par des actions standardisées de recherches étiologiques en seconde intention (38 départements) est plus faible que celui présenté pour les recherches en première intention (44 départements), et le spectre d'agents pathogènes recherchés en seconde intention (23 agents) est plus large que celui en première intention (17 agents) dans la présente enquête. On notera une divergence plus marquée des résultats entre les deux études concernant les agents pathogènes recherchés en seconde intention, l'émergence de l'arbovirose Schmallenberg en 2012 en France est une explication.

Le *BoHV-4* tient la place de 6^{ème} agent pathogène (*ex-aquo* avec *Toxoplasma gondii* et *Anaplasma phagocytophilum*) le plus recherché en seconde intention dans la présente enquête, dans 23 départements (figure 18). Dans l'enquête ACERSA-GDS France, le *BoHV-4* est le 8^{ème} agent le plus recherché en seconde intention, dans 4 départements (figure 11). Les 6 agents abortifs « occasionnels » de priorité II définis par l'UMT (GUATTEO *et al.*, 2011), parmi lesquels 4 agents zoonotiques (REMY et RICHARD, 2013) et le *BoHV-4*, font partie des 7 premiers agents les plus recherchés en seconde intention dans cette étude (figure 18), la première place étant occupée par le virus Schmallenberg. Une fois de plus, les divergences observées entre les deux études tiennent au fait que, dans cette enquête, les LDA n'ont pas tous décrit un protocole *a minima* mais ont mentionné les agents pathogènes pouvant faire l'objet de recherche en première ou seconde intention, contrairement à l'étude ACERSA-GDS France. On peut cependant avancer, grâce à cette enquête, l'importance de l'analyse *BoHV-4* en seconde intention en 2013.

Nous nous garderons de commentaires relatifs aux méthodes de laboratoires utilisées par agent pathogène en seconde intention (figure 19), les commémoratifs par type de prélèvement faisant défaut.

B. Les acteurs départementaux sont-ils sensibilisés à la recherche du *BoHV-4* ?

Les laboratoires ne réalisant pas d'analyse « avortement bovin » peuvent agir dans les domaines de l'hygiène alimentaire (via l'épidémiologie et le diagnostic de maladies humaines transmissibles par les aliments) et potentiellement dans le domaine de la biologie vétérinaire en filière industrielle (porc, volailles etc.), des animaux de compagnie, et de la faune sauvage. Au près des trois LDA ne réalisant pas de recherche « avortement bovin » et ayant répondu à l'enquête, le *BoHV-4* est un virus méconnu ou d'intérêt nul. Cet état de fait peut être justifié par l'absence d'infection humaine rapportée au *BoHV-4* (MACHIELS *et al.*, 2007), et par l'efficacité des traitements des produits bovins (lait ou sérum) destinés à la consommation humaine qui abolissent le caractère infectieux du *BoHV-4* (BONA *et al.*, 2005). Cependant, il faut garder à l'esprit que le *BoHV-4* possède un large spectre d'hôtes naturels, parmi lesquels les ovins, les caprins et la faune sauvage (KALMAN et EGYED, 2006), mais aussi le chat domestique chez qui il semble prévalent (KRUGER *et al.*, 2000) et impliqué dans des affections du bas appareil urinaire (KRUGER *et al.*, 1991). Communiquer sur le *BoHV-4* hors de la sphère bovine ne semble donc pas dénué d'intérêt.

Dans cette enquête, 16 départements recherchent le *BoHV-4* en leur sein (15 ont répondu au formulaire en ligne correspondant à 9 LDA), ce qui « offre » localement à 17 % du cheptel adulte bovin français l'opportunité de cette analyse. La place de cette recherche a été évaluée dans le cadre des actions de diagnostic différentiel en cas de série d'avortements, et cette enquête révèle que dans 2 départements le *BoHV-4* peut être recherché en première intention, dans 23 départements en seconde intention. Ce résultat est surprenant, tant les publications françaises à son sujet sont rares : un cas clinique rapporté (QUENTIN *et al.*, 2013), et deux études épidémiologiques locales publiées dans la Manche (LEBOEUF, 2009 ; LEBOEUF, 2013). L'importance de l'analyse du *BoHV-4* en seconde intention est cohérente avec le classement du virus par l'UMT (GUATTEO *et al.*, 2011) comme agent abortif occasionnel de même priorité que *Salmonella sp.* ou *Listeria monocytogenes* par exemple, seulement ces derniers agents jouissent en France d'une meilleure communication (car d'expression clinique plus flagrante, d'impact économique mieux évalué ou de risque zoonotique établi). Même si cette enquête a révélé que cette recherche est globalement récente (85 % des départements conduisent l'analyse *BoHV-4* en leur sein depuis moins de 5 ans), deux LDA ont confié le rechercher depuis plus de 10 ans, probablement suite aux premières publications relatives au *BoHV-4* en France (THIRY *et al.*, 1988) ou en Belgique en cas d'avortement bovin (CZAPLICKI et THIRY, 1998).

On peut avancer que l'établissement à l'échelle locale de protocoles de recherches standardisées en cas d'avortement bovin concourt à la sensibilisation des acteurs de la santé animale à de « nouveaux » pathogènes dont le *BoHV-4*. Dans cette enquête, il ressort que les vétérinaires praticiens (via les GTV) et les GDS locaux, à l'origine de tels protocoles, sont les moteurs non seulement de la sensibilisation face à ce virus mais aussi du développement local des analyses *BoHV-4*. En effet, respectivement 78 % et 70 % des départements ne réalisant pas d'analyses *BoHV-4* attribuent cela à l'absence de demande des vétérinaires praticiens ou des GDS locaux, et les départements réalisant des analyses *BoHV-4* en leur sein déclarent que, dans l'ordre décroissant, les GDS puis les vétérinaires praticiens puis les LDA sont à l'initiative de telles analyses. Le concours des LDA à la sensibilisation des vétérinaires et

éleveurs est souligné par le fait que, parmi les départements réalisant des recherches « avortement bovin » mais pas d'analyse *BoHV-4*, 50 % déclarent recevoir « *rarement* » des demandes isolées de recherche du *BoHV-4* de la part des vétérinaires praticiens, tandis que pour les départements réalisant des recherches *BoHV-4* en leur sein, 53 % déclarent recevoir « *fréquemment* » ce type de demande. Ces données suggèrent l'interdépendance des différents maillons vétérinaires pour la recherche d'agents pathogènes, ici le *BoHV-4*.

Les outils diagnostics utilisés pour détecter le *BoHV-4* ont été renseignés dans cette enquête. Pour les méthodes directes la PCR prédomine sur l'isolement viral : ce dernier est techniquement difficile (TREILLES *et al.*, 2013) et la PCR profite, quant à elle, d'avancées technologiques récentes, entre autres de la part du laboratoire français Adiaгене® (LEBOEUF, 2013). Pour les méthodes indirectes, l'ELISA et l'IFi ont été citées, la première méthode sérologique est applicable sur une large population à partir de lait ou de sang, mais isolée elle ne représente que peu d'intérêt diagnostic, tandis que la seconde, plus pertinente car quantitative, permet de détecter les séroconversions. Il ressort de cette étude que les LDA possèdent les « *compétences techniques* » pour développer localement de telles recherches, certains en sont même « *demandeurs* », mais ils restent tributaires de la demande locale en analyse, demande qui ne peut se développer sans campagne de sensibilisation auprès des vétérinaires et éleveurs.

Outre le manque de sensibilisation des acteurs de la santé animale sur le *BoHV-4*, l'enquête a révélé que sur le terrain, « *l'absence de solution thérapeutique spécifique* », notamment vaccinale, pénalisait la demande de cette analyse. Il convient de rappeler que le *BoHV-4* est le seul herpèsvirus bovin appartenant à la sous-famille gammaherpèsvirus et au genre *rhadinovirus*, le *BoHV-1*, herpèsvirus bovin reconnu comme abortif (complexe IBR-IPV) est un alphaherpèsvirus (McGEOCH *et al.*, 2005). De fait, il n'existe ni relation antigénique entre ces deux virus (BARTHA *et al.*, 1987), ni réaction sérologique croisée pouvant biaiser le diagnostic de ces deux maladies. La vaccination contre l'IBR n'a aucune efficacité contre l'infection au *BoHV-4* chez les bovins (THIRY, 2002). De plus, quatre départements ont déclaré avoir déjà testé puis abandonné cette analyse *BoHV-4*. Pourtant majoritairement financées par les GDS ou les collectivités territoriales, ces analyses, après un essai « *à titre expérimental* », ont été abandonnées soit faute de valeur diagnostic (rôle pathogène propre du *BoHV-4* discuté (THIRY, 2007)) soit faute d'actions consécutives à des résultats d'analyse positifs (absence de plan de traitement ou d'éradication). L'absence de thérapeutique médicale ne pourrait constituer un frein au développement des analyses *BoHV-4*, puisque pour d'autres maladies abortives comme la Néosporose, recherchée plus largement que le *BoHV-4*, seules des mesures de prophylaxie sanitaire peuvent également être appliquées. D'ailleurs, dans le cadre de la prophylaxie, la recherche sérologique du *BoHV-4* lors de « *contrôle d'achat* », menée dans un département, se justifie.

La métrite puerpérale aigüe est la seule entité clinique où l'implication du virus est clairement établie (DONOFRIO *et al.*, 2010) mais pourtant, aucun LDA sondé ne considère le virus comme agent uniquement responsable de métrite. La métrite compte parmi les troubles de la reproduction bovine et peut ainsi être investiguée à l'occasion des protocoles « avortement bovin » (parmi les vaches analysées avec l'avortée). Ainsi, la recherche du *BoHV-4* se réalise dans cette enquête, certes en cas d'avortement bovin mais plus généralement en cas de troubles de la reproduction bovine (figure 25). Les réponses prudentes des LDA quant au rôle pathogène attribuable au *BoHV-4* témoignent de leurs connaissances actualisées sur ce virus, le situant plus comme agent pathogène secondaire (DONOFRIO *et al.*, 2005a). Cependant, la « *conviction terrain* » du rôle pathogène abortif du *BoHV-4* est bien

présente, puisque seuls 4 LDA parmi les 23 réalisant des recherches « avortement bovin » déclarent ne pas considérer ce virus comme agent pathogène éventuellement abortif.

Il ressort de cette étude que la recherche du *BoHV-4* en France semble bridée par des contraintes économiques plus que techniques auprès des LDA, et pénalisée par l'absence de sensibilisation du monde de l'élevage bovin par les vétérinaires ou GDS locaux. En effet, son impact économique ne semble pas préoccupant et son potentiel zoonotique nul. Cependant, à en juger par la sous-traitance des analyses (23 départements déclarent rechercher le *BoHV-4* en seconde intention mais seuls 15 départements détiennent les outils diagnostiques), par l'enthousiasme des LDA à répondre à l'enquête et notamment par le fait que, dans la présente enquête, 26 % des départements ne réalisant pas cette analyse comptent s'équiper dans un « *avenir proche* », de belles perspectives s'offrent à la recherche du *BoHV-4* en France.

CONCLUSION

À l'heure actuelle, le gammaherpèsvirus genre *rhadinovirus* *BoHV-4* est présent dans le monde entier chez un spectre d'hôtes naturels large, sa distribution dans le cheptel bovin est importante. Le *BoHV-4* semble engendrer préférentiellement chez les bovins domestiques des troubles de la reproduction au rang desquelles métrites, infertilité ou avortement. Plus particulièrement, son implication dans les avortements bovins reste à l'étude malgré des évidences épidémiologiques et expérimentales dans plusieurs pays. Malgré cet état de fait, ce virus a été l'objet de peu d'études en France et aucune mesure prophylactique, plan de traitement ou d'éradication n'a été émis officiellement par les autorités sanitaires françaises. Si son propre rôle pathogène semble limité, il semblerait qu'en tant que pathogène « secondaire », il exacerbe les conséquences cliniques (utérines, vaginales ou mammaires) d'infections bactériennes. Le *BoHV-4* est en outre servi par le fait qu'il présente un intérêt exceptionnel en biologie fondamentale.

L'étiologie des avortements est rarement élucidée en France, et ce en partie du fait de la méconnaissance ou du manque d'intérêt porté à certains agents pathogènes, au rang desquels le *BoHV-4*. L'enquête en ligne, menée auprès des LDA et intéressant la conduite des recherches « avortement bovin » et la place du *BoHV-4* dans ce cadre est inédite en France. Elle a permis d'estimer le nombre de départements (16), disposant d'outils de diagnostic pour le rechercher en routine (par méthode directe, préférentiellement la PCR), et d'apprécier l'historique de cette recherche en France, majoritairement récente et initiée par les vétérinaires praticiens (GTV) et GDS locaux. Cette recherche est non seulement motivée dans cette enquête par des avortements bovins mais également par des troubles de la reproduction bovine. Dans les actions de diagnostic différentiel des avortements bovins, le *BoHV-4* n'est recherché que dans 2 départements en première intention mais tient la place de 6^{ème} agent pathogène « abortif » le plus recherché en seconde intention. En accord avec la bibliographie, les LDA restent prudents quant à l'interprétation des résultats. Cette étude témoigne de l'intérêt et des interrogations légitimes qu'ont les professionnels de la santé animale face à ce virus. De belles perspectives s'offrent à sa recherche en France auprès des LDA, parallèlement au regain d'intérêt que semble susciter ce virus en France, pourtant connu depuis 50 ans.

Cette étude pourrait être un préliminaire à une étude épidémiologique visant le *BoHV-4*, pour améliorer, en partenariat avec les acteurs vétérinaires de terrain, la connaissance globale de ce virus et étudier son rôle pathogène abortif dans un contexte multifactoriel.

BIBLIOGRAPHIE

ACKERMANN M (2006). Pathogenesis of gammaherpesvirus infections. *Veterinary Microbiology*, **113**, 211-222

ALI H, KEEFE GP, CEPICA A (2011). Bovine Herpesvirus-4, a potential cause of mastitis in Canadian dairy cows. *British Journal of Dairy Sciences*, **2**, 31-34

ANSON MA, BENFIELD DA, McADARAGH JP (1982). Bovine herpesvirus-5 (DN599) antigens in cells derived from bovine ocular squamous cell carcinoma. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1982, **46**, 334-337

ASANO A, INOSHIMA Y, MURAKAMI K, IKETANI Y, YAMAMOTO Y, SENTSUI H (2003). Latency and persistence of bovine herpesvirus type 4, strain B11-41, in bovine nervous tissues. *J. Vet. Med. Sci.*, **65**, 87-93

BANKS M, IBATA G, MURPHY AM, FROSSARD JP, CRAWSHAW TR, TWOMEY DF (2008). Bovine lymphotropic herpesvirus and non-responsive post-partum metritis in dairy herds in the UK. *The Veterinary Journal.*, **176**, 248-250

BARTHA A, FADOL AM, LIEBERMANN H, LUDWIG H, MOHANTY SB, OSORIO FA *et al.* (1987). Problems concerning the taxonomy of the 'Movar-Type' bovine herpesviruses. *Intervirology.*, **28**, 1-7

BARTHA A, JUHASZ M, LIEBERMANN H (1966). Isolation of a bovine herpesvirus from calves with respiratory disease and keratoconjunctivitis. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, **16**, 357-358

BILGE DAGALP S, ALKAN F, CALISKAN E, YILDIRIM Y, OGUZOGLU TC, CANSAHNA K *et al.* (2012). The investigation of the herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) on the occurrence of the reproductive disorders in dairy cattle herds, Turkey. *Revue Méd. Vét.*, **163**, 206-211

BILGE DAGALP S, DEMIR AB, GUNGOR E, ALKAN F (2007). The seroprevalence of Bovine Herpes Virus Type 4 (BHV4) infection in dairy herds in Turkey and possible interaction with reproductive disorders. *Revue Méd. Vét.*, **158**, 201-205

BILGE DAGALP S, GUNGOR E, DEMIR AB, PINAR-MUZ D, YILMAZ V, OGUZOGLU TC *et al.* (2010). The investigation of the presence of bovine herpesvirus type 4 (BoHV-4) in cows with metritis in a dairy herd. *Ankara Univ Vet Fak Derg.*, **57**, 87-91

BOERNER B, WEIGELT W, BUHK HJ, CASTRUCCI G, LUDWIG H (1999). A sensitive and specific PCR/Southern blot assay for detection of bovine herpesvirus 4 in calves infected experimentally. *J. Virol. Methods.*, **83**, 169-180

BONA C, DEWALS B, WIGGERS L, COUDLJZER K, VANDERPLASSCHEN A, GILLET L (2005). Pasteurization of milk abolishes bovine herpesvirus 4 infectivity. *J. dairy Sci.*, **88**, 3079-3083

BORCHERS K, BRACKMANN J, WOLF O, RUDOLPH M, GLATZEL P, KRASINSKA M *et al.* (2002). Virologic investigations of free-living european bison (*Bison bonasus*) from the Bialowieza Primeval Forest, Poland. *Journal of Wildlife Diseases*, **38**, 533-538

- BRONNER A, FEDIAEVSKY A, ROUSSET E, TOIURATIER A, De CREMOUX R, LARS F (2011). La surveillance de la brucellose et de la fièvre Q au travers de la surveillance des avortements. *In* : Recueil de conférences des Journées Nationales des GTV. Nantes, 11-13 Mai 2011, Nantes, SnGTV, 207-213
- BRONNER A, GAY E, VERGNE T, HENDRIKX P, CALAVAS D (2012). Analyse du dispositif de déclaration obligatoire des avortements bovins en France sur la campagne 2010-2011 à partir des méthodes de capture-recapture unilistes. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, **61**, 79-94
- BRONNER A, GUERRIER-CHATELLET MC, LANGUILLE J, PETIT E, DUQUESNE V, DUBOIS E (2010). La lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) en France : un dispositif original. Présentation, bilan et perspectives. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, **41**, 12-15
- BUBLLOT M, DUBUISSON J, VAN BRESSEM MF, DANYI S, PASTORET PP, THIRY E (1991). Antigenic and genomic identity between simian herpesvirus aotus type 2 and bovine herpesvirus type 4. *J. Gen. Virol.*, **72**, 715-719
- BUBLLOT M, LOMONTE P, LEQUARRE AS, ALBRECHT JC, NICHOLAS J, FLECKENSTEIN B *et al.* (1992). Genetic relationships between herpesvirus 4 and the gammaherpesviruses espstein-Barr virus and herpesvirus saimiri. *Virology*, **190**, 654-665
- BUBLLOT M, VAN BRESSEM MF, THIRY E, DUBUISSON J, PASTORET PP (1990). Bovine herpesvirus 4 genome : cloning, mapping and strain variation analysis. *Journal of General Virology*, **71**, 133-142
- CARPINSCHI V, TREILLES M, LEOEUF C, POURQUIER P (2009). Comparison of ELISA and IFF methods for the detection of BHV-4 antibodies in Bovine Serum. *Poster presented at the WAVLD meeting*, Madrid, 2009
- CASTRUCCI G, FRIGERI F, CILLI V, DENELLI G, FERRARI M, CHICCHINI U *et al.* (1986). A study of a herpesvirus isolated from dairy cattle with a history of reproductive disorders. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **9**, 13-21
- CASTRUCCI G, FRIGERI F, FERRARI M, ALDROVANDI V, DI LUCA D, GATTI R (1988). Comparative study of two strains of bovid herpesvirus-4. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **11**, 143-151
- CASTRUCCI G, FRIGERI F, FERRARI M, PEDINI B, ALDROVANDI V, CILLI V *et al.* (1987a). Reactivation in calves of latent infection by bovid herpesvirus-4. *Microbiologica*, **10**, 37-45
- CASTRUCCI G, FRIGERI F, FERRARI M, RANUCCI S, ALDROVANDI V, CILLI V *et al.* (1987b). Experimental infection of calves with strains of bovid herpesvirus-4. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **10**, 41-49
- CAVIRANI S, ALLEGRI G, FLAMMINI CF (1990). Isolation of bovid herpesvirus-4 (BHV-4) from cows with chronic ulcerative mammary dermatitis. *Estratto da Selezione Veterinaria*, **31**, 1251-1260

- CHASTANT-MAILLARD S (2012). BoHV-4 et reproduction chez les bovins. *Le Point Vétérinaire*, **323**, 66-69
- COSTA EA, VASCONCELOS AC, BOMFIM MRQ, AMORIM HB, LIMA GBL, COELHO FM *et al.* (2011). Neurological disorders in cattle associated with bovine herpesvirus 4. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **63**, 828-835
- CZAPLICKI G, THIRY E (1998). An association exists between bovine herpesvirus-4 seropositivity and abortion in cows. *Preventive Veterinary Medicine*, **33**, 235-240
- DAVISON AJ, EBERLE R, EHLERS B, HAYWARD GS, McGEOCH DJ, MINSON AC *et al.* (2009). The order Hesperivirales. *Archives of Virology*, **154**, 171-177
- DEIM Z, SZEREDI L, EGYED L (2007). Detection of Bovine herpesvirus 4 DNA in aborted bovine fetuses. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, **71**, 226-229
- DEIM Z, SZEREDI L, TOMPO V, EGYED L (2006). Detection of bovine herpesvirus 4 in aborted bovine placentas. *Microbiological Pathogenesis*, **41**, 144-148
- DELOOZ L (2011). Accompagnement sanitaire des avortements chez les bovins. *In* : Rapport annuel ARSIA, 2011, 51-56
- DELOOZ L (2012a). Accompagnement sanitaire des avortements chez les bovins. *In* : Rapport annuel ARSIA, 2012, 49-53
- DELOOZ L, CZAPLICKI G, HOUTAIN JY, MULLENDER C, SAEGERMAN C (2012b). Implication du BoHV-4 comme agent étiologique d'avortements chez les bovins. *In* : Symposium AESA, Liège, 30 Novembre 2012
- DEWALS B (2007). Contributions à l'étude de la relation évolutive entre deux herpesvirus d'artiodactyles africains : l'herpesvirus bovin 4 et l'herpesvirus alcélaphin 1. *Ann. Med. Vet.*, **151**, 31-34
- DEWALS B, THIRION M, MARKINE-GORIAYNOFF N, GILLET L, DE FAYS K, MINNER F *et al.* (2006). Evolution of bovine herpesvirus 4 : recombination and transmission between African buffalo and cattle. *Journal of General Virology*, **87**, 1509-1519
- DONOFRIO G, CAPOCEFALO A, FRANCESCHI V, PRICE S, CAVIRANI S, SHELDON IM (2010). The chemokine IL8 is up-regulated in bovine endometrial stromal cells by the BoHV-4 IE2 Gene Product, ORF50/Rta : a step ahead toward a mechanism for BoHV-4 induced endometritis. *Biology of Reproduction*, **83**, 919-928
- DONOFRIO G, CAVIRANI S, SIMONE T, VAN SANTEN VL (2002). Potential of bovine herpesvirus 4 as a gene delivery factor. *Journal of Virological Methods*, **101**, 49-61
- DONOFRIO G, CAVIRANI S, VAN SANTEN V, FLAMMINI CF (2005a). Potential secondary pathogenic role for bovine herpesvirus 4. *Journal of Clinical Microbiology*, **43**, 3421-3426
- DONOFRIO G, CAVIRANI S, VAN SANTEN VL (2000a). Establishment of a cell line persistently infected with bovine herpesvirus-4 by use of a recombinant virus. *Journal of Virology*, **81**, 1807-1814

- DONOFRIO G, COLLEONI S, GALLI C, LAZZARI G, CAVIRANI S, FLAMMINI CF (2005b). Susceptibility of bovine mesenchymal stem cells to bovine herpesvirus 4. *Journal of Veterinary Methods*, **127**, 168-170
- DONOFRIO G, FLAMMINI CF, SCATOZZA F, CAVIRANI S (2000b). Detection of Bovine Herpesvirus 4 (BoHV-4) DNA in the cell fraction of milk of dairy cattle with history of BoHV-4 infection. *Journal of Clinical Microbiology*, **38**, 4668-4671
- DONOFRIO G, GALLI C, LAZZARI G, VAN SANTEN VL, CAVIRANI S, FLAMMINI CF (2003). Interaction of a green recombinant bovine herpesvirus 4 with in vitro-produced bovine embryos. *Veterinary Research Communications*, **27**, 415-424
- DONOFRIO G, HERATH S, SARTORI C, CAVIRANI S, FLAMMINI CF, SHELDON IM (2007). Bovine herpesvirus 4 (BoHV-4) is tropic for bovine endometrial cells and modulates endocrine function. *Reproduction*, **134**, 183-197
- DONOFRIO G, RAVANETTI L, CAVIRANI S, HERATH S, CAPOCEFALO A, SHELDON IM (2008). Bacterial infection of endometrial stromal cells influences bovine herpesvirus 4 immediate early gene activation : a new insight into bacterial and viral interaction for uterine disease. *Reproduction*, **136**, 361-366
- DONOFRIO G, VAN SANTEN VL (2001). A bovine macrophage cell line supports bovine herpesvirus-4 persistent infection. *Journal of General Virology*, **82**, 1181-1185
- DROLET R, WERDIN R, GOYAL S (1986). The role of bovine herpesvirus type-4 (DN 599) infection in Minnesota cattle. *In : Proceeding of the annual meeting of American Association of veterinary laboratory diagnosticians*, **29**, 335-346
- DUBUISSON J, BOULANGER D, BUBLOT M, THIRY E, PASTORET PP (1989a). Proteins specified by bovine herpesvirus type 4 : structural proteins of the virion and identification of two major glycoproteins by using monoclonal antibodies. *J. gen. Virol.*, **70**, 1743-1753
- DUBUISSON J, THIRY E, BUBLOT M, THOMAS I, VAN BRESSEM MF, COIGNOUL F, PASTORET PP (1989b). Experimental infection of bulls with a genital isolate of bovine herpesvirus-4 and reactivation of latent virus with dexamethasone. *Vet. Microbiol.*, **21**, 97-114
- DUBUISSON J, THIRY E, THOMAS I, COIGNOUL F, BUBLOT M, VAN HEULE G *et al.* (1987). Infection expérimental de taureaux par injection intratesticulaire d'une souche de bovid herpesvirus 4 issue d'un cas d'orchite. *Annales de Médecine Vétérinaire*, **131**, 37-48
- EDWARDS S, NEWMAN RH (1985). Detection of antibodies to bovid herpesvirus 4 by ELISA. *Vet. Microbiol.*, **10**, 149-154
- EGELHOF S, BARTHA A, MAGYAR G (1991). The existence of bovine herpesvirus 4 (BHV-4) in lions. *In : Proceedings of the XVI International Herpesvirus workshop. Pacific Groove, CA*, 245
- EGYED L, BALLAGI-PORDANY A, BARTHA A, BELAK S (1996). Studies of in vivo distribution of bovine herpesvirus type 4 in the natural host. *Journal of Clinical Microbiology*, **34**, 1091-1095

- EGYED L, BARTHA A (1998). PCR studies on the potential sites for latency of BHV-4 in calves. *Vet. Res. Commun.*, **22**, 209-216
- EGYED L, BASKA F (2003). Histological lesions in vascular tissues of bovine herpes virus type 4-infected rabbits. *Veterinary Microbiology*, **91**, 1-10
- EGYED L, BERENCSI G, BARTHA A (1999). Periodic reappearance of bovine herpesvirus type 4 DNA in the sera of naturally and experimentally infected rabbits and calves. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious diseases*, **22**, 199-206
- EGYED L, KLUGE JP, BARTHA A (1997). Histological studies of bovine herpesvirus type 4 infection in non-ruminant species. *Veterinary Microbiology*, **51**, 283-289
- EGYED L, SASSI G, TIBOLD J, MADL I, SZENCI O (2011). Symptomless intrauterine transmission of bovine herpesvirus 4 to bovine fetuses. *Microbiological Pathogenesis*, **50**, 322-325
- ELHASSAN AM, FADOL MA, EL-HUSSEIN AM (2011). Seroprevalence of bovine herpes virus-1, bovine herpes virus-4 and bovine viral diarrhoea virus in dairy cattle in Sudan. *Pak. Vet. J.*, **31**, 317-320
- ENGELS M, ACKERMANN M (1996). Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Veterinary Microbiology*, **53**, 3-15
- ESSMAIL M, BAKER D, COLLINS J, VANDEWOUDE S, SALMAN M, HEGAZY AA (1999). Dot Immunobinding assay for detection of bovine herpesvirus 4 antibodies in rabbits. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **11**, 237-239
- EUGSTER AK (1979). Isolation of bovine herpesvirus III from diarrheic feces. *Veterinary Microbiology*, **3**, 199-204
- EYANGA E, JETTEUR P, THIRY E, WELLEMANS G, DUBUISSON J, VAN OPDENBOSCH E *et al.* (1989). Recherche des anticorps dirigés contre les BHV-1, BHV-2, BHV-4, le virus BVD-MD, les adénovirus A et B, le rotavirus et le coronavirus bovins chez les bovins de l'Ouest du Zaïre : résultats complémentaires. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **42**, 155-161
- FABIAN K, EGYED L (2004). Detection of bovine gammaherpesviruses by a nested duplex PCR. *Journal of Virological Methods*, **115**, 93-98
- FABIAN K, MAKRAI L, SACHSE K, SZEREDI L, EGYED L (2008). An investigation of the aetiological role of bovine herpesvirus 4 in bovine endometritis. *The Veterinary Journal*, **177**, 289-292
- FICHTELOVA V, KOVARCIK K (2010). Characterization of two BHV-4 strains isolated in the Czech Republic. *Veterinarni Medicina*, **3**, 106-112
- FIGUEREDO GM (2009-2011). Serological survey of bovine infectious causes of reproductive disorders in Colombia. *PhD Animal Health*. Parme, 2009-2011
- FLAMMINI CF, CAVIRANI S, ALLEGRI G, ZANICHELLI L (1985). Isolamento di agenti virali in corso di glossite ulcerativa del bovino. *Atti Soc. Ital. Buiatria*, **17**, 597

- FRANCESCHI V (2009-2011). Bovine herpesvirus 4 immediate early gene is essential and can be duplicated. *PhD Biochemistry and Molecular biology*. Parme, 2009-2011
- FRANCESCHI V, CAPOCEFALO A, CALVO-PINILLA E, REDAELLI M, MUCIGNAT-CARETTA C, MERTENS P *et al.* (2011). Immunization of knock-out alpha/beta interferon receptor mice against lethal bluetongue infection with a BoHV-4-based vector expressing BTV-8 VP2 antigen. *Vaccine*, **29**, 3074-3082
- FRAZIER K, BALDWIN CA, PENCE M, WEST J, BERNARD J, LIGGETT A *et al.* (2002). Seroprevalence and comparison of isolates of endometriotropic Bovine Herpesvirus-4. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **14**, 457-462
- FRAZIER K, PENCE M, MAUEL MJ, LIGGETT A, HINES II ME, SANGSTER L *et al.* (2001). Endometritis in postparturient cattle associated with bovine herpesvirus-4 infection : 15 cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **13**, 502-508
- FRIDGUT O, STRAM Y (2006). Bovine Herpesvirus 4 in Israeli dairy cattle : isolation, PCR and serology. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, **61**, 56-59
- GALAIS-DUHAMEL C (2006). Les herpèsvirus bovins chez les ruminants. *Thèse Méd. Vét.*, Alfort, 2006
- GALIK PK, VAN SANTEN VL, STRINGFELLOW DA, BIRD RC, WRIGHT JC, SMITH PC (1992). Development of a DNA probe for identification of bovine herpesvirus 4. *Am. J. Vet. Res.*, **54**, 653-659
- GILLET L, MINNER F, DETRY B, FARNIR F, WILLEMS L, LAMBOT M *et al.* (2004). Investigation of the susceptibility of human cell lines to bovine herpesvirus 4 infection: demonstration that human cells can support a nonpermissive persistent infection which protects them against tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis. *Journal of Virology*, **78**, 2336-2347
- GRAHAM DA, McNEILL GJ, CALVERT V, MAWHINNEY K, CURRAN W, BALL NW, TODD D (2005). Virological and serological evidence of bovine herpesvirus 4 in cattle in Northern Ireland. *Journal of the British Veterinary Association*, **157**, 539-543
- GUATTEO R, NICOLLET P, LE DREAN E, VASSILOGLOU B, CHEVAL JL, TREILLES M *et al.* (2011). Les avortements infectieux chez les bovins, vers une démarche standardisée d'investigation. *Le Point Vétérinaire*, **42**, 66-71
- GUO WZ, SHEN DT, EVERMANN JF, GORHAM JR (1988). Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay and a complement fixation test for the detection of IgG to bovine herpesvirus type 4 (bovine cytomegalovirus). *Am. J. Vet. Res.*, **49**, 667-670
- GUR S, DOGAN N (2010). The possible role of bovine herpesvirus type-4 infection in cow infertility. *Animal Science Journal*, **81**, 304-308
- HOUSE JA, WILSON TM, EL NAKASHLY S, KARIM IA, ISMAIL I, EL DANAF N *et al.* (1990). The isolation of lumpy skin disease virus and bovine herpesvirus 4 from cattle in Egypt. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **2**, 111-115

- IZUMI Y, TSUDUKU S, MURAKAMI K, TSUBOI T, KONISHI M, HARITANI M *et al.* (2006). Characterization of Bovine Herpesvirus type 4 isolated from cattle with mastitis and subclinical infection by the virus among cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, **68**, 189-193
- JOLY A, LEPELIER I (2007). Mise en œuvre d'une démarche standardisée en cas d'avortements répétés. Proposition d'un protocole de prélèvements et d'une grille d'interprétation des résultats. *In: Journées Bovines Nantaises*. Nantes, 2007
- KALE M, ATA A, KOCAMUFTUOGLU M, HASIRCIOGLU S (2011). Bovine herpesvirus type 4 (BHV-4) infection in relation to fertility in repeat breeder dairy cows. *Acta Veterinaria*, **61**, 13-19
- KALMAN D, EGYED L (2006). PCR detection of bovine herpesviruses from nonbovine ruminants in Hungary. *Journal of Wildlife Diseases*, **41**, 482-488
- KALMAN D, JANOSI S, EGYED L (2004). Role of bovine herpesvirus 4 in bacterial bovine mastitis. *Microbiological Pathogenesis*, **37**, 125-129
- KAMINJOLO JS, MUGERA GM, ROSTED AF (1972). Isolation of a Herpes-type Virus from some tumors of bovine origin. *Zentralbl. Veterinarmed.*, **19**, 626-632
- KENDRICK JW, OSBURN BI, KRONLUND N (1976). Pathogenicity studies of a bovine herpesvirus. *Theriogenology*, **6**, 447-462
- KIRKBRIDE CA (1992). Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **4**, 374-379
- KIT S, KIT M, HIROSHI I, CRANDELL R, McCONNELL S (1986). Induction of thymidine kinase activity by viruses with group B DNA genomes : bovine cytomegalovirus (bovine herpesvirus 4). *Virus Research.*, **4**, 197-212
- KRUGER JM, OSBORNE CA, GOYAL SM, O'BRIEN TD, POMEROY KA, SEMLAK RA (1990). Clinicopathologic analysis of herpesvirus-induced urinary tract infection in specific-pathogen-free cats given methylprednisolone. *Am. J. Vet. Res.*, **51**, 878-885
- KRUGER JM, OSBORNE CA, GOYAL SM, WICKSTROM SL, JOHNSTON GR, FLETCHER TF *et al.* (1991). Clinical evaluation of cats with lower urinary tract disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **199**, 211-216
- KRUGER JM, VENTA PJ, SWENSON CL, SYRING R, GIBBONS-BURGENER SN, RICHTER M *et al.* (2000). Prevalence of bovine herpesvirus-4 infections in cats in Central Michigan. *J. Vet. Intern. Med.*, **14**, 593-597
- KWANG MJ (1999). Virus isolation and serological investigation of bovine herpesvirus type 4 in Taiwan. *J. Chin. Soc. Vet. Sci.*, **25**, 50-54
- LE DREAN E (2008). Taux d'élucidation des avortements au laboratoire. *In : Recueil de conférences des Journées Nationales des GTV*. Nantes, 28-30 Mai 2008, Nantes, SnGTV, 971-977
- LEBOEUF C (2009). Enquête dans la Manche : le BoHV-4 circule notamment chez les avortées. *Le Point Vétérinaire*, **294**, 18-19

- LEBOEUF C (2013). Six pour-cent d'avortements positifs en PCR pour le BoHV-4 dans la Manche. *Le Point Vétérinaire*, **332**, 60-64
- LETE C, MACHIELS B, STEVENSON PG, VANDERPLASSCHEN A, GILLET L (2012). Bovine herpesvirus type 4 Glycoprotein L is nonessential for infectivity but triggers virion endocytosis during entry. *Journal of Virology*, **86**, 2653-2664
- LIN TM, JIANG MJ, ENG HL, SHI GY, LAI LC, LAI LC *et al.* (2000). Experimental infection with Bovine Herpesvirus-4 enhances atherosclerotic process in rabbits. *Laboratory Investigation*, **80**, 3-11
- LIN TS, SHI GY, JIANG SJ, TSAI CF, HWANG BJ, HSIEH CT *et al.* (1999). Persistent infection of bovine herpesvirus type 4 in bovine endothelial cell cultures. *Veterinary Microbiology*, **70**, 41-53
- LIN TS, SHI GY, TSAI CF, SU HJ, LEON GUO YL, WU HL (1997). Susceptibility of endothelial cells to bovine herpesvirus type 4 (BHV-4). *Journal of Virological Methods*, **63**, 219-225
- LUINI M, FIONI E (1986a). Frequency of bovid-herpesvirus-4 (BHV-4) infection in cattle in Lombardia and Emilia Romagna (Abstract). *Atti. Società It. Buiat.*, **18**, 329-339
- LUINI M, FIONI E (1986b). Frequency of bovid-herpesvirus-4 (BHV-4) infection in cattle in some regions in Northern Italy. *In*: Abstracts of the 9th International Symposium of W.A.V.M.I., 8-11 Octobre 1986, 40
- MACHIELS B, GILLET L, DO NASCIMENTO BRITO S, DRION P, DELFORGE C, NIZET Y *et al.* (2007). Natural antibody-complement dependent neutralization of bovine herpesvirus 4 by human serum. *Microbes and Infection*, **9**, 1530-1537
- MARCHOT P, THIRY E, JETTEUR P, LEROY P (1991). Enquête sérologique sur la prévalence de l'infection par l'herpèsvirus bovin type 4 dans les troupeaux bovins des plaines d'Accra au Ghana. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **44**, 405-406
- MARKINE-GORIAYNOFF N (2003a). Etude du gène Bo17 de l'herpèsvirus bovin 4. *Thèse Vét. Méd.*, Liège, 2003, 150p.
- MARKINE-GORIAYNOFF N, MINNER F, DE FEAYS K, GILLET L, THIRY E, PASTORET PP *et al.* (2003b). L'herpèsvirus bovin 4. *Ann. Méd. Vét.*, **147**, 215-247
- McGEOCH DJ, GATHERER D, DOLAN A (2005). On phylogenetic relationships among major lineages of the Gammaherpesvirinae. *Journal of General Virology*, **86**, 307-316
- McGOWAN AC, MURRAY RD (1999). Health status of bulls used for natural breeding on farms in South West Scotland. *J. Vet. Med.*, **46**, 311-321
- MEHROTRA ML, SHUCLA DC, SRIVASTAVA NC (1986). Isolation of a new herpesvirus from cases of reproductive disorders in cow. *Indian J. Anim. Sci.*, **56**, 1196-1199
- METZLER AE, OSSENT P, GUSCETTI F, RUBEL A, LANG EM (1990). Serological evidence of herpesvirus infection in captive asian elephants (*Elephas maximus*). *Journal of Wildlife Diseases*, **26**, 41-49

METZLER AE, WYLER R (1986). Prevalence of bovine herpesvirus 4 in the Swiss cattle population and possible serologic cross reaction with bovine herpesvirus 1 (IBR/IPV virus). *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, **128**, 459-467

Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt : Service de la statistique et de la prospective. *Site Agreste info rapide Conjoncture : Bovin cheptel Mai 2013* [en ligne], Mise à jour en Octobre 2013 [<http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/conjinforap201310bvfr.pdf>], (consulté le 1^{er} Novembre 2013)

Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt : Service de la statistique et de la prospective. Site Agreste [en ligne], Mise à jour le 26 Avril 2012 [<http://agreste.agriculture.gouv.fr/recensement-agricole-2010/>], (consulté le 1^{er} Novembre 2013)

MIYANO H, HARITANI M, SENTSUI H, TSUBOI T, TANIMURA N, KIMURA KM *et al.* (2004). Mammary lesions associated with bovine herpesvirus type 4 in a cow with clinical mastitis. *J. Vet. Med. Sci.*, **66**, 457-460

MOHANTY SB, HAMMOND RC, LILLIE MG (1971). A new bovine herpesvirus and its effects on experimentally infected calves. *Arch. Ges. Virusforsch.*, **33**, 394-395

MONGE A, ELVIRA L, GONZALEZ JV, ASTIZ S, WELLENBERG GJ (2006). Bovine herpesvirus 4-associated postpartum metritis in a Spanish dairy herd. *Res Vet Sci.*, **80**, 120-125

MORENO-LOPEZ J, GOLTZ M, REHBINDER C, VALSALA KV, LUDWIG H (1989). A bovine herpesvirus (BHV-4) as passenger virus in ethmoidal tumors in Indian cattle. *Zentralbl. Veterinarmed.*, **36**, 481-486

NAEEM K, CAYWOOD DD, GOYAL SM, WERDIN RE, MURTAUGH MP (1991a). Variation in the pathogenic potential and molecular characteristics of bovid herpesvirus-4 isolates. *Veterinary Microbiology*, **27**, 1-18

NAEEM K, GOYAL SM (1990). A dot immunobinding assay on nitrocellulose for the detection of bovid herpesvirus- antibodies. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **2**, 107-110

NAEEM K, GOYAL SM, WERDIN RE (1989). Prevalence of bovid herpesvirus-4 and its antibody in cattle in Minnesota. *American Journal of Veterinary Research.*, **50**, 1931-1935

NAEEM K, MURTAUGH MP, GOYAL SM (1991b). Tissue distribution of bovid herpesvirus-4 in rabbits and its detection by DNA hybridization and polymerase chain reaction. *Arch. Virol.*, **119**, 239-255

NAK Y, DAGALP SB, CETIN C, NAK D, ALKAN F, BORUM E *et al.* (2011). Course and severity of postpartum metritis cases following antibiotic and PGF2 α administration in postpartum metritis cows infected with BoHV-4. *Transbound Emerg Dis.*, **58**, 31-36

NIKOLIN V, MILICEVIC V, RADOSAVLJEVIC V (2008). Presence of Bovine herpesvirus type 4 (BHV-4) infection in bulls for artificial insemination in Serbia. *Acta Veterinaria.*, **58**, 267-273

- NIKOLIN VM, DONOFRIO G, MILOSEVIC B, TADDEI S, RADOSAVLJEVIC V, MILICEVIC V (2007). First serbian isolates of bovine herpesvirus 4 (BoHV-4) from a herd with a history of postpartum metritis. *New Microbiologica*, **30**, 53-57
- OSORIO FA, GALEOTA-WHEELER JA, REED DE, LOPEZ O (1996). About the cellular tropism of the gammaherpesvirus Bovine Herpesvirus Type 4. *Journal of Clinical Microbiology*, **34**, 3253-3254
- OSORIO FA, REED DE (1983). Experimental inoculation of cattle with bovine herpesvirus-4 : evidence for a lymphoid-associated persistent infection. *Am. J. Vet. Res.*, **44**, 975-980
- OSORIO FA, REED DE, ROCK DL (1992). Experimental infection of rabbits with bovine herpesvirus-4 : acute and persistent infection. *Veterinary Microbiology*, **7**, 503-513
- OSORIO FA, ROCK DL, REED DE (1985). Studies on the pathogenesis of a bovine cytomegalo-like virus in an experimental host. *J. Gen. Virol.*, **66**, 1941-1951
- PALMEIRA L, MACHIELS B, LETE C, VANDERPLASSCHEN A, GILLET L (2011). Sequencing of bovine herpesvirus 4 v.test strain reveals important genome features. *Virology Journal*, **8**, 406
- PARK JB, KENDRICK JW (1973). The isolation and partial characterization of a herpesvirus from a case of bovine metritis. *Arch Gesamte Virusforsch.*, **41**, 211-215
- PEREZ SE, VERNA AE, LEUNDA MR, FAVIER PA, CERIANI MC, MORAN PE *et al.* (2011). Occurrence of bovine herpesvirus type 4 DNA in Argentinean Holstein cattle from Santiago del Estero, Argentina. *Braz. J. Res. Anim. Sci.*, **48**, 454-463
- PERSHEV R, CHRISTOVA L (2013). Bovine Herpes virus 4 (BHV4) infection induced by stress in imported cows. *Revue Méd. Vét.*, **164**, 112-119
- QUENTIN X, GARAUDEAUX Y, BENOIT F, TREILLES M (2013). Flambée d'avortements positifs au BoHV-4 lors d'un passage en monte naturelle. *Le Point Vétérinaire*, **332**, 70-74
- RACANIELLO V, DESPOMMIERS DD, DOVE A, CONDIT R, SPINDLER K. *This Week In Virology* [en ligne], Mise à jour le 27 Octobre 2013[<http://www.twiv.tv/virus-structure/>], (consulté le 1^{er} Novembre 2013)
- REED DE, LANGPAP TJ, ANSON MA (1977). Characterisation of herpesvirus isolated from lactating dairy cows with mammary pustular dermatitis. *Am. J. Vet. Res.*, **38**, 1631-1634
- REED DE, LANGPAPT J, BERGELAND ME (1979). Bovine abortion associated with mixed Movar 33/63 type herpesvirus and bovine viral diarrhoea virus infection. *Cornell vet.*, **69**, 54-66
- REMY D (2012a). Avortements en série : protocoles, anamnèse et examen des animaux. *Le Point Vétérinaire*, **332**, 60-66
- REMY D, CONSTANT F, MASSE-MORELLE G, MAUFFRE V, SALLAT O (2012b). *Les avortements bovins*. Polycopié. École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Pathologie du bétail, module production laitière II, 2012. 52p.

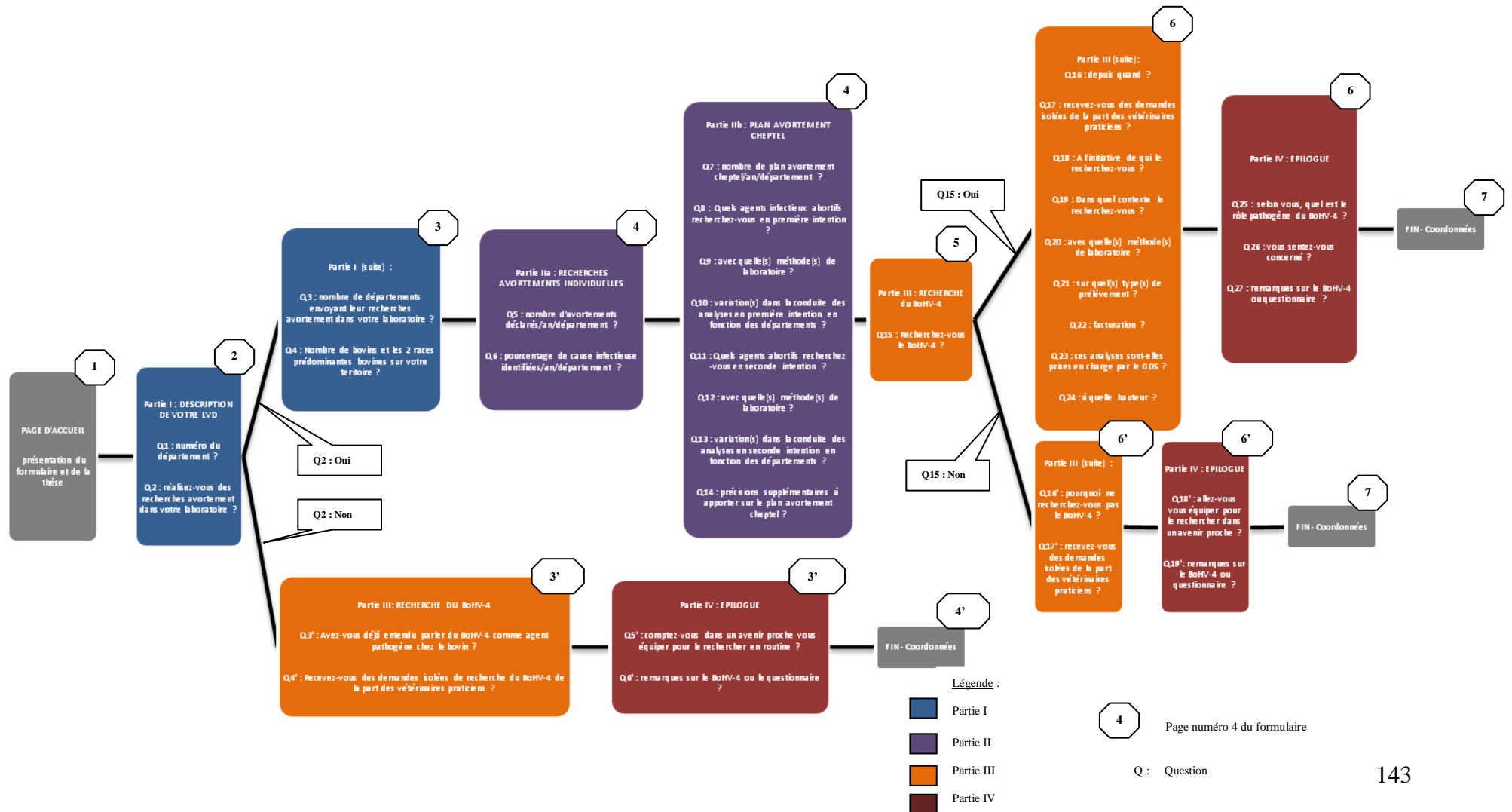
- REMY D, RICHARD L (2013). Cinq principales zoonoses abortives des ruminants autres que la brucellose. *Le Point Vétérinaire*, **332**, 54-58
- ROIZMAN B, BAINES J (1991). The diversity and unity of herpesviridae. *Comp. Immun. Microbiol. Inf. Dis.*, **14**, 63-79
- ROSSITER PB, GUMM ID, STAGG DA, CONRAD PA, MULKOLWE S, DAVIES FG *et al.* (1989). Isolation of bovine herpesvirus-3 from African buffaloes (*Syncerus caffer*). *Research in Veterinary Science*, **46**, 337-343
- SASS B, MOHANTY SB, HETRICK FM (1974). Fluorescent antibody study of a new bovine herpesvirus (strain DN-599). *Am. J. Vet. Res.*, **35**, 1343-1346
- SCHIEFER B (1974). Bovine abortion associated with cytomegalovirus infection. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B.*, **21**, 145-151
- SHELDON IM, CRONIN J, GOETZE L, DONOFRIO G, SCHUBERTH HJ (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of reproduction*, **81**, 1025-1032
- SMITH KC (1997). Herpesviral abortion in domestic animals. *The Veterinary Journal*, **153**, 253-268
- SMITH PC, CUTLIP RC, RITCHIE AE, YOUNG JK (1972). A bovine herpesvirus associated with a disease of the upper respiratory tract of feedlot cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **161**, 1134-1141
- STORZ J, EHLERS B, TODD WJ, LUDWIG H (1984). Bovine cytomegaloviruses : identification and differential properties. *J. gen. Virol.*, **65**, 697-706
- STRINGFELLOW DA, LAUERMAN LH, NASTI KB, GALIK PK (1990). Trypsin treatment of bovine embryos after in vitro exposure to infectious bovine rhinotracheitis virus or bovine herpesvirus-4. *Theriogenology*, **34**, 427-434
- THIRY E (1991). Failure to infect cat with bovine herpesvirus type 4 strain Movar 33-63. *Vet. Rec.*, **128**, 614-615
- THIRY E (2007). Maladies virales des ruminants. 2nd ed. Rueil-Malmaison, Éditions du Point Vétérinaire, 301p.
- THIRY E (2002). Stratégies de prévention des avortements provoqués par les herpesvirus et les pestivirus de ruminants. *Ann. Méd. Vét.*, **146**, 161-168
- THIRY E, BARANOWSKI E, LOMONTE P, VANDERPLASSCHEN A, BUBLLOT M, DUBUISSON J *et al.* (1994). Les glycoprotéines des herpes virus bovins 1 et 4. *In* : DIOP PEH, KAECKENBEEK ABiotechnologies du diagnostic et de la prévention des maladies animales, Paris, John Libbey Eurotext, 1994, 245-257
- THIRY E, BUBLLOT M, DUBUISSON J, PASTORET PP (1989). Bovine herpesvirus-4 (BHV-4) infections of cattle. *In* : Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs, Norwell, WITTMAN G, 1989, 96-115

- THIRY E, BUBLOT M, DUBUISSON J, VAN BRESSEM MF, LEQUARRE AS, LOMONTE P *et al.* (1992). Molecular biology of bovine herpesvirus type 4. *Veterinary Microbiology*, **33**, 79-92
- THIRY E, MARKINE-GORIAYNOFF N, MINNER F, PASTORET PP, VANDERPLASSCHEN A (2000). L'herpèsvirus bovin de type 4 : virus pathogène ou passager ?. *Le Point Vétérinaire*, **31**, 49-55
- THIRY E, PASTORET PP, DESSY-DOISE C, HANZEN C, CALBERG-BACQ CM (1981). Isolement d'un herpesvirus chez un taureau infertile. *Ann. Med. Vet.*, **125**, 143
- THIRY E, THIRY J (2011). Infections à herpèsvirus chez les ruminants et les éléphants. *Bull. Acad. Vét. France.*, **164**, 317-322
- THIRY E, VERCOUTER M, DUBUISSON J, BARRAT J, SEPULCHRE C, GERARDY C *et al.* (1988). Serological survey of herpesvirus infections in wild ruminants of France and Belgium. *Journal of Wildlife Diseases*, **24**, 268-273
- TODD WJ, STORZ J (1983). Morphogenesis of a cytomegalovirus from an American Bison with malignant catarrhal fever. *J. gen. Virol.*, **64**, 1025-1030
- TOHO T, KANAYA K, OKI Y (1985). Experimental transmission to calf and goat of the virus associated with the cultured T-cell lymphoma cell line from the calf type of bovine leukosis. I. Detection of antibodies to BTLA by immunofluorescence assay. *Bull. Nipp. Vet. Zootch. Coll.*, **34**, 23-26
- TOURATIER A, DE CREMOUX E, BRONNER A (2012). Diagnostic différentiel des avortements infectieux chez les ruminants : état des lieux en France. *Bulletin des GTV*, **63**, 99-104
- TREILLES M, BENOIT F, CARPINSCHI V, LEBORGNE M, BLANCHARD B (2013). Progrès dans la mise en évidence du BoHV-4 en routine. *Le Point Vétérinaire*, **332**, 66-68
- TRUMAN D, LUDWIG H, STORZ J (1986). Bovines Herpesvirus typ 4 (BHV-4) : Untersuchungen zur Biologie und Verbreitung in Rinderbeständen und bei Besamungsbullen. *J. Vet. Med.*, **33**, 485-501
- VAN MALDEREN G, VAN OPDENBOSCH E, WELLEMAN G (1987). Bovine herpesvirus 1 and 4 : a sero-epidemiological survey of the Belgian cattle population. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, **55**, 17-20
- VAN OPDENBOSCH E, WELLEMAN G, OUDERWATER J (1986a). Casual isolation of a bovine herpes virus 4 from the lung of a sheep [en Danois]. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift.*, **55**, 432-433
- VAN OPDENBOSCH E, WELLEMAN G, THEYS H, VERHEES I (1986b). Occurrence of subclinical viral infections in veal calves and their influence on weight gain. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, **55**, 17-20
- VAN OPDENBOSCH E, WELLEMAN G, OOMS LA, DEGRYSE AD (1988). BHV4 (bovine herpes virus 4) related disorders in Belgian cattle : a study of two problem herds. *Vet. res. Commun.*, **12**, 347-353

- VANDERPLASSCHEN A, BUBLLOT M, BUBUISSON J, PASTORET PP, THIRY E (1993). Attachment of the gammaherpesvirus bovine herpesvirus 4 is mediated by the interaction of gp8 glycoprotein with heparinlike moieties on the cell surface. *Virology*, **196**, 232-240
- VANDERPLASSCHEN A, GOLTZ M, LYAKU J, BENARAF A C, BUHK HJ, THIRY E *et al.* (1995). The replication in vitro of the gammaherpesvirus bovine herpesvirus is restricted by its DNA synthesis dependence on the S phase of the cycle. *Virology*, **213**, 328-340
- VANROOSE G, NAUWYNCH H, VAN SOOM A, VAN OPDENBOSCH E, DE KRUIF A (1996). Comparison of the susceptibility of in vitro produced hatched blastocysts for an infection with bovine herpesvirus-1 and bovine herpesvirus-4. *In* : Proceeding 12th Reunion of European Embryo Transfer Association, 206
- VERNA AE, LEUNDA MR, LOUGE IRIARTE E, LOMONACO M, PEREYRA S, ODEON A (2008). Primera evidencia virológica de Herpesvirus bovino tipo 4 (BoHV-4) en Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.*, **40**, 130
- VERNA AE, MANRIQUE JM, PEREZ SE, LEUNDA MR, PEREYRA SB, JONES LR *et al.* (2012). Genomic analysis of bovine herpesvirus type 4 (BoHV-4) from Argentina : high genetic variability and novel phylogenetic groups. *Veterinary Microbiology*, **160**, 1-8
- WELCHMAN D de B, VERKUIJL AM, PEPPER WJ, IBATA G, KINQ SA, DAVIDSON HM *et al.* (2012). Association of gammaherpesviruses and bacteria with clinical metritis in a dairy herd. *Veterinary records*, **170**, 207
- WELLEMANS G, VAN OPDENBOSCH E (1989). Association entre l'infection par le BHV-4 et l'avortement chez la vache. *Ann. Med. Vet.*, **133**, 347-350
- WELLEMANS G, VAN OPDENBOSCH E, MAMMERICKX M (1986). Inoculation expérimentale du virus LVR 140 (herpès bovin IV) à des vaches gestantes et non gestantes. *Ann. Rech. Vét.*, **17**, 89-94
- WELLENBERG GJ, BRUSCHKE CJM, WISSELINK HJ, BARKEMA HW, VAN OIRSCHOT JT (2002a). Simultaneous intramammary and intranasal inoculation of lactating cows with bovine herpesvirus 4 induce subclinical mastitis. *Veterinary Microbiology*, **86**, 115-129
- WELLENBERG GJ, NEYTS J, VAN OIRSCHOT JT (2002b). Chapter 8 : Inhibition of bovine herpesvirus 4 replication in vitro by selected antiviral agents. *In* : WELLENBERG GJ. Bovine herpesvirus 4 infections and bovine mastitis, Université d'Utrecht. 2002, 130-136.
- WELLENBERG GJ, SAMPIMON O, SOL J, VAN OIRSCHOT JT (2002c). Chapter 6 : Detection of bovine herpesvirus 4 in milk from cows with mastitis : a second case-control study. *In* : WELLENBERG GJ. Bovine herpesvirus 4 infections and bovine mastitis, Université d'Utrecht, 2002, 87-102
- WELLENBERG GJ, VAN DER POEL WHM, VAN DER VORST TJK, VAN VALKENGOED PHR, SCHUKKEN YH, WAGENAAR F *et al.* (2000). Bovine herpesvirus 4 in bovine clinical mastitis. *Veterinary Record*, **147**, 222-225

- WELLENBERG GJ, VAN DER POEL WHM, VAN OIRSCHOT JT (2002d). Viral infections and bovine mastitis : a review. *Veterinary Microbiology*, **88**, 27-45
- WELLENBERG GJ, VAN ROOIJ EMA, MAISSAN J, VAN OIRSCHOT JT (1999). Evaluation of a newly developed immunoperoxidase monolayer assays for detection of antibodies against bovine herpesvirus 4. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, **6**, 447-451
- WELLENBERG GJ, VERSTRATEN ERAM., BELAK S, VERSCHUREN SBE, RIJSEWIJK FAM, PERSHEV R *et al.* (2001). Detection of bovine herpesvirus 4 glycoprotein B and thymidine kinase DNA by PCR assays in bovine milk. *Journal of Virological Methods*, **97**, 101-112
- WOLDEMESKEL M, KEBEDE E, YIGEZU L, POTGIETER LN (2000). Prevalence of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine herpesvirus-4 (BHV-4) in cattle from Ethiopia. *Ditsch. Tierarztl. Wochenschr.*, **107**, 464-466
- YAMAMOTO Y, MURAKAMI K, INOSHIMA Y, NAKANE T, SAIKA K, SENTSU H (2000). Characterization of a bovine herpesvirus type 4 isolated from the spinal cord of a cow with astasia. *Arch. Virol.*, **145**, 2363-2370
- YILDIRIM Y, ZILMAZ V, KALAYCIOGLU AT, BILGE DAGALP S, FARAJI MAJARASHIN AR *et al.* (2011). An investigation of a possible involvement of BVDV, BHV-1 and BHV-4 infections in abortion of dairy cattle in Kars District of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak derg.*, **17**, 879-883
- ZADOKS RN, ALLORE HG, BARKEMA HW, SAMPIMON OC, WELLENBERG GJ, GROHN YT *et al.* (2001). Cow- and Quarter-Level risk factors dor *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.*, **84**, 2649-2663
- ZIMMERMANN W, BROLL H, EHLERS B, BUHK HJ, ROSENTHAL A, GOLTZ M (2001). Genome sequence of bovine herpesvirus 4, a bovine Rhadinovirus, and identification of an origin of DNA replication. *Journal of Virology*, **75**, 1186-1194

Annexe 1 : Arbre représentatif du formulaire en ligne



Questionnaire d'enquête auprès des LVD sur le BoHV-4

Thèse de doctorat en médecine vétérinaire

- Le rôle éventuel du BoHV-4 dans les avortements bovins : enquête auprès des laboratoires départementaux -

Direction : Dr D. Remy (MC ENVA) Assessorat : Pr. B. Grimard (ENVA)

Ce questionnaire vise à dresser un premier état des lieux sur le BoHV-4 auprès des LVD mais également compléter nos connaissances sur votre conduite face aux recherches avortement.

Pour ce faire, ce questionnaire s'articule en 4 parties :

- I- Description de votre LVD
- II- Recherches avortement et plan avortement cheptel
- III- Recherche du BoHV-4
- IV- Epilogue

Si vous ne réalisez pas de recherches avortement bovin, ou plus particulièrement de recherches BoHV-4, le questionnaire s'adaptera automatiquement. Il comprend de 6 à 27 questions, et sa durée variera en fonction de l'exhaustivité de vos réponses. Vous pourrez revenir sur vos réponses même après envoi du questionnaire.

Ce questionnaire s'adresse donc à TOUS les LVD de France.

Je vous communiquerai, individuellement, les résultats après traitement de ces questionnaires. Vos réponses ne seront pas visibles des autres sondés.

Je reste à votre entière disposition pour plus d'informations sur les données requises ou pour toutes remarques relatives à ce questionnaire et au BoHV-4 :

etienne.chevanne@gmail.com
06 74 24 20 18

Merci de votre coopération.



Fourni par  Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google.
[Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Clauses additionnelles](#)

Annexe 3 : Seconde page du formulaire en ligne (une capture d'écran)

Questionnaire d'enquête auprès des LVD sur le BoHV-4

*Obligatoire

I- Description de votre LVD

Où vous seront demandées des données globales sur votre aire géographique de travail.


1- Vous êtes le Laboratoire Départemental Vétérinaire du : *
Numéro de votre département de résidence


Cette question est obligatoire.

2- Réalisez-vous des recherches 'avortement bovin' dans votre laboratoire ? *

Oui

Non



Fourni par  Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google.

[Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Clauses additionnelles](#)

Annexe 4 : Formulaire en ligne correspondant aux LDA ne réalisant pas de recherche avortement bovin en leur sein, soit la page 3' (une captures d'écran)

Questionnaire d'enquête auprès des LVD sur le BoHV-4

*Obligatoire

III- Recherche du BoHV-4

Quelles sont vos motivations vis à vis de la recherche du BoHV-4

3- Avez-vous déjà entendu parler du BoHV-4 comme agent pathogène chez le bovin ? *

Jamais

Oui, depuis plusieurs années

Très récemment (moins de 2 ans)

Autre :

4. Recevez-vous des demandes isolées de recherche du BoHV-4 de la part des vétérinaires praticiens ? *

Jamais

Rarement (<5 demandes/an)

Fréquemment (>5demandes/an)

Autre :

IV- Epilogue

Dans lequel votre avis en tant que Dr Vétérinaire nous intéresse

5- Si vous ne réalisez pas de recherches BoHV-4, comptez vous dans un avenir proche vous équiper pour le rechercher en routine ? *

Oui


Non

6- Avez-vous des remarques complémentaires à faire part sur le BoHV-4 ? ou sur ce questionnaire ?


N'hésitez pas, je reste ouvert à toute critique pour améliorer mon travail.

Veillez cocher la proposition ci-après 'Fin du questionnaire' pour envoyer vos réponses *

Fin du questionnaire



« Retour | Continuer »

Fourni par  Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google.
[Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Clauses additionnelles](#)

Annexe 5 : Partie commune du formulaire en ligne aux LDA réalisant des recherches avortement bovin en leur sein, soient les pages 3, 4 et 5 (six captures d'écran)

I- Description de votre LVD

Où vous seront demandées des données globales sur votre aire géographique de travail.

3- Quel est le nombre de départements envoyant leur recherche 'avortement bovin' dans votre laboratoire ? *

Numéros des départements intéressés

Cette question est obligatoire.

4- Sur l'aire géographique que vous couvrez, pouvez-vous donner le nombre de bovins et les deux races bovines prédominantes ?



« Retour | Continuer »

Fourni par
 Google Drive

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google.

[Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Clauses additionnelles](#)

Questionnaire d'enquête auprès des LVD sur le BoHV-4

*Obligatoire

II- Recherches avortements et Plan Avortement Cheptel

Chiffrer les analyses avortements puis décrire ce qu'est en pratique un plan avortement cheptel dans votre aire géographique de travail.

Les données demandées peuvent remonter sur les 5 dernières années : 2012, 2011, 2010, 2009 et 2008

Ce questionnaire ne sera pas visible des autres LVD sondés.

Recherches avortement INDIVIDUELLES

Nous nous concentrons sur les recherches avortement impliquant une CAUSE INFECTIEUSE (virale, bactérienne ou parasitaire).

5- Quel est le nombre d'AVORTEMENTS DECLARES (ie. recherches brucellose) dont vous recevez les prélèvements, par département et par an, dans votre LVD ? *

Par exemple pour un LVD couvrant les départements numéro X et Y, les réponses pourront être présentées sous la forme 2012(X):453, 2012(Y):56, 2011(X):..., 2011(Y):... et ainsi de suite.

6- Pourriez-vous nous communiquer le pourcentage de causes infectieuses identifiées lors de recherche avortement dans votre laboratoire ? *

C'est à dire le pourcentage de déclarations pour lesquelles un agent abortif infectieux a été mis en évidence. Par exemple pour un LVD couvrant les départements X et Y, les réponses pourront être présentées sous la forme : 2012(X):33%, 2012(Y):28%, 2011(X):... et ainsi de suite.



PLAN AVORTEMENT CHEPTEL

Tel qu'il est pratiqué dans votre LVD.

De même, les données demandées peuvent remonter sur les 5 dernières années : 2012, 2011, 2010, 2009, 2008.

Les mêmes mesures de confidentialité seront ici appliquées.

7- Combien de PLANS AVORTEMENT CHEPTEL accompagnez-vous par an et par département ? *

Veuillez suivre le même schéma de réponse qu'en question 5 ou 6

--

8- Dans le cadre d'un PLAN AVORTEMENT CHEPTEL, quelles recherches d'agents infectieux abortifs réalisez-vous en PREMIÈRE INTENTION ? *

Outre la Brucellose.

- Aucune
- BVD (Pestivirus)
- IBR (BHV-1)
- FCO (BTV)
- Salmonellose (S. dublin, typhimurium, montevideo)
- Fièvre Q (C. burnetii)
- Listeriose (L. monocytogenes)
- Neosporose (N. caninum)
- Chlamydiafilose (C. psittaci, abortus, pecorum)
- Leptospirose (L. hardjo, pomona)
- Ehrlichiose (A. phagocytophilum)
- Campylobacteriose (C. fetus, venerealis)
- Arcanobacteriose (A. pyogenes)
- Mycoplasmoses
- Toxoplasmose (T. gondii)
- Autre :

9- Veuillez spécifier pour chacune des analyses réalisées, la méthode de laboratoire de choix utilisée. *

--

10- Si la conduite des recherches de 1ère intention varie sur votre aire géographique, veuillez exposer les différences ci-après

Ne répondre que si vous recevez les analyses avortements de plusieurs départements, dont les politiques varient.

11- Toujours dans le cadre d'un PLAN AVORTEMENT CHEPTEL, quelles recherches d'agents infectieux abortifs réalisez-vous en SECONDE INTENTION ? *

- Aucune
- BVD (Pestivirus)
- IBR (BHV-1)
- FCO (BTV)
- Salmonellose (S. dublin, typhimurium, montevideo)
- Fièvre Q (C. burnetii)
- Listeriose (L. monocytogenes)
- Neosporose (N. caninum)
- Chlamydiafilose (C. psittaci, abortus, pecorum)
- Leptospirose (L. hardjo, pomona)
- Ehrlichiose (A. phagocytophilum)
- Anaplasma marginale
- Campylobacteriose (C. fetus, venerealis)
- Ureaplasme (U. diversum)
- Arcanobacteriose (A. pyogenes)
- E. coli
- Bacillus licheniformis
- Haemophilose
- Mycoplasme
- Toxoplasmose (T. gondii)
- Trichomonose génitale (T. foetus)
- Sarcocystose (S. cruzi, hirsuta, hominis)
- Mycotique (Mucorales, Aspergilliacés)
- Virus Schmallenberg (SBV)
- BoHV-4
- Besnoitiose
- Autre :

12- Veuillez spécifier pour chacune des analyses réalisées, la méthode de laboratoire de choix utilisée. *

13- Si la conduite des recherches en 2e intention varie sur votre aire géographique, veuillez exposer les différences ci-après

Ne répondre que si vous recevez les analyses avortements de plusieurs départements, dont les politiques varient.


14- Avez-vous d'autres précisions à apporter sur votre PLAN AVORTEMENT CHEPTEL ?

Particularité(s) de votre laboratoire



« Retour

Continuer »

Fourni par
 Drive

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google.

[Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Clauses additionnelles](#)

Questionnaire d'enquête auprès des LVD sur le BoHV-4

*Obligatoire

III- Recherche du BoHV-4

Quelles sont vos motivations, les techniques employées et le coût de ces dernières

15- Recherchez-vous le BoHV-4 dans votre laboratoire *

- Oui
 Non



« Retour

Continuer »

Fourni par
 Google Drive

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google.

[Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Clauses additionnelles](#)

Annexe 6 : Partie finale du formulaire en ligne correspondant aux LDA réalisant des recherches 'avortement bovin' mais pas de recherches BoHV-4, soit la page 6' (une capture d'écran)

Questionnaire d'enquête auprès des LVD sur le BoHV-4

*Obligatoire

III- Recherche du BoHV-4

Quelles sont vos motivations vis à vis de la recherche du BoHV-4

16- Si vous ne réalisez pas de recherches BoHV-4 dans votre LVD, est-ce du : *

- Absence de demande des vétérinaires
- Absence de demande du GDS
- Par manque de moyen technique à disposition au LVD
- L'implication éventuelle du BoHV-4 dans les avortements bovins ne fait pas partie des préoccupations du laboratoire
- Autre :

17- Recevez-vous néanmoins des demandes isolées de recherche du BoHV-4 de la part des vétérinaires praticiens ? *

- Jamais
- Rarement (<5 demandes/an)
- Fréquemment (>5demandes/an)
- Autre :

IV- Epilogue

Dans lequel votre avis en tant que Dr Vétérinaire nous intéresse


18- Si vous ne réalisez pas de recherches BoHV-4, comptez vous dans un avenir proche vous équiper pour le rechercher en routine ? *


- Oui
- Non

19- Avez-vous des remarques complémentaires à faire part sur le BoHV-4 ? ou sur ce questionnaire ?
N'hésitez pas, je reste ouvert à toute critique pour améliorer mon travail.

Veillez cocher la proposition ci-après 'Fin du questionnaire' pour envoyer vos réponses *

- Fin du questionnaire



Fourni par  Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google.
[Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Clauses additionnelles](#)

Annexe 7 : Partie finale du formulaire en ligne correspondant aux LDA réalisant des recherches 'avortement bovin' et BoHV-4, soit la page 6 (quatre captures d'écran)

Questionnaire d'enquête auprès des LVD sur le BoHV-4

*Obligatoire

III- Recherche du BoHV-4

Quelles sont vos motivations, les techniques employées et le coût de ces dernières

16- Depuis quand recherchez-vous le BoHV-4 ? *

Par exemple : depuis Juillet 2011

17- Recevez-vous des demandes isolées de recherche du BoHV-4 de la part des vétérinaires praticiens ? *

- Jamais
 Rarement (<5 demandes/an)
 Fréquemment (>5demandes/an)
 Autre :

18- A l'initiative de qui recherchez-vous le BoHV-4 ? *

Plusieurs réponses possibles

- LVD
 Vétérinaire(s) Praticien(s) / GTV local
 GDS
 Autre :

19- Cette recherche du BoHV-4 se réalise : *

- Uniquement dans le cadre d'un plan avortement cheptel
 Sur des recherches avortement individuelles
 Les deux
 Dans un autre contexte pathologique (ex : métrites chroniques, infertilité), veuillez le(s) citer dans la section autre ci dessous :
 Autre :

20- De quelles méthodes de laboratoire disposez-vous au LVD pour rechercher le BoHV-4 ? *

- Méthode directe : PCR
 Méthode indirecte : ELISA
 Méthode indirecte : IFI
 Autre :

21- En fonction des outils employés (cochés à la question précédente), veuillez indiquer sur quel type de prélèvement vous réaliser ces analyses ? *

ex : PCR sur placenta, ELISA sur sang de la mère etc.

22- A combien est facturée chacune de ces analyses ? *

Ces données seront confidentielles

23- Ces analyses BoHV-4 effectuées sont-elles prises en charge par le Groupement de Défense Sanitaire local ? *

Uniquement dans le cadre d'un PLAN avortement cheptel.

Sur des recherches avortement individuelles

Les deux

Autre :

24- Si ces analyses BoHV-4 sont effectivement prises en charge par le GDS local, veuillez indiquer à quelle hauteur ?

Pouvez-vous également préciser le numéro de téléphone du GDS local?

IV- Epilogue

Dans lequel votre avis en tant que Dr Vétérinaire nous intéresse

25- En fonction des résultats obtenus par le laboratoire, pensez-vous que le BoHV-4 est : *

Veillez ne répondre qu'à une seule réponse

- un agent UNIQUEMENT responsable de métrites
- un agent POTENTIALISATEUR d'autres agents abortifs
- un agent abortif en soi
- Autre :

26- A l'égard de l'implication du BoHV-4 dans les avortements bovins, vous sentez vous : *

- pas concerné
- concerné mais bridé par des contraintes techniques ou économiques
- concerné et impliqué

27- Avez-vous des remarques complémentaires à faire part sur le BoHV-4 ? ou sur ce questionnaire ?

N'hésitez pas, je reste ouvert à toute critique pour améliorer mon travail. C'est la dernière question, merci encore pour votre collaboration !



[« Retour](#)

[Envoyer](#)

N'envoyez jamais de mots de passe via l'outil Formulaires Google.

Fourni par

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google.

[Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Clauses additionnelles](#)

Annexe 8 : Page finale du formulaire en ligne, soit la page 4' ou 7 (une capture d'écran)

Questionnaire d'enquête auprès des LVD sur le BoHV-4

Votre questionnaire a bien été enregistré, merci de votre coopération !

Je ne manquerai pas de vous faire suivre les données récoltées, après traitement de ces dernières.

Pour toute information complémentaire ou remarques sur le questionnaire, je reste à votre entière disposition :

par mail : etienne.chevanne@gmail.com

par téléphone : 06 74 24 20 18

Facultatif :

[Modifier votre réponse](#)

[Envoyer une autre réponse](#) | [Créer votre propre formulaire](#)

 Google Drive

LE *BoHV-4* CHEZ LES BOVINS ET LA PLACE DE SA RECHERCHE DANS LES PROTOCOLES « AVORTEMENT BOVIN » EN FRANCE : ENQUÊTE AUPRÈS DES LABORATOIRES DÉPARTEMENTAUX D'ANALYSES VÉTÉRINAIRES

CHEVANNE Étienne, Roj, Charles, François

Résumé :

L'herpèsvirus bovin de type 4 (*BoHV-4*) est un gammaherpèsvirus qui circule de manière importante parmi les bovins à travers le monde. Identifié depuis 50 ans, les publications françaises restent rares à son sujet. Il infecte les cellules mononuclées sanguines et établit une latence chez l'organisme bovin infecté. Il a été isolé à partir d'individus sains ou présentant une grande variété de symptômes. Son rôle pathogène propre est encore à l'étude, mais il semble préférentiellement engendrer des troubles du tractus reproducteur. En pathologie abortive notamment, son rôle de pathogène secondaire est de plus en plus documenté. Les causes infectieuses des avortements bovins ne sont que peu souvent élucidées en pratique et la recherche du *BoHV-4* peut représenter une voie de recherche intéressante. Ce travail s'articule en deux axes majeurs. Une revue de la littérature s'intéresse au *BoHV-4* spécifiquement chez les bovins domestiques, et à la conduite des recherches « avortement bovin » en France. Elle fournit une base cognitive aux acteurs de la santé animale et peut participer à leur sensibilisation face à ce virus. Une enquête en ligne, inédite, a été menée auprès de l'ensemble des laboratoires départementaux d'analyse vétérinaires français en 2013 visant à caractériser la recherche du *BoHV-4* dans le cadre des protocoles « avortement bovin ». Trente six LDA (sur 56) ont répondu, ils représentent 50 départements (sur 101). L'enquête révèle que les actions standardisées de diagnostic différentiel lors de série avortements bovins sont très variables d'un département à l'autre, le *BoHV-4* y est investigué en première intention dans 2 départements, en seconde intention dans 23 départements. Seize départements français, correspondant à 17 % du cheptel adulte bovin, disposent en leur sein des outils diagnostiques pour rechercher le virus. Sa recherche est majoritairement menée depuis moins de 8 ans à l'initiative principale des GDS et vétérinaires praticiens locaux. Les méthodes diagnostiques utilisées sont majoritairement directes, en particulier la PCR. Vingt-six pour cent des LDA confient vouloir s'équiper dans un avenir proche pour rechercher ce virus en routine. Cette étude témoigne des perspectives de développement de la recherche du *BoHV-4* dans les départements français et concourt au regain d'intérêt porté par le monde vétérinaire français à l'égard de ce virus.

Mots clés : HERPESVIRUS BOVIN / HERPESVIRUS BOVIN TYPE 4 / *BoHV-4* / ÉTIOLOGIE / DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL / AVORTEMENT / MÉTRITE / ENQUÊTE / LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL VÉTÉRINAIRE / BOVIN / FRANCE

Jury :

Président : Pr.

Directeur : M.C. D. REMY

Assesseur : .Pr. B. GRIMARD

BOHV-4 IN BOVINE SPECIES AND ITS SEARCH IN BOVINE ABORTION INVESTIGATION PROTOCOLS: A SURVEY AMONG THE FRENCH PUBLIC VETERINARY LABORATORIES

CHEVANNE Étienne, Roj, Charles, François

Summary:

Bovine herpes virus type 4 (*BoHV-4*) is a gammaherpesvirus and has a worldwide distribution among cattle population. It was firstly isolated fifty years ago but yet, French veterinary communications about it remain scarce. It infects mononuclear blood cells and induces viral latency in infected cattle. Thus, it has been isolated from cattle showing various clinical signs as well as healthy cattle. Its intrinsic pathogenic role still remains unclear, but it seems mostly involved in bovine reproductive disorders. Its secondary pathogenic role is more and more documented, notably in bovine abortive pathology. Infectious causes of bovine abortion are rarely identified and research of *BoHV-4* in bovine abortion investigations may improve our knowledge. This work is divided into two major parts. First, reviews of the literature on *BoHV-4* in bovine species and on bovine abortion investigation protocols in France have been carried out. They aim at improving veterinary practitioners' and their partners' awareness of *BoHV-4*. Second, an unprecedented online survey, led among French public veterinary laboratories, aims at defining the *BoHV-4* search in bovine abortion investigation protocols in France in 2013. Thirty-six laboratories answered (out of 56), covering 50 departments (out of 101). This survey reveals that those protocols are highly variable between French departments: *BoHV-4* is a first-line agent in 2 departments while it appears to be a second-line agent in 23 departments. Sixteen departments own the diagnostic tools for *BoHV-4* research, they cover 17 % of French cattle population. This investigation has mainly been led for 8 years and was initiated mainly by the local Groupement de Défense Sanitaire and the veterinary practitioners. Direct diagnostic methods are primarily used and among them PCR prevail. Twenty-six percents of laboratories responding to the survey, which have not been researching *BoHV-4* yet, are willing to equip themselves to test for *BoHV-4*. This work shows the interesting prospects of *BoHV-4* investigations in bovine abortion cases in France and participates in raising national awareness of this virus.

Keywords : BOVINE HERPES VIRUS / BOVINE HERPES VIRUS TYPE 4 / BoHV-4 / ETIOLOGY / DIFFERENTIAL DIAGNOSIS / ABORTION / METRITIS / SURVEY / FRENCH PUBLIC VETERINARY LABORATORIES / CATTLE / FRANCE

Jury :

President : Pr.

Director : M.C. D. REMY

Assessor : Pr. B. GRIMARD