

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHESE

Caractéristiques du système immunitaire du fœtus bovin et du veau nouveau-né. Implications dans la prévention et le diagnostic des infections d'origine virale

E. THIRY, F. SCHYNTS, M. LEMAIRE*

Département des maladies infectieuses et parasitaires

Virologie - Epidémiologie

Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, B43b, B-4000 Liège, Belgique

Correspondance : Etienne Thiry : tél. : 32(0)4/366.42.50 ; fax : 32(0)4/366.42 .61 ; e-mail : etienne.thiry@ulg.ac.be

* Adresse actuelle : UMR 959 Physiopathologie infectieuse et parasitaire des ruminants, viroses respiratoires, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex 03.

RESUME : Les particularités du système immunitaire du fœtus bovin et du veau nouveau-né sont présentées dans cette synthèse. Ces particularités ont des implications importantes dans la prévention et le diagnostic des infections d'origine virale. Trois exemples sont présentés : l'infection du fœtus bovin par le virus de la diarrhée virale bovine et ses conséquences directes et indirectes ainsi que les lignes directrices de la prévention et du diagnostic de cette infection virale ; l'infection du veau nouveau-né par le rotavirus bovin, où l'immunité d'origine colostrale joue un rôle important dans la prévention de cette pathologie ; et l'infection du veau nouveau-né par l'herpèsvirus bovin 1 où l'infection néonatale en présence d'anticorps colostraux n'empêche pas l'installation de l'herpèsvirus à l'état latent et de plus peut conduire à la production de veaux séronégatifs porteurs latents lorsque l'immunité colostrale a disparu.

INTRODUCTION

Durant la gestation, du fait des particularités du système immunologique bovin à ce stade, l'infection du fœtus avec différents virus spécifiques de l'espèce bovine peut avoir différentes conséquences allant de la mortalité à l'absence d'effets néfastes en fonction de l'espèce virale et/ou de la souche virale responsable de l'infection. Après la naissance, la présence d'une immunité protectrice d'origine maternelle est de toute première importance. En l'absence d'une immunité passive d'origine maternelle à la naissance, plusieurs virus sont capables de produire des infections très graves, menant fréquemment à la mort de l'animal nouveau-né. Cette sensibilité particulière du veau nouveau-né est également due aux caractéristiques qui lui sont propres, notamment l'immaturation de

certaines tissus ou organes. De plus, la virulence de la souche virale infectante joue également un rôle important.

Après une revue des caractéristiques du système immunitaire du fœtus bovin et du veau nouveau-né, trois cas sont détaillés : d'abord, l'infection du fœtus par le virus de la diarrhée virale bovine (*bovine viral diarrhoea virus*, BVD-MD) pouvant dans certaines conditions aboutir à l'apparition de veaux infectés persistants immunotolérants ; ensuite, l'infection du veau par le rotavirus bovin, où la sensibilité de la muqueuse intestinale, la virulence de la souche virale et la présence d'une immunité passive doivent être considérées ensemble ; finalement, l'infection du veau nouveau-né par l'herpèsvirus bovin 1 (*bovine herpesvirus 1* ; BoHV-1), où la présence d'anticorps d'origine colostrale

prévient la maladie généralisée, mais inhibe aussi le développement d'une réponse humorale active, avec une conséquence délétère : l'obtention de veaux séronégatifs mais porteurs latents du BoHV-1 (veaux SNLC, pour seronegative latent carriers).

LE SYSTÈME IMMUNITAIRE DU FŒTUS BOVIN ET DU VEAU NOUVEAU-NÉ

Ontogénie de l'immunocompétence spécifique

Cette étape de la maturation du système immunitaire est particulièrement importante. En effet, elle permet à l'organisme en développement de faire une distinction entre les antigènes du soi et du non soi évitant ainsi toute réponse immunitaire ultérieure indésirable contre les consti-

tuants du soi. Par exemple, si le fœtus bovin rencontre, pendant les trois premiers mois de la gestation, des antigènes dans le thymus pendant le développement des cellules T, il devient tolérant envers ces antigènes par apoptose des lymphocytes T spécifiques des antigènes rencontrés (Janssen *et al.*, 2000). C'est ainsi que le fœtus, à partir de 3 ou 4 mois de gestation, ne répondra pas immunologiquement non seulement aux antigènes constituant le soi mais également à des antigènes du non soi présents «accidentellement» lors des trois premiers mois de la gestation. Les conséquences d'une telle exposition accidentelle seront discutées dans le chapitre traitant de l'infection du fœtus bovin par le virus BVD.

Immunité humorale

Le placenta des ruminants est de type desmochorial, avec 5 couches de tissus interposées entre la circulation maternelle et fœtale. Ce type de placentation prévient le passage transplacentaire des immunoglobulines (Silim *et al.*, 1990) et les veaux naissent donc agammaglobulinémiques. Ils peuvent cependant avoir des anticorps antiviraux, consécutifs à une infection virale non létale qui se serait produite durant la gestation (Tableau I).

Le fœtus bovin peut répondre à une stimulation antigénique dès le quatrième mois de gestation. Néanmoins, les anticorps produits sont des IgM,

spécifiques d'une réponse primaire, et disparaissent rapidement. Les fœtus bovins infectés *in utero* par une souche de BoHV-1 atténuée développent des anticorps anti-BoHV-1. Cette réponse immune n'est pas suffisante pour protéger le fœtus contre l'infection qui mène à la mort après infection généralisée par une souche virulente. Contrairement à d'autres virus, comme le parainfluenza-3 bovin, qui peuvent infecter le fœtus sans effet néfaste, le veau naît sans anticorps anti-BoHV-1, non pas qu'il soit incapable de développer une réponse immune humorale, mais parce que l'infection est mortelle (Thiry *et al.*, 1994).

Les veaux privés de colostrum présentent dès la naissance une augmentation de la teneur en IgG sériques par immunisation active, alors que cette synthèse est retardée de 2 à 4 semaines chez les nouveau-nés qui ont reçu un apport correct de colostrum. Les nouveau-nés possèdent moins de complément et leurs macrophages sont moins actifs. La présence transitoire de taux élevés en corticostéroïdes endogènes en période périnatale contribue également à rendre les nouveau-nés provisoirement moins immunocompétents que les adultes (Povey et Carman, 1997).

Le veau nouveau-né possède approximativement 76 plaques de Peyer dans le duodénum et le jéjunum et une seule plaque de Peyer continue dans l'iléon. Vers l'âge de 18 mois, la plaque de Peyer continue s'atrophie

dans l'iléon et fait place à 18 à 40 plaques de Peyer séparées. Cette plaque de Peyer continue semble être un organe lymphoïde primaire, producteur des lymphocytes B, de même nature que la bourse de Fabricius chez les oiseaux. Cependant, les autres plaques de Peyer de l'intestin grêle et du colon sont des organes lymphoïdes secondaires (Goddeeris, 1998).

Immunité cellulaire

Le veau nouveau-né est considéré comme immunocompétent à la naissance. Cette affirmation doit être nuancée et le veau montre jusqu'à l'âge de 3 à 6 mois des fluctuations importantes de la prolifération lymphoblastique induite par différents mitogènes. Il possède cependant l'ensemble des cellules effectrices de l'immunité (Povey et Carman, 1997).

Les bovins se remarquent par une concentration sanguine relativement importante en lymphocytes T de type $\gamma\delta$. Cette concentration est particulièrement élevée chez le veau nouveau-né, soit 25 à 30 % dans les leucocytes sanguins périphériques, par rapport aux vaches adultes qui en ont une concentration sanguine de 3 à 10 %. La fonction de ces cellules n'est pas établie, mais elles auraient une activité de type cellule tueuse naturelle. Elles requièrent pour leur prolifération l'interleukine 2 exogène et un signal cellulaire non restreint au complexe majeur d'histocompatibilité. Ces cellules se situent sur les surfaces épithéliales, la peau, l'intestin, l'œsophage et la langue (Goddeeris, 1998) (Tableau I).

Tableau I : Réponse immune antivirale du veau nouveau-né

Immunité humorale	Immunité cellulaire
- Agammaglobulinémie à la naissance	- immunocompétence à la naissance
- Présence d'anticorps à la naissance : conséquence d'une infection virale fœtale	- maturation de l'immunité jusqu'à l'âge de 3 à 6 mois
- Interférence des anticorps colostraux envers l'immunité active	- concentration sanguine élevée en cellules T $\gamma\delta$

Tableau II : Concentrations approximatives (mg/ml) des isotypes d'anticorps bovins dans le sérum, le lait et le colostrum

	IgM	IgG1	IgG2	IgA
Sérum	3,05	11,2	9,2	0,37
Lait	0,09	0,58	0,01	0,08
Colostrum	6,77	46,4	2,87	5,36

Immunité passive

Comme il n'y a pas de transfert placentaire d'immunoglobulines au fœtus chez les ruminants, le transfert d'immunité passive est assuré par l'accumulation de très grandes quantités d'anticorps, surtout des IgG1, dans le colostrum et la prise efficace de ces protéines intactes par le veau nouveau-né. Le tableau II indique les concentrations approximatives des isotypes d'anticorps au niveau du sérum, du lait et du colostrum. Les IgG1 sont transportées par un système sélectif qui repose sur des récepteurs spécifiques de la fraction Fc des IgG1 au travers de la glande mammaire. L'absorption par le veau nou-

veau-né s'effectue durant une période variant de 24 à 48 heures après la naissance. La durée de cette période semble dépendre du moment de la première prise de colostrum. Elle est aussi efficace, quel que soit l'isotype d'immunoglobuline dans le colostrum. La prédominance d'IgG1 est due à la composition du colostrum et non aux capacités d'absorption du veau. Plus tard, durant la lactation, un rapport IgA/IgG plus élevé est observé (Silim *et al.*, 1990; Goddeeris, 1998) (Tableau III).

Les immunoglobulines du colostrum absorbées par le veau seront sécrétées, en cas de besoin, dans les sécrétions muqueuses, et notamment au niveau de l'intestin. Cela vaut pour les IgG1 et aussi pour quelques IgA absorbées. En effet, une caractéristique du système muqueux chez les ruminants est l'importance des IgG1 par rapport aux IgA, ce qui se manifeste d'ailleurs par leurs concentrations respectives dans les sécrétions de la glande mammaire (Silim *et al.*, 1990).

Les anticorps maternels ont un effet suppresseur envers le développement des réponses immunes endogènes du jeune veau. Les anticorps circulants présents de manière systémique interfèrent avec la réponse immune humorale. Ce rôle immunosuppresseur est aussi identifié dans les muqueuses : la réponse active est inhibée localement par la présence d'anticorps circulants d'origine colostrale ou lactogène présents dans la lumière intestinale (Goddeeris, 1998).

Alors que les anticorps sont les principaux effecteurs de l'immunité passive chez le nouveau-né, d'autres fac-

teurs sont présents dans le colostrum et le lait. De nombreuses cellules vivantes sont présentes dans le lait (5×10^4 à 2×10^6 /ml) et encore plus lors de mammites. Ces cellules sont essentiellement de phénotype CD8+ ($\alpha\beta$ TCR+) avec des caractéristiques de cellules à mémoire. Le rôle de ces cellules n'est pas éclairci. Ces cellules pourraient être fonctionnelles, mais leur durée de survie dépend de leur élimination par la réponse immune du veau. Elles seraient donc très transitoires. Parmi les autres facteurs transmis par le lait, on peut citer l'acide lactique, l'interféron, le lysozyme, la lactoferrine et les composés C3 et C4 du complément (Goddeeris, 1998).

La durée de l'immunité passive est relativement courte. En moyenne, la demi-vie des IgG1 et IgG2 est de 16 à 38 jours; elle est de 4 jours pour les IgM et de 2,5 jours pour les IgA (Menanteau-Horta *et al.*, 1985; Goddeeris, 1998; Lemaire *et al.*, 2000a et 2000b).

Malgré la courte demi-vie des IgA d'origine colostrale ou lactogène, ces immunoglobulines peuvent contribuer à la protection locale dans la lumière intestinale, après l'arrêt de l'absorption intestinale. En effet, la tétée ou l'administration de lait fournit au veau un apport journalier en immunoglobulines qui restent dans la lumière intestinale avant inactivation. De plus, la concentration en IgA dans le lait augmente au cours de la lactation et ce phénomène pourrait contribuer à la protection envers les agents entéropathogènes, et en particulier le rotavirus (Rimmelzwaan et Osterhaus, 1997; Goddeeris, 1998).

Dans certains cas, l'immunité passive peut avoir un effet paradoxal. En effet, l'administration d'anticorps anti-viraux peut produire un effet potentiateur sur une infection ultérieure (*antibody disease enhancement*). Les anticorps s'impliqueraient avec les virus dans des complexes immuns qui faciliteraient leur phagocytose par les macrophages et leur dissémination dans l'organisme (Rimmelzwaan et Osterhaus, 1997). Sans atteindre des conséquences aussi dramatiques, certains herpèsvirus possèdent des glycoprotéines, notamment gE, exhibant un récepteur pour la fraction Fc des immunoglobulines. La présence de ces glycoprotéines sur les cellules infectées provoque une accumulation d'immunoglobulines à la surface cellulaire qui perturbe la reconnaissance de ces cellules par les effecteurs de la réponse immune cellulaire (Silim *et al.*, 1990). Ainsi, en plus de son rôle dans la transmission de cellule à cellule, la glycoprotéine E (gE) du BoHV-1 pourrait être impliquée dans un mécanisme d'évasion vis-à-vis de l'immunité humorale (Lemaire *et al.*, 2001a).

Immunisation active en présence d'immunité passive

Surmonter l'interférence due aux anticorps maternels suppose plusieurs stratégies. On peut utiliser des souches vaccinales moins atténuées, des masses antigéniques plus importantes associées à des adjuvants puissants. Le site d'administration est également important. L'application de l'antigène sur une muqueuse (orale ou nasale, par exemple) permet d'éviter en partie cette interférence.

Tableau III : Immunité passive chez le veau nouveau-né

Immunité colostrale :
IgG1 et un peu d'IgA transmises par le colostrum
Anticorps passifs surtout dans le sang
Présents aussi dans les sécrétions muqueuses
Effet suppresseur sur l'immunité active
Immunité lactogène :
Uniquement protection locale intestinale
Interaction avec les infections virales :
Aggravation de la maladie par les anticorps (antibody disease enhancement)
Évasion de la réponse immune

L'IMMUNITÉ ENVERS L'INFECTION DU FŒTUS BOVIN PAR LE VIRUS BVD : LES VEAUX INFECTÉS PERSISTANTS IMMUNOTOLÉRANTS

Agent étiologique

Le virus BVD-MD appartient à la famille des *Flaviviridae*, genre *Pestivirus*, dont font aussi partie deux virus connus de longue date : le virus de la peste porcine classique et le virus de la maladie des frontières ou *Border disease virus* (BDV) chez le mouton. Le virus BVD-MD se carac-

térise par deux biotypes, cytopathogène et non cytopathogène, différenciables en culture cellulaire. Le biotype cytopathogène se multiplie très peu chez le bovin en primo-infection et n'est pratiquement pas réisolé (Lambot *et al.*, 1998). Au contraire, le biotype non cytopathogène est excrété par voie nasale et produit une virémie plus longue. Les souches cytopathogènes constituent donc une impasse épidémiologique. Bien que de nombreuses manifestations cliniques puissent être associées à l'infection du bovin par ce virus telles que de l'immunodépression, de la diarrhée, un syndrome hémorragique et de l'infécondité, le but de ce chapitre est de se focaliser sur les conséquences directes et indirectes de l'infection du fœtus par le virus BVD-MD tant d'un point de vue pathologique qu'épidémiologique (Pastoret *et al.*, 1997).

Conséquences directes de l'infection du fœtus par le virus BVD-MD

Le passage transplacentaire du virus n'est possible que pour les souches non cytopathogènes et provoque soit l'avortement, soit l'apparition d'anomalies congénitales, soit une infection persistante du fœtus. L'avortement survient durant les six premiers mois de la gestation. La vache avorte entre 10 et 60 jours après l'infection. Les anomalies congénitales sont de diverses natures. Il est à noter que le fœtus infecté après 150 à 180 jours de gestation ne présente plus de lésion (Pastoret *et al.*, 1997).

Conséquences indirectes de l'infection du fœtus par le virus BVD-MD : la maladie des muqueuses

La maladie des muqueuses est l'aboutissement fatal d'un processus qui trouve son origine dans l'infection du fœtus *in utero* par une souche de biotype non cytopathogène entre le 30^e et le 125^e jour de la gestation. Les veaux qui naissent après avoir été infectés *in utero* durant cette période ne développent aucune réaction immune envers la souche de virus BVD-MD qui les a infectés. En effet, cette infection a lieu durant l'ontogenèse de l'immunocompétence spécifique impliquant que les antigènes de

la souche infectante sont considérés par le veau comme faisant partie de soi. Il est important de noter que cette immunotolérance est strictement spécifique de la souche infectante. A la naissance, le veau est donc dit "infecté persistant immunotolérant" (IPI). Il ne possède aucun anticorps dirigé contre la souche qui l'a infecté *in utero*. Néanmoins, la plupart des IPI sont immunocompétents et répondent normalement aux antigènes étrangers, ce qui implique qu'ils peuvent développer des anticorps envers les épitopes hétérologues d'autres souches du virus BVD-MD (Brownlie, 1990).

La maladie des muqueuses est déclenchée chez le veau IPI par une surinfection avec une souche de biotype cytopathogène antigéniquement identique. L'émergence de cette souche chez le veau IPI peut avoir une origine exogène (infection à partir d'un autre bovin) ou endogène (émergent par un processus de mutation du biotype non cytopathogène en biotype cytopathogène). L'animal IPI développant la maladie des muqueuses est donc porteur de deux souches, l'une non cytopathogène, l'autre cytopathogène. L'homologie entre ces deux souches va être le facteur déterminant de la sévérité de la symptomatologie observée. En cas de parfaite homologie entre les deux souches, la maladie des muqueuses sera de type aigu. Si les deux souches sont partiellement homologues, la maladie des muqueuses sera de type chronique. Finalement, si ces deux souches sont largement hétérologues, la maladie sera subclinique et une réponse en anticorps dirigée contre la souche cytopathogène hétérologue sera observée (Brownlie, 1990).

Prévention de l'infection du fœtus par le virus BVD-MD et diagnostic de la maladie des muqueuses chez le veau nouveau-né

La lutte contre le virus BVD-MD visera donc d'une part à prévenir l'infection du fœtus *in utero* et d'autre part à détecter les veaux IPI en vue de leur élimination. La prévention de l'infection du veau *in utero* peut être atteinte par vaccination des animaux reproducteurs (van Oirschot *et al.*, 1999). Le protocole de vaccination visant cet objectif peut varier d'une préparation vaccinale à une autre. La notice vaccinale devra donc toujours

mentionner la protection conférée contre la virémie et contre l'infection du fœtus. Généralement, la primo-vaccination consiste en deux injections à trois semaines d'intervalle, la deuxième injection devant être effectuée pas moins de 10 jours avant la saillie ou l'insémination artificielle. S'il s'agit d'un rappel de vaccination, celui-ci doit être effectué deux semaines avant la fécondation.

La détection des veaux IPI peut être réalisée grâce à un test de mise en évidence des antigènes (test d'antigénémie). En effet, le veau IPI ne possède pas d'anticorps dirigés contre la souche de biotype non cytopathogène qu'il héberge. Cependant, la présence d'anticorps colostraux acquis à la naissance est apte à diminuer la sensibilité du test d'antigénémie. Pour pallier ce problème, il est conseillé d'effectuer ce type de test sur des veaux de plus de 6 mois dont l'immunité passive d'origine colostrale aura disparu. Une autre approche est d'effectuer ce test sur un échantillon sanguin prélevé à la naissance avant la prise du colostrum. Bien que théoriquement infaillible, cette dernière approche ne peut exclure la présence d'une infection du fœtus en fin de gestation capable également de générer un résultat positif après test d'antigénémie. Les nouvelles méthodes de diagnostic font appel à l'amplification génique après rétrotranscription (RT-PCR) qui met en évidence l'ARN viral dans les prélèvements sanguins et le lait de tank (Radwan *et al.*, 1995). Elles ne sont pas sensibles à la présence d'anticorps colostraux.

L'IMMUNITÉ ENVERS L'INFECTION DU VEAU NOUVEAU-NÉ PAR LE ROTAVIRUS

Pathogénie de l'infection par le rotavirus bovin

L'entrée du rotavirus se fait par voie orale. L'attachement du virus sur les entérocytes est activé par des enzymes protéolytiques. Le premier site de multiplication virale est constitué des cellules épithéliales différenciées des villosités de l'intestin grêle. Ces cellules sont remplies d'antigènes viraux : la multiplication virale provoque la lyse de ces cellules et donc le raccourcissement des villosités.

sités et l'hyperplasie des cryptes intestinales. Le virus se dissémine localement dans le tube digestif et les lésions sont restreintes à l'intestin grêle. Avec l'évolution de l'infection, il y a une élimination accélérée de cellules des villosités qui sont remplacées par des cellules immatures ne possédant pas les enzymes adéquates et les fonctions d'absorption. La destruction des villosités diminue donc la production de la lactase. Le lactose non digéré fermente et induit un environnement intestinal hypertonique. L'augmentation de la pression osmotique attire les fluides dans la lumière intestinale et provoque la diarrhée. Si le veau est maintenu en vie durant quatre à cinq jours, les villosités se reconstituent et la digestion reprend normalement (Thiry, 2000).

Une souche peu virulente peut produire de la diarrhée chez le veau nouveau-né, âgé de 2 jours. Par contre, une souche virulente se caractérise par un pouvoir pathogène pouvant encore s'exercer par de la diarrhée chez le veau âgé de 6 semaines. Chez le veau nouveau-né, les entérocytes des villosités sont remplacés plus lentement. Une infection par rotavirus détruit ces cellules et rase le sommet des villosités. Chez le veau plus âgé, la vitesse de remplacement des entérocytes est accrue et l'action pathogène des rotavirus se développe lorsque la compétition entre le remplacement des entérocytes et la multiplication virale est gagnée par le virus. Dans ce cas, les souches virales les plus virulentes seront pathogènes pour le veau plus âgé. L'âge du veau confère donc une résistance envers la maladie, pas envers l'infection. Les infections subcliniques sont donc fréquentes chez les bovins de tout âge (Bridger *et al.*, 1992; Hall *et al.*, 1993).

Le rotavirus est résistant dans le milieu extérieur. L'hygiène doit également intervenir pour prévenir la transmission du virus. La séparation des veaux dans des boxes individuels est de nature à réduire la pression d'infection. L'isolement de rotavirus réassortants chez des veaux vaccinés, contenant un gène P (VP4) différent de celui du vaccin administré aux mères, est probablement à l'origine d'épisodes de diarrhée dans des exploitations vaccinées. L'émergence de virus réassortants pourrait contribuer aux échecs de vaccination contre les entérites à rotavirus chez le veau nouveau-né (Thiry, 2000).

Rôle de l'immunité passive et locale

La protection est due à la présence d'anticorps dans la lumière intestinale. Les anticorps circulants n'ont pas d'effet protecteur direct sur la diarrhée, mais la sécrétion d'IgG1 d'origine colostrale par la muqueuse intestinale doit être prise en considération. De même, l'apport d'IgG1 par le colostrum puis par le lait, ainsi que d'IgA par le lait, fournit des anticorps antiviraux au niveau de l'intestin grêle. Les IgA spécifiques neutralisent le rotavirus dans la lumière intestinale et préviennent l'attachement et la pénétration des virus dans les entérocytes (Povey et Carman, 1997).

La vaccination par voie orale du veau à la naissance est théoriquement possible. En effet, le veau nouveau-né est immunocompétent : il peut donc être immunisé activement contre le rotavirus bovin. Cette protection a été démontrée expérimentalement 72 heures après la vaccination. Cependant, elle survient trop tard si le veau est infecté en période périnatale. La période d'incubation peut être de 12 heures et le virus devance alors le développement de l'immunité active.

La vaccination du veau nouveau-né a été remplacée par l'administration au veau de colostrum et de lait riches en anticorps anti-rotavirus. La prophylaxie repose donc sur l'immunisation de la mère durant la gestation par un vaccin atténué ou inactivé. Dans ce cas précis, les vaccins inactivés sont plus efficaces car ils augmentent la concentration en anticorps chez la vache. Les vaccins actuellement disponibles sont multivalents. Outre la valence rotavirus, ils contiennent aussi la valence coronavirus et éventuellement la valence destinée à conférer une protection contre certaines souches d'*Escherichia coli* entérotoxigènes. La vache reçoit deux injections de vaccin à trois semaines d'intervalle, la deuxième étant effectuée deux semaines avant la date prévue de parturition. L'injection de rappel annuel est administrée au même moment avant la parturition. La valeur de la protection conférée au veau dépend alors de la prise correcte du colostrum (Schelcher *et al.*, 1998).

L'immunité lactogène, s'enrichissant en IgG1 au cours de la lactation, donne quotidiennement au veau au pis les anticorps spécifiques locaux.

Cela explique certains protocoles où l'injection vaccinale de rappel est réalisée le jour du part. L'immunisation passive confère un autre avantage, celui de la protection croisée envers d'autres sérotypes que celui contenu dans le vaccin. Les vaches vaccinées ont déjà été infectées par d'autres souches de rotavirus bovins. La vaccination provoque l'apparition d'anticorps hétérotypiques, dirigés contre ces autres souches virales. La vaccination avec un sérotype confère une protection plus large, envers les sérotypes déjà rencontrés par la vache.

L'immunisation passive du veau empêche le développement de la diarrhée. Cependant, elle n'empêche pas l'infection ou la réinfection, ce qui est bénéfique. En effet, ces infections subcliniques stimulent une réponse immune active et sont responsables d'une dissémination relativement contrôlée du virus dans le milieu extérieur, ce qui contribue aussi à réinfecter subcliniquement les congénères (Povey et Carman, 1997).

L'IMMUNITÉ ENVERS L'INFECTION DU NOUVEAU-NÉ PAR LE BoHV-1 : LES VEAUX SÉRONÉGATIFS PORTEURS LATENTS

La présence d'anticorps colostraux anti-BoHV-1 chez le veau nouveau-né prévient le développement d'une maladie généralisée souvent mortelle (Thiry *et al.*, 1984; Mechor *et al.*, 1987; Straub, 1990). Il est donc indispensable de conférer au veau une telle immunité passive, dans des circonstances épidémiologiques où il risque d'être infecté par le virus peu de temps après la naissance. Cependant, ces anticorps d'origine maternelle ont un autre rôle, cette fois bénéfique au virus et au maintien de l'infection virale dans la population bovine. Ils permettent en effet l'infection du veau sans maladie, avec installation du virus BoHV-1 à l'état latent (Lemaire *et al.*, 1995). Cette latence dure toute la vie de l'animal et est interrompue par des accès de réactivation et de réexcrétion où le BoHV-1 est émis à l'extérieur et peut contaminer les animaux de l'entourage (Pastoret *et al.*, 1982).

Une autre conséquence de l'infection du veau porteur d'une immunité maternelle spécifique est la possibilité de production d'animaux séronégatifs mais porteurs latents du virus BoHV-1 (SNLC : *seronegative latent carriers*). Il s'agit d'animaux infectés de manière latente par le BoHV-1 ne possédant pas d'anticorps spécifiques détectables. En effet, la présence d'anticorps passifs peut interférer avec le développement d'une réponse sérologique après vaccination (Menanteau-Horta *et al.*, 1985) mais également après infection (Lemaire *et al.*, 1995). Les veaux infectés sous le couvert d'une immunité d'origine colostrale peuvent ainsi devenir séronégatifs après disparition des anticorps maternels (Lemaire *et al.*, 1995). Ces animaux SNLC ne peuvent donc pas être repérés et constituent ainsi un danger pour les animaux voisins. Ce danger est important, surtout s'il s'agit de centres d'insémination artificielle ou d'élevages qui doivent rester indemnes de BoHV-1 dans un pays ou une région à forte prévalence d'infection (Thiry *et al.*, 1999; Lemaire et Thiry, 2001).

Plusieurs expériences avec différentes souches de BoHV-1 ont été réalisées afin de générer des SNLC. Une souche virulente (Lemaire *et al.*, 1995 et 2000a), puis une souche vaccinale atténuée conventionnelle (Lemaire *et al.*, 2000b) ont été testées. Ensuite, dans le contexte actuel de l'utilisation de vaccins marqués (Schyns *et al.*, 1998), les conséquences de l'utilisation d'une souche vaccinale atténuée déletée en gE ont également été évaluées chez de jeunes veaux (Lemaire *et al.*, 2001a et 2001b). Une expérience préliminaire a permis de montrer que l'infection sous couvert d'une immunité passive d'origine maternelle n'empêchait pas l'installation du virus à l'état latent et que ce type d'infection chez de jeunes veaux sous couvert d'une immunité passive pouvait générer des SNLC (Lemaire *et al.*, 1995). Dans une étude ultérieure, l'infection expérimentale de sept jeunes veaux sous couvert colostrale avec la souche virulente Iowa a permis d'obtenir un veau séronégatif. Le portage latent fut démontré chez ces veaux par la réactivation ultérieure du BoHV-1 après traitement à la dexaméthasone. L'inhibition de la réponse immune humorale active après infection fut

mise en évidence par l'absence d'une réponse en anticorps après l'infection, chez les veaux possédant de hauts titres en anticorps maternels. Cependant, même en l'absence de toute réponse en anticorps, une réponse immune à médiation cellulaire a pu être mise en évidence chez tous les veaux infectés grâce à un test *in vitro* de production spécifique d'interféron – gamma (IFN- γ), ceci dès la première ou la deuxième semaine jusqu'au moins la dixième semaine après infection. Un veau est devenu négatif en séroneutralisation à l'âge de 7 mois, ceci de manière comparable aux 4 veaux témoins non infectés. Ce veau est resté séronégatif en SN pendant 7 mois jusqu'au moment du traitement à la dexaméthasone. Pendant toute cette période, les résultats du test IFN- γ étaient négatifs.

Cette étude a pour la première fois démontré qu'il était possible de produire expérimentalement un veau SNLC, même après infection à l'aide d'une souche virulente du BoHV-1. D'autre part, le test IFN- γ a permis de différencier les veaux porteurs d'une immunité passive de ceux immunisés de manière active. Cependant, ce test n'a pas été capable de dépister le veau SNLC. Le défaut de détection de tels animaux représente une menace pour le contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) (Lemaire *et al.*, 2000a).

La possibilité d'un effet de la souche virale pour l'obtention de SNLC a été étudiée ensuite avec une souche atté-

nuée du BoHV-1, la souche vaccinale thermosensible (ts), qui a été très largement utilisée en Belgique. Aucune augmentation d'anticorps n'a pu être observée après vaccination chez 7 veaux possédant des anticorps colostraux spécifiques, et 4 d'entre eux sont devenus SNLC avec un test ELISA très sensible à un âge moyen de 6 à 7 mois, soit au même moment que les 7 veaux contrôles non infectés ayant reçu le même colostrum à la naissance. A l'inverse de la réponse en anticorps, une réponse immune à médiation cellulaire a été détectée à l'aide du test IFN- γ chez tous les veaux vaccinés en présence d'anticorps d'origine maternelle. Cependant, ce test n'a pu détecter efficacement les SNLC. Un traitement ultérieur aux glucocorticoïdes démontra le portage latent chez tous les veaux (Lemaire *et al.*, 2000b). Des animaux SNLC peuvent donc être aisément produits après inoculation à l'aide d'une souche vaccinale atténuée chez des veaux possédant une immunité passive et ceci quel que soit le test sérologique utilisé et en dépit d'une sensibilité très élevée (Lemaire *et al.*, 2000b). La figure 1 résume les observations obtenues. Avec la souche vaccinale gE-négative (Difivac), les 7 veaux qui avaient excrété le virus vaccinal sont devenus séronégatifs envers le BoHV-1. Les résultats obtenus ont permis de démontrer que la souche gE-négative peut s'installer à l'état latent, être réactivée et réexcrétée (Lemaire *et al.*, 2001b), ce qui était auparavant

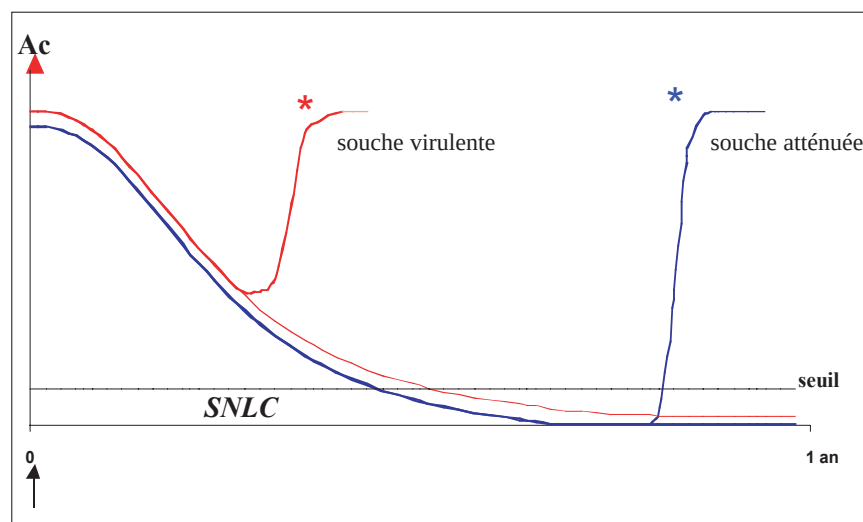


Figure 1 : Représentation schématique de la production de porteurs latents séronégatifs du BoHV-1 (SNLC) avec influence de la souche de BoHV-1 d'épreuve. Les lignes grasses représentent l'évolution la plus fréquente. La fréquence de production de SNLC dépend de l'absence de réactivation virale avec augmentation du taux d'anticorps (*). La ligne horizontale montre le seuil de positivité et la flèche indique le jour d'infection.

très controversé (Mars *et al.*, 2000). De plus, du DNA viral a été détecté dans les ganglions trijumeaux d'animaux totalement dépourvus d'anticorps anti-BoHV-1. Ces résultats mettent en lumière des problèmes d'innocuité par rapport à l'utilisation massive de ce vaccin vivant dans les programmes d'éradication de l'IBR (Lemaire *et al.*, 2001b).

L'infection par le BoHV-1 en période néonatale constitue donc un bon exemple de l'interférence conférée par les anticorps d'origine maternelle sur l'induction d'une réponse immunitaire active. L'immunité active humorale est prévenue surtout lorsque les veaux sont infectés par une souche virale peu virulente en présence de taux élevés d'anticorps spécifiques d'origine colostrale. Cependant, l'amorce d'une réponse immunitaire active est démontrée par la présence de lymphocytes capables de sécréter de l'IFN- γ en présence du BoHV-1 (Lemaire *et al.*, 2000a; 2000b; 2001b). Cette amorce explique aussi que l'exposition ultérieure de ces veaux à une stimulation antigénique résulte en une réponse immunitaire secondaire (Thiry *et al.*, 1994).

De manière surprenante, de longues périodes d'excrétion virale en présence d'anticorps maternels ont été observées après infection avec une souche virulente et même après vaccination avec une souche atténuée conventionnelle (Straub, 1990; Lemaire *et al.*, 1999; 2000a; 2000b). Alors que l'excrétion de la souche vaccinale conventionnelle positive en gE n'était pas réduite et semblait même être prolongée en présence d'anticorps maternels, l'excrétion de la souche vaccinale gE-négative a été considérablement et significativement réduite chez les veaux passiv-

ment immunisés par rapport aux veaux séronégatifs (Lemaire *et al.*, 2001a). Ces résultats suggèrent que la gE du BoHV-1 pourrait être également impliquée dans un mécanisme d'évasion de l'immunité humorale, comme cela a été décrit pour d'autres alphaherpèsvirus et notamment pour l'herpèsvirus simplex 1, où le complexe entre gE et la glycoprotéine I présente une activité réceptrice pour le domaine Fc des IgG permettant ainsi à la cellule infectée d'échapper à la présence d'anticorps spécifiques (Nagashunmugam *et al.*, 1998). Ainsi, l'infection naturelle des veaux possédant des anticorps passifs d'origine maternelle pourrait également constituer un bon modèle pour l'investigation du caractère immuno-évasif commun aux alphaherpèsvirus (Lemaire *et al.*, 2001a).

CONCLUSIONS

Bien que le veau nouveau-né possède un système immunitaire capable de répondre à une stimulation antigénique, il est considéré comme moins immunocompétent que l'adulte. L'apport de l'immunité colostrale est donc essentielle pour sa protection envers différentes espèces virales pathogènes telles que les rotavirus entériques.

Les particularités du système immunitaire chez le fœtus bovin et chez le nouveau-né interviennent également en favorisant des infections non létales et en permettant ainsi le maintien des virus au sein des populations. Le cas du BoHV-1 est remarquable, car l'immunité passive d'origine colostrale contrôle les signes cliniques de l'infection, tout en permettant la multiplication virale et l'instal-

lation du virus à l'état latent. Non moins remarquable est l'exemple du virus BVD-MD qui, sous certaines conditions, échappe littéralement au système immunitaire, ce qui indirectement induit la dissémination virale grâce aux animaux IPI.

SUMMARY

Characteristics of the immune system of the bovine fetus and neonate. Consequences for the prevention and diagnosis of viral infections

In this review the characteristics of the immune system of the bovine fetus and neonate are presented. These characteristics are important for the prevention and diagnosis of viral infections. Three examples are illustrated in this review : direct and indirect consequences of the infection of the fetus by the bovine viral diarrhoea virus ; guidelines for a prevention and diagnosis of this viral infection are given; the infection of the neonate by rotaviruses where colostrum immunity has a key role in the prevention of the disease; the infection of the neonate by bovine herpesvirus 1 in the presence of colostrum immunity which does not prevent latency and can lead to seronegative latent carriers after the disappearance of maternal antibodies.

BIBLIOGRAPHIE

- BRIDGER J.C., HALL G.A., PARSONS K.R. A study of the basis of the virulence variation of bovine rotaviruses. *Vet. Microbiol.*, 1992, **33**, 169-174.
- BROWNLIE J. Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Microbiol.*, 1990, **23**, 371-382.
- GODDEERIS B. Immunology of cattle. In: Pastoret P.-P., Griebel P., Bazin H., Govaerts A. (Eds), Handbook of vertebrate immunology. Academic Press: San Diego, 1998, 439-484.
- HALL G.A., BRIDGER J.C., PARSONS K.R., COOK R. Variation in rotavirus virulence: a comparison of pathogenesis in calves between two rotaviruses of different virulence. *Vet. Pathol.*, 1993, **30**, 223-233.
- JANSSEN O., SANZENBACHER R., KABELITZ D. Regulation of activation-induced cell death of mature T-lymphocyte populations. *Cell Tissue Res.*, 2000, **301**, 85-99.
- LAMBOT M., JORIS E., DOUART A., LYAKU J., LETESON J.-J., PASTORET P.-P. Evidence for biotype-speci-

- fic effects of bovine viral diarrhoea virus on biological responses in acutely infected calves. *J. Gen. Virol.*, 1998, **79**, 27-30.
- LEMAIRE M., THIRY E. Les bovines séronégatifs porteurs latents du BHV-1 et vaccination du nouveau-né. In: Proceedings : actualités en buiatrie. Société française de Buiatrie, Paris, 2001, 112-123.
- LEMAIRE M., MEYER G., ERNST E., VANHERREWEGHE V., LIMBOURG B., PASTORET P.-P., THIRY E. Latent bovine herpesvirus 1 infection in calves protected by colostral immunity. *Vet. Rec.*, 1995, **137**, 70-71.
- LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., THIRY E. Antibody response to glycoprotein E after bovine herpesvirus type 1 infection in maternally immunised gE-negative calves. *Vet. Rec.*, 1999, **144**, 172-176.
- LEMAIRE M., MEYER G., BARANOWSKI E., SCHYNTS F., WELLEMANS G., KERKHOF S., THIRY E. Production of bovine herpesvirus type 1 seronegative latent carriers by administration of a live-attenuated vaccine in passively immunized calves. *J. Clin. Microbiol.*, 2000a, **38**, 4233-4238.
- LEMAIRE M., WEYNANTS V., GODFROID J., SCHYNTS F., MEYER G., LETESSON J.-J., THIRY E. Effects of bovine herpesvirus type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency. *J. Clin. Microbiol.*, 2000b, **38**, 1885-1894.
- LEMAIRE M., HANON E., SCHYNTS F., MEYER G., THIRY E. Specific passive immunity reduces the excretion of glycoprotein E-negative bovine herpesvirus type 1 vaccine strain in calves. *Vaccine*, 2001a, **19**, 1013-1017.
- LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., GEORGIN J.-P., BARANOWSKI E., ROS C., BELAK S., THIRY E. Latency and reactivation of a glycoprotein E negative bovine herpesvirus type 1 vaccine : influence of virus load and effect of specific maternal antibodies. *Vaccine*, 2001b, **19**, 4795-804.
- MARS M.H., DE JONG M.C., VAN OIRSCHOT J.T. A gE-negative bovine herpesvirus 1 vaccine strain is not re-excreted nor transmitted in an experimental cattle population after corticosteroid treatments. *Vaccine*, 2000, **18**, 1975-1981.
- MECHOR G.D., ROUSSEAUX C.G., RADOSTITS O.M., BABIUK L.A., PETRIE L. Protection of newborn calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinated cows. *Can. J. Vet. Res.*, 1987, **51**, 452-459.
- MENANTEAU-HORTA A.M., AMES T.R., JOHNSON D.W., MEISKE J.C. Effect of maternal antibody upon vaccination with infectious bovine rhinotracheitis and bovine virus diarrhoea vaccines. *Can. J. Comp. Med.*, 1985, **49**, 10-14.
- NAGASHUNMUGAM T., LUBINSKI J., WANG L., GOLDSTEIN L.T., WEEKS P., SUNDARESAN B.S., KANG E.H., DUBIN G., FRIEDMAN H.M. In vivo immune evasion mediated by the herpes simplex virus type 1 immunoglobulin G Fc receptor. *J. Virol.*, 1998, **72**, 5351-5359.
- PASTORET P.-P., THIRY E., BROCHIER B., DERBOVEN G. Bovine herpesvirus 1 infection of cattle : pathogenesis, latency, consequences of latency. *Ann. Rech. Vét.*, 1982, **13**, 221-235.
- PASTORET P.-P., HAMERS C., LECOMTE C., LAMBOT M. Biologie et épidémiologie de l'infection par le virus de la diarrhée virale bovine BVD/MD. *Point Vét.*, 1997, **28**, 1979-1983.
- POVEY R.C., CARMAN P.S. Technical basis of vaccination. In: Pastoret P.-P., J. Blancou, P. Vannier, G. Verschueren (Eds), *Veterinary Vaccinology*. Elsevier : Amsterdam, 1997, 519-580.
- RADWAN G.S., BROCK K.V., HOGAN J.S., SMITH K.S. Development of a PCR amplification assay as a screening test using bulk milk samples for identifying dairy herds infected with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Microbiol.*, 1995, **44**, 77-92.
- RIMMELZWAAN G.F., OSTERHAUS A.D.M.E. The immune response. In: Pastoret P.-P., J. Blancou, P. Vannier, G. Verschueren (Eds), *Veterinary Vaccinology*. Elsevier : Amsterdam, 1997, 55-67.
- SCHELCHER F., BICHET H., VALARCHER J.-F., FOUCRAS G., BOUISSET S. Les vaccinations contre les gastro-entérites diarrhéiques du veau nouveau-né : que peut-on en attendre ? *Point Vét.*, 1998, **29**, 127-134.
- SCHYNTS F., LEMAIER M., BARANOWSKI E., THIRY E. La glycoprotéine gE de l'herpèsvirus bovin de type 1 et les nouveaux vaccins marqués. *Ann. Méd. Vét.*, 1998, **142**, 21-32.
- SILIM A., REKIK M.-R., ROY R.S., SALMON H., PASTORET P.-P. Immunité chez le fœtus et le nouveau-né. In: Pastoret P.-P., Govaerts A., Bazin H. (Eds), *Immunologie animale* : Flammarion, Paris, 1990, 197-204.
- STRAUB O.C. Infectious bovine rhinotracheitis virus. In: Dinter Z. et Morein B. (Eds), *Virus infections of ruminants*. Elsevier Science Publishers : Amsterdam, 1990, 71-108.
- THIRY E. Diarrhée à rotavirus bovin. In: Thiry E., *Maladies virales des ruminants*. Editions du Point vétérinaire : Paris, 2000, 49-55.
- THIRY E., DETILLEUX Ph., DE VRIESE A., PIRAK M., PASTORET P.-P. La rhinotrachéite infectieuse bovine en période néonatale : revue et exposé d'un cas. *Ann. Méd. Vét.*, 1984, **128**, 33-40.
- THIRY E., LEMAIER M., PASTORET P.-P. L'infection du fœtus bovin et du veau nouveau-né par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. In: Navetat H. et Espinasse J. (Eds), *Les infections à herpèsvirus chez les bovins*. Société Française de Buiatrie, Groupe de recherche et de développement pour l'élevage et la pathologie du veau, 1994, 12-19.
- THIRY E., LEMAIER M., SCHYNTS F., MEYER G., DISPAS M., GOGEV S. Les conséquences de l'infection des bovins par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Point Vét.*, 1999, **30**, 279-286.
- VAN OIRSCHOT J.T., BRUSCHKE C.J.M., VAN RIJN P.A. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea. *Vet. Microbiol.*, 1999, **64**, 169-183.