



Le Docteur Etienne THIRY
de l'Université de Liège

La biologie du bovine herpesvirus 4

E. THIRY, M. BUBLLOT, J. DUBUISSON, A.-S. LEQUARRE,
P. LOMONTE, M.-F. VAN BRESSEM, A. VANDERPLASSCHEN,
P.-P. PASTORET

Virologie-Immunologie,
Faculté de Médecine vétérinaire,
Université de Liège, B6 Sart Tilman, 4000 Liège.

Manuscrit déposé le 19/11/1992.

Introduction

Le bovine herpesvirus 4 (BHV-4) est un herpesvirus répandu dans le monde entier, distinct des autres herpesvirus bovins responsables de la thélite infectieuse bovine (bovine herpesvirus 2) ou de la rhinotrachéite infectieuse bovine (bovine herpesvirus 1). Certaines souches de BHV-4 ont été isolées de bovins malades, d'autres ont été isolées de bétail apparemment sain ou même de culture de cellules primaires. Peu d'isolats de BHV-4 sont réellement pathogènes; la majorité d'entre eux induisent peu ou pas de signes cliniques lors d'infection expérimentale de bovins (Thiry et al., 1989, 1990).

Le BHV-4 infecte des cellules mononucléées sanguines (Osorio et Reed, 1983). Il peut être isolé virtuellement de tous les organes. Son isolement d'un tissu ou d'un organe ne signifie pas son rôle dans les lé-

sions observées, mais peut simplement résulter de sa présence incidente dans des cellules sanguines au moment de la récolte du prélèvement. Tout diagnostic de BHV-4 doit donc être posé avec beaucoup de prudence. Cela explique aussi la variété de conditions dans lesquelles le BHV-4 a été isolé (Moreno-Lopez et al., 1989).

Le BHV-4 a été isolé de cinq groupes d'entités cliniques : les deux souches de référence ont été isolées de cas de kératoconjunctivite (souche Movar 33/63) ou de maladie respiratoire (souche DN599) (Mohanty et al., 1972; Bartha et al., 1966). La souche Movar 33/63 est incapable de reproduire expérimentalement des signes cliniques. Les symptômes respiratoires observés après inoculation de veaux avec la souche DN599 ne peuvent pas être assignés au rôle unique du BHV-4

Résumé

Le bovine herpesvirus (BHV-4) est un herpesvirus ubiquiste du bovin. Il a été isolé d'une grande variété de maladies sans être reconnu comme l'agent causal d'une entité déterminée, excepté la métrite post-partum. Le génome du virus a été caractérisé. Il se compose d'une séquence unique de DNA bicaténaire de 110 kb flanquée à ses deux extrémités de séquences de 1450 à 3050 bp répétées en tandem. Le BHV-4 est un gammaherpesvirus qui présente d'étroites homologies génomiques avec l'herpesvirus du saimiri (HVS) et, dans une moindre mesure, avec le virus Epstein-Barr (EBV). L'arrangement des gènes du BHV-4 est colinéaire avec les génomes de l'HVS et du EBV : cinq blocs de gènes sont conservés parmi ces virus. Les protéines du BHV-4, et particulièrement les glycoprotéines, sont exprimées en cascade, comme pour les autres herpesvirus. Les herpesvirus isolés respectivement du chat (feline herpesvirus 2) et du douroucouli (*Aotus trivirgatus*; herpesvirus aotus 2) sont en réalité des souches de BHV-4. Le spectre d'espèces sensibles au BHV-4 est donc étendu à d'autres animaux que des ruminants.

puisque *Pasteurella multocida* était isolé concomitamment. Le BHV-4 a aussi été isolé de lésions cutanées, notamment de dermite aiguë pustuleuse mammaire, sans que l'inoculation expérimentale ne puisse reproduire ces symptômes (Reed et al., 1977; Osorio et Reed, 1983).

L'isolement du BHV-4 de cas de coryza gangréneux est dû au tropisme du virus pour les cellules sanguines, qui sont prélevées dans le cadre de tentatives d'isolement de l'agent causal du coryza gangréneux (Liebermann et al., 1967; Storz, 1908). Enfin, une souche de BHV-4 a également été isolée de matières fécales d'une vache diarrhéique, mais son inoculation expérimentale n'a reproduit aucun symptôme (Eugster, 1978/1979).

L'implication du BHV-4 dans les maladies du tractus génital est étayée par plusieurs résultats. Le virus a été associé à la métrite post-partum et la reproduction expérimentale de cette affection a été réussie (Wellemans et al., 1984; 1986). Le virus a aussi été isolé de cas d'avortement (Reed et al., 1979), mais son rôle n'est pas définitivement élucidé (Wellemans et al., 1989). Une souche de BHV-4 isolée

de cas d'orchite œdémateuse en Belgique a produit de manière inconstante des lésions dans le testicule après inoculation expérimentale intratesticulaire (Thiry et al., 1981; Dubuisson et al., 1987).

Le rôle du BHV-4 dans les maladies du bovin reste donc matière à discussion. La prévalence d'exploitations séropositives pour le BHV-4 est de 28,7 % en région wallonne en Belgique (Van Malderen et al., 1987). Le virus est donc présent de manière significative, sans être la cause d'épidémies importantes. Néanmoins, son rôle dans les maladies de la sphère génitale, métrite post-partum et avortement, doit être mieux précisé. De même, la possibilité que ce virus agisse comme facteur associé dans diverses pathologies mérite d'être explorée.

Outre son pouvoir pathogène, le BHV-4 fait l'objet d'autres controverses. Peut-il infecter d'autres espèces que le bovin ? Quels sont les sites de latence potentiels du BHV-4 ? Quelle est sa place au sein des herpesvirinae ? Cet article présente une revue des aspects moléculaires du BHV-4 qui ont été récemment mis en évidence et des hypothèses concernant la biologie de son infection chez le bovin.

Structure du bovine herpesvirus 4

Le BHV-4 est un virus enveloppé composé d'une nucléocapside de symétrie cubique contenant un DNA bicaténaire de $144 \pm \text{Kb}$ (Todd et Storz, 1983; Ehlers et al., 1985). Les cartes de restriction du génome ont été établies (Bublout et al., 1990). Les variations génomiques observées entre souches sont faibles et ont été détaillées dans des articles récents (Bublout et al., 1991a; Thiry et al., 1992) (figure 1).

Vingt-neuf protéines structurales sont identifiées dans le virus purifié et une protéine de 140K est probablement la protéine majeure de capsid (Dubuisson et al., 1989a). Dix polypeptides sont glycosylés. Quatre glycoprotéines ont été caractérisées jusqu'à présent : gp1 possède un haut poids moléculaire ($> 300 \text{ K}$) et contient des glycanes N-liés (Dubuisson et al., 1992b). Gp6/gp10/gp17 est un complexe de trois glycopolypeptides contenant des glycanes N-liés (Dubuisson et al., 1990, 1991a et b); gp10 et gp7 sont liés par des ponts disulfures; gp6 est liée aux autres par des liaisons non covalentes. Le précurseur p(gp10/gp17) a aussi été identifié (Dubuisson et al., 1989a; 1991b). Gp8 est une glycoprotéine

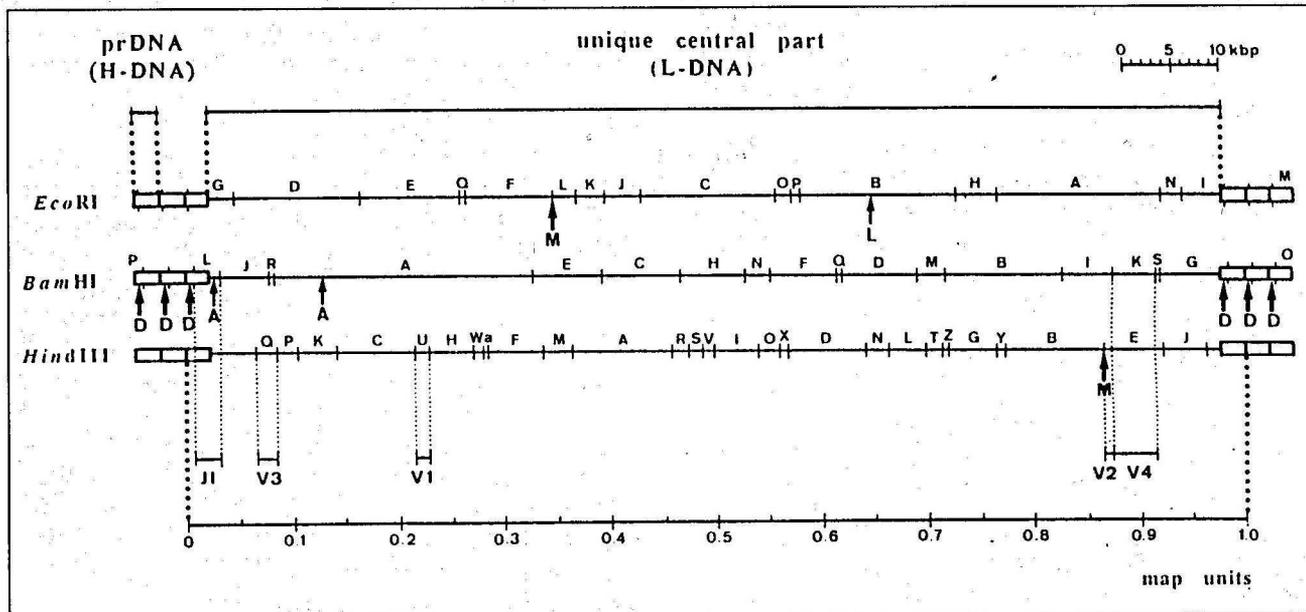


Figure 1

Structure génomique du bovine herpesvirus 4 (BHV-4). Le DNA viral est composé d'une séquence unique centrale flanquée de séquences répétées en tandem (DNA polyrépétitif ou prDNA). Trois séquences répétées sont représentées à chaque extrémité du génome; leur nombre total est d'environ 15. Les cartes de restrictions obtenues pour les enzymes *EcoRI*, *BamHI* et *HindIII* sont données; M : sites de restriction spécifiques de la souche Movar 33/63; D : sites de restriction spécifiques de la souche DN599; L : sites de restriction spécifiques de la souche LVR140. A : sites de restriction spécifiques pour l'herpesvirus aotus 2. V1, V2, V3, V4, J1 : régions montrant des variations de taille entre isolats et souches de BHV-4 (reproduit avec permission selon Thiry et al., 1992).

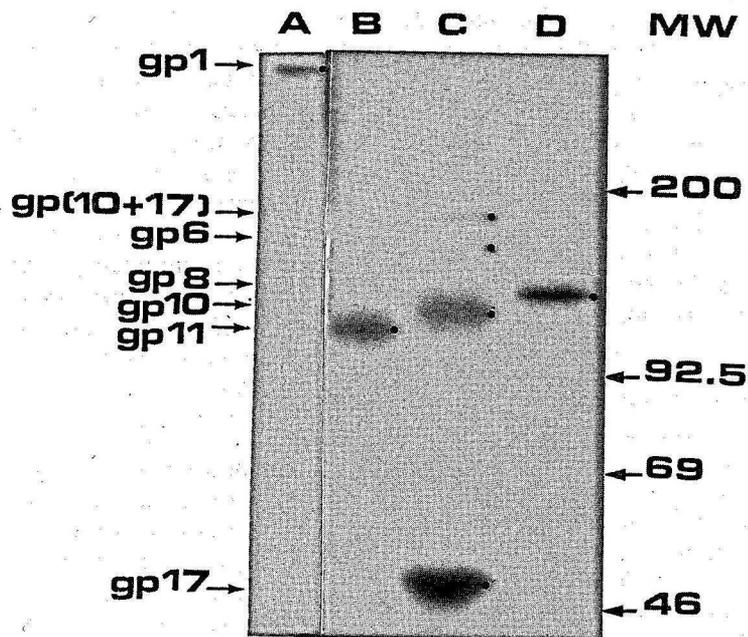


Figure 2
 Profil des glycoprotéines du bovine herpesvirus 4 (BHV-4). Autoradiographie d'immunoprécipitations obtenues sur des lysats de cellules infectées, marquées à la ^3H -glucosamine avec des anticorps monoclonaux spécifiques. A : gp1; B : gp11; C : gp6/gp10/gp17; D : gp8 (reproduit avec permission selon Thiry et al., 1992).

présente à la fois dans le virion et dans le milieu de culture des cellules infectées (Dubuisson et al., 1992a). Elle est peu glycosylée. Gp11 contient des glycans N-liés et est liée de manière non covalente à un polypeptide non glycosylé, VP24 (Dubuisson et al., 1990, 1991b) (figure 2).

La structure du génome est typique du groupe B des herpesvirus (Roizman et al., 1992). Une séquence unique centrale, appelée L-DNA, a une taille de 108 ± 2 Kb, et est flanquée à ses deux extrémités de répétitions en tandem, appelées H-DNA ou DNA polyrépétitif (pr DNA), dont la taille varie de 1450 à 3050 bp (Bublot et al., 1990) (figure 1). La teneur en G+C varie de 68 % pour le H-DNA à 40,3 % pour le L-DNA (Bublot et al., 1990, 1992).

L'analyse de la fréquence en dinucléotides dans les séquences de DNA de la partie unique montre une réduction de la teneur en dinucléotide CpG (Bublot et al., 1990, 1992). Ces données suggèrent que le génome du virus à l'état latent est méthylé et est présent dans des cellules capables de méthylation *de novo* (Honest et al., 1989)

Cours de l'infection du bovin par le bovine herpesvirus 4

Le BHV-4 est régulièrement isolé à la fois du tractus respiratoire antérieur et des voies génitales externes. Seule l'infection par voie respiratoire a été étudiée de manière expérimentale. L'infection par voie génitale ne peut être exclue, mais aucune preuve n'en a encore été apportée. D'autres voies d'inoculation ont été utilisées expérimentalement : injections intraveineuse, intradermique et intratesticulaire (Osorio et Reed, 1983; Dubuisson et al., 1987; 1989c).

La connaissance de la biologie de l'infection du bovin par le BHV-4 est encore fragmentaire. Certaines hypothèses peuvent néanmoins être posées, en fonction des données qui sont déjà disponibles.

La multiplication primaire du virus se déroule vraisemblablement dans les muqueuses, puis le virus se propagerait dans le corps par des cellules mononucléées infectées (Osorio et Reed, 1983). Cette virémie n'est pas toujours détectable, mais l'infection virale se généralise (Dubuisson et al., 1987). Les cellules

mononucléées infectées par le BHV-4 ne sont pas caractérisées. Chez le lapin, le BHV-4 infecte des cellules mononucléées non-B et non-T. Chez le bovin, ces cellules peuvent être soit de la lignée lymphoïde, soit de la lignée myéloïde.

L'infection de cellules sanguines par le BHV-4 peut avoir des conséquences sur la régulation de la réponse immune. L'altération de cette réponse pourrait expliquer l'intervention du BHV-4 comme facteur associé à une variété de symptômes différents.

Après primo-infection, le BHV-4 s'installe à l'état latent. La rate est l'organe principal supportant la latence chez le lapin infecté expérimentalement (Osorio et al., 1982, 1985b). Un type cellulaire spécifique de la rate pourrait héberger le virus à l'état latent et dans ce cas la rate serait réellement un site de latence. La rate pourrait également jouer un rôle de concentration de cellules sanguines supportant le virus à l'état latent; cette seconde hypothèse expliquerait le fait que le BHV-4 latent est réisolé plus fréquemment de la rate.

Chez le bovin, le ganglion trijumeau et des cellules mononucléées sanguines sont proposés comme sites de latence (Homan et Easterday, 1981; Krogman et McAdaragh, 1982; Osorio et Reed, 1983; Castrucci et al., 1987b). Le BHV-4 à l'état latent peut être réisolé dans de nombreux organes : sang, testicules, culture primaire de cellules rénales, etc. (Liebermann et al., 1967; Storz, 1968; Luther et al., 1971; Thiry et al., 1981; Belak et Palfi, 1974).

Plusieurs hypothèses peuvent être proposées pour expliquer la présence du BHV-4 à l'état latent dans de nombreux organes et tissus. L'infection latente serait supportée par plusieurs types cellulaires correspondant aux tissus où le virus latent est réisolé. La latence du BHV-4 pourrait également être portée par un seul type cellulaire ubiquiste (par exemple, des cellules fibroblastiques). Le siège de l'infection latente pourrait enfin être un seul type cellulaire migrant, comme les cellules lymphoïdes ou myéloïdes.

Le déficit en dinucléotide CpG observé dans le génome du BHV-4 suggère que les sites neuronaux ne sont pas de bons candidats pour le site de latence du BHV-4 puisque ces cellules différenciées ne se divisent plus et sont incapables de méthyliser le DNA (Honess et al., 1989; Bublot et al., 1992). La rate, et particulièrement les cellules en division dans cet organe, pourrait être un site potentiel de latence pour le BHV-4, de même que les cellules de la couche basale d'un épithélium ou des cellules-souches pluripotentiellles de la moelle osseuse. Il est également possible que les cellules infectées de manière latente par le BHV-4 soient immortalisées, mais cela n'a été démontré ni *in vivo* ni *in vitro*.

Le BHV-4 à l'état latent peut être réactivé par traitement à la dexaméthasone (Krogman et McAdaragh, 1982; Castrucci et al., 1987b; Dubuisson et al., 1989c). Il est alors réisolé d'écouvillons nasaux, de cellules mononucléées sanguines, de culture d'explants de moelle épinière et de ganglion trijumeau (Krogman et McAdaragh, 1982; Castrucci et al., 1987a; Dubuisson et al., 1989c). Les caractéristiques des virus réisolés après réactivation ou durant la période de latence ne diffèrent pas du virus de primo-infection. Les variations des profils de restriction du DNA viral restent consignées au niveau des séquences répétées en tandem (Dubuisson et al., 1989c).

Cascade d'expression des gènes du bovine herpesvirus 4

Les protéines du BHV-4 sont exprimées selon une cascade : les transcrits de deux protéines précoces immédiates ont été identifiés (Van Santen, 1991), alors qu'aucun polypeptide n'avait été mis en évidence en culture de cellules infectées traitées à la cycloheximide (Dubuisson et al., 1991c). Ces protéines étaient probablement masquées par les protéines cellulaires dont la synthèse n'est pas inhibée dans les cellules infectées (Augsburger et Metzler, 1989).

Le précurseur p (gp10/gp17) est défini comme un polypeptide précoce-

tardif (gamma 1) puisqu'il est exprimé en présence de l'inhibiteur de synthèse de DNA, l'acide phosphonoacétique. Les glycoprotéines gp1, gp8, gp 11 et son précurseur sont des protéines tardives (gamma 2) (Dubuisson et al., 1991c, 1992b).

Les protéines du BHV-4 suivent dès lors le modèle de régulation d'expression des gènes des autres herpesvirus (Roizman et Sears, 1990).

Le chat et le douroucouli sont-ils des hôtes naturels du bovine herpesvirus 4 ?

Parmi les ruminants, diverses espèces animales sont sensibles au BHV-4 : outre l'espèce bovine, le bison américain (*American bison*) (Todd et Storz, 1983), le buffle africain (*Syncerus caffer*) (Rossiter et al., 1989), le mouton (Van Opdenbosch et al., 1986) et la chèvre (Moreno-Lopez et al., 1989).

Le BHV-4 peut être cultivé *in vitro* sur une variété de lignées cellulaires provenant de diverses espèces animales (Thiry et al., 1989).

L'isolement du BHV-4 du lion (*Panthera leo*) (Bartha, communication personnelle) et du chat souffrant d'urolithiase (Fabricant et al., 1971) montre que le BHV-4 peut infecter des espèces très éloignées du point de vue phylogénique. Le feline herpesvirus 2 est ainsi une souche de BHV-4 (Kit et al., 1986).

La réalité de ces isollements peut être contestée car le BHV-4 a été isolé de sérum de fœtus de veau utilisé dans les milieux de culture de cellules (C. Whetstone, communication personnelle) : il pourrait s'agir d'une contamination d'une telle culture de cellules ayant servi à l'isolement viral à partir des organes des animaux. Il est néanmoins probable que le virus a été isolé du chat. De plus, l'inoculation expérimentale de chats avec le BHV-4, souche adaptée au chat, a été réussie par voie intravésiculaire (Kruger et al., 1990). Les tentatives d'inoculation du chat par la souche européenne Movar 33/63 ont échoué (Thiry et al., 1991). Elles peuvent être expliquées par un manque d'adaptation du virus au chat.

La découverte que l'herpesvirus aotus type 2 (HVA-2), isolé du singe douroucouli (*Aotus trivirgatus*) est également une souche de BHV-4 étend encore le spectre d'espèces présumées réceptives au BHV-4 (Bublot et al., 1991b). Le HVA-2 a été entièrement caractérisé. Le génome et les protéines du HVA-2 sont presque identiques à ceux du BHV-4; les différences observées sont compatibles avec les variations entre souches de BHV-4 déjà observées (Bublot et al., 1991b; Dubuisson et al., 1991b) (figure 1).

Ces deux découvertes ont amené le comité international de taxonomie virale à retirer deux espèces virales qui avaient antérieurement été identifiées : le feline herpesvirus 2 et l'herpesvirus aotus 2 n'existent donc plus (Roizman et al., 1992).

L'infection du buffle africain par le BHV-4 pourrait partiellement protéger cette espèce contre l'infection fatale par l'alcelaphine herpesvirus 1 (AHV-1), le virus du coryza gangréneux (Rossiter et al., 1989). Cette hypothèse est étayée par la protection croisée qui peut être obtenue chez le bovin par une infection par le BHV-4 contre une infection ultérieure par l'AHV-1 (Rossiter et al., 1988). La relation antigénique croisée entre ces deux virus est démontrée depuis longtemps (Rossiter et al., 1977, 1988; Osorio et al., 1985a). Un anticorps monoclonal anti-BHV-4 réagit avec l'AHV-1 (Dubuisson et al., 1989b). Les homologues de séquences de DNA ne doivent pas être importantes entre les deux virus. En effet, l'hybridation croisée entre les DNA des deux virus ne donne pas ou peu de résultats positifs (Bridgen et al., 1989; Seal et al., 1989a, b); l'hybridation est surtout intense au niveau des séquences répétées des deux virus (Bridgen et al., 1989).

Ces données sont manifestement insuffisantes pour proposer au BHV-4 le moindre rôle dans l'étiologie de la forme européenne du coryza gangréneux (Liebermann et al., 1967; Storz, 1968). L'isolement du virus dans des cas cliniques de coryza gangréneux est accidentel et est expliqué par sa présence dans les cellules mononucléées sanguines qui

sont précisément récoltées en cas de coryza gangréneux.

Le BHV-4 est donc isolé d'une grande diversité d'espèces. Si l'infection de ruminants, phylogéniquement proches du bovin, est aisément explicable, l'infection du chat et du douroucouli l'est moins. Les études portant sur la présence d'anticorps anti-BHV-4 dans les populations félines donnent des résultats controversés.

L'infection naturelle du chat par le BHV-4 ou un virus apparenté n'est donc pas encore démontrée. Néanmoins, le chat a été infecté expérimentalement avec succès. Le chat est donc sensible au BHV-4, quelle que soit l'origine réelle des premiers isolats félines. Le virus isolé du douroucouli n'est pas pathogène pour les primates (Fuchs et al., 1985), mais la sensibilité de ce singe n'est pas définitivement établie. Cependant, une enquête sérologique menée dans différents centres de primates a montré des prévalences significatives d'animaux possédant des anticorps anti-BHV-4 (Barahona et al., 1973).

Le BHV-4 a été isolé de lots de sérum de fœtus de veau, utilisé pour la confection des milieux de culture de cellules (C. Whetstone, communi-

cation personnelle). L'isolement du virus en culture de cellules inoculée avec des prélèvements de diagnostic peut être dû à une contamination du milieu plutôt qu'à la présence de BHV-4 dans le prélèvement. De plus, les vaccins vivants pourraient être contaminés par le BHV-4 et l'acte de vaccination transmettrait le virus à des animaux naturellement non exposés au BHV-4. Tout autre matériel biologique pourrait de la même manière être contaminé par le virus (Thiry et al., 1992). La présence du BHV-4 chez le chat et le douroucouli peut donc trouver plusieurs explications. Les séropositivités envers le BHV-4 observées dans ces deux espèces peuvent aussi s'expliquer par l'existence d'herpesvirus antigéniquement apparentés au BHV-4 provoquant des réactions sérologiques croisées.

Le bovine herpesvirus 4 est proche parent de l'herpesvirus du saimiri

La structure génomique du BHV-4 présente de grandes similitudes avec le DNA de l'HVS qui possède également des répétitions en tandem riches en G + C à chaque extrémité (Ehlers et al., 1985; Bublot et al., 1990). L'analyse de courtes séquences de DNA réparties sur l'en-

semble du génome du BHV-4 a permis de déduire l'arrangement général des gènes et des blocs de gènes (Bublot et al., 1992). Vingt-trois séquences homologues de l'HVS ont été mises en évidence. Parmi celles-ci, 19 font partie de blocs de gènes conservés parmi les gammaherpesvirus et les alphaherpesvirus et/ou les bêtaherpesvirus. Les séquences en acides aminés correspondantes sont toujours plus proches de celles de gammaherpesvirus que d'alpha- ou bêtaherpesvirus. De manière plus précise, l'homologie de séquences en acides aminés était encore plus grande entre le BHV-4 et l'HVS qu'entre le BHV-4 et l'EBV (Bublot et al., 1992) (figure 3).

Les séquences identifiées chez le BHV-4 sont homologues à certains gènes dont la fonction est connue. Elles sont placées dans cinq blocs de gènes conservés parmi les gammaherpesvirus: le premier bloc contient les gènes codant pour la protéine majeure se fixant au DNA, l'homologue de la glycoprotéine B et la DNA polymérase; le second bloc renferme les gènes codant pour la thymidine kinase, l'homologue de la glycoprotéine H, la protéine majeure de capsid, le gène épissé, l'exonucléase alcaline et l'uracil-DNA glycosylase; le troisième bloc

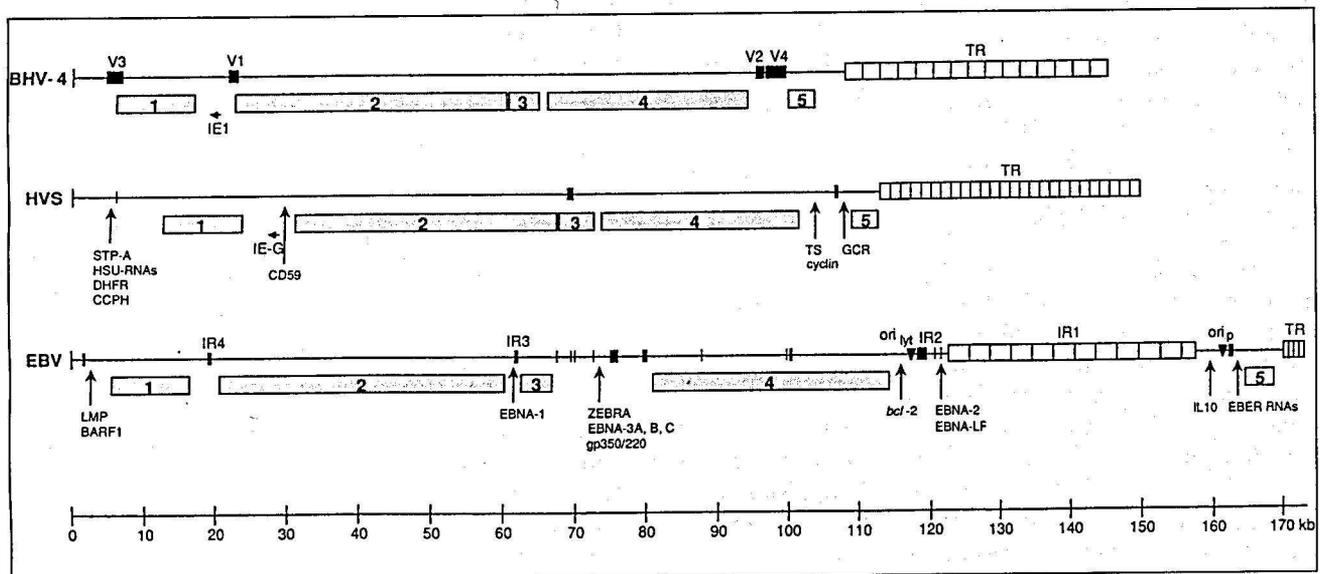


Figure 3

Comparaison des génomes du bovine herpesvirus 4 (BHV-4), de l'herpesvirus saimiri (HVS) et du virus Epstein-Barr (EBV). Les 5 blocs de gènes conservés parmi les gammaherpesvirus sont représentés par des rectangles ombrés. IE-1 est le gène codant pour le transcrite précoce-immédiat majeur du BHV-4; IE-G est le gène précoce-immédiat majeur du HVS. Les flèches verticales indiquent la position des gènes les plus importants localisés en dehors des blocs de gènes conservés; ces gènes sont désignés par leur abréviation. Les origines de répliation de l'EBV sont indiquées par des triangles (ori_{LT} et ori_p). Les séquences répétées terminales (TR) et internes (IR) sont représentées par des rectangles ouverts. Les séquences répétées internes de courte longueur sont indiquées par des barres verticales. V1, V2, V3 et V4 sont les régions du DNA du BHV-4 qui varient de taille selon les isolats (reproduit avec permission selon Bublot et al., 1992).

contient trois gènes spécifiques des gammaherpesvirus (gènes codant pour les homologues de BRRF2, BRRF1 et BRLF1 de l'EBV); le quatrième bloc est composé des gènes codant pour la déoxyuridine triphosphatase, la ribonucléotide réductase et la grande protéine de tégument; le gène spécifique des gammaherpesvirus codant pour l'antigène de membrane constitue le cinquième bloc (Bublot et al., 1992). Les blocs 1, 2 et 4 sont partiellement conservés chez les alpha- et les bêtaherpesvirus (figure 3).

Le gène de la thymidine kinase, situé dans le bloc 2, a été complètement séquencé (Lomonte et al., 1992). Il renferme 1335 nucléotides. Il code pour une protéine de 445 acides aminés dont la séquence est peu conservée, même parmi les gammaherpesvirus, excepté au niveau des sites actifs.

Il existe néanmoins des séquences de BHV-4 qui ne sont homologues à aucun gène de l'EBV ou l'HVS. Elles sont localisées entre les blocs de gènes. Le gène codant pour le transcrit précoce immédiat majeur est situé entre les blocs de gènes 1 et 2 (Bublot et al., 1992; Van Santen, 1991). Ce gène comprend 4 exons. Par contre, le gène codant pour le deuxième transcrit précoce immédiat est homologue au gène BRLF1 de EBV et est situé dans le bloc 3 (Bublot et al., 1992; Van Santen, 1991). Les régions qui varient de taille selon les isolats de BHV-4 sont principalement situées entre les blocs de gènes conservés (Bublot et al., 1992; Thiry et al., 1992).

Ces régions situées entre les blocs de gènes conservés de l'HVS et de l'EBV contiennent des gènes importants pour la biologie de ces virus. Certains de ces gènes sont indiqués dans la figure 3. Leurs produits d'expression jouent un rôle dans la latence virale (HSU-RNA de l'HVS, EBER, LMP, EBNA de l'EBV), dans la reconnaissance du récepteur cellulaire (gp350/220 de l'EBV), dans la transactivation (IE-G de l'HVS; ZEBRA de l'EBV), dans l'immortalisation des cellules (STP-A de l'HVS; BARFI, EBNA-2 de l'EBV). Ces régions renferment également des gènes homologues à des

gènes cellulaires (IL-10, bcl-2 de l'EBV; DHFR, TS, CCPH, GCR, cyclin, CD59 de l'HVS).

Conclusions

Le BHV-4 est bien un herpesvirus bovin. Son isolement d'autres espèces animales doit être considéré comme accidentel. Il pourrait néanmoins représenter un exemple possible d'adaptation à de nouvelles espèces hôtes.

L'élucidation de la structure génomique du BHV-4 le classe désormais comme gammaherpesvirus bovin en compagnie de l'alcelaphine herpesvirus 1, virus du coryza gangréneux, dont il partage certains motifs antigéniques.

Le rôle pathogène de ce virus ubiquiste chez le bovin reste à déterminer. Outre son action dans la métrite post-partum, le virus est isolé d'une grande variété de symptômes. Si, dans de nombreux cas, son caractère non pathogène ne fait aucun doute, le BHV-4 a néanmoins été proposé comme intervenant dans certains syndromes, comme l'avortement, bien que les preuves définitives manquent encore (Wellemans et al., 1984, 1989). L'étude des cellules qui supportent l'infection aiguë et latente du BHV-4 chez le bovin apportera des éléments de réponse à l'action pathogène du virus chez le bovin.

Remerciements

Ce texte présente des résultats de recherche du Programme national d'impulsion à la recherche fondamentale dans les Sciences de la vie, mis en œuvre à l'initiative de l'Etat belge — services du Premier Ministre — Programmation de la Politique scientifique. La responsabilité scientifique est assumée par ses auteurs. J. Dubuisson est Chargé de Recherches au F.N.R.S. A. Vanderplasschen est Aspirant F.N.R.S.

Summary

The biology of bovine herpesvirus 4

Bovine herpesvirus 4 (BHV-4) is an ubiquitous herpesvirus of cattle. It has been isolated from a variety of diseases without being recognised as the etiological agent of a defined disease, with the exception of post-partum metritis. The viral genome was characterised. It contains a unique sequence of double-stranded DNA of 110 kb, flanked at both ends by tandem repeated 1450 to 3050 bp long sequences. BHV-4 is a gammaherpesvirus which shares strong genomic homologies with herpesvirus saimiri (HVS) and, to a lesser extent, with Epstein-Barr virus (EBV). Gene arrangement in BHV-4 is collinear with HVS and EBV genomes: five blocks of genes are conserved among these viruses. BHV-4 proteins, especially glycoproteins, are expressed in a cascade fashion, like the other herpesviruses. Herpesviruses isolated respectively from cat and owl monkey (*Aotus trivirgatus*) are in fact strains of BHV-4. The range of species susceptible to BHV-4 is therefore extended to other animal species than ruminants.

BIBLIOGRAPHIE

- AUGSBURGER H.R., METZLER A.E. In vitro growth characteristics of bovine herpesvirus 4 (BHV-4) as revealed by indirect immunofluorescence assay with monoclonal antibodies and polyvalent antisera. *Arch. Virol.*, 1989, **104**, 309.
- BARAHONA H.H., MELENDEZ L.V., KING N.W., DANIEL M.D., FRASER C.E.O., PREVILE A.C. Herpesvirus aotus type 2 : a new viral agent from owl monkeys (*Aotus trivirgatus*). *J. Infect. Dis.*, 1973, **127**, 171.
- BARTHA A., JUHASZ M., LIEBERMANN H. Isolation of a bovine herpesvirus from calves with respiratory disease and keratoconjunctivitis. *Acta Vet. Hung.*, 1966, **16**, 357.
- BELAK S., PALFI V. Characterization of a herpesvirus isolated from spontaneously degenerated bovine kidney cell culture. *Acta Vet. Hung.*, 1974, **24**, 249.
- BRIDGEN A., HERRING A.J., INGLIS N.F., REID H.W. Preliminary characterization of the Alcelaphine Herpesvirus 1 genome. *J. Gen. Virol.*, 1989, **70**, 1141.
- BUBLLOT M., VAN BRESSEM M.-F., THIRY E., DUBUISSON J., PASTORET P.-P. Bovine herpesvirus 4 genome : cloning, mapping and strain variation analysis. *J. Gen. Virol.*, 1990, **71**, 133.
- BUBLLOT M., WELLEMANS G., VAN BRESSEM M.-F., DUBUISSON J., PASTORET P.-P., THIRY E. Genomic diversity among bovine herpesvirus 4 field isolates. *Arch. Virol.*, 1991a, **116**, 1.
- BUBLLOT M., DUBUISSON J., VAN BRESSEM M.-F., DANYI S., PASTORET P.-P., THIRY E. Antigenic and genomic identity between simian herpesvirus aotus type 2 and bovine herpesvirus type 4. *J. Gen. Virol.*, 1991b, **72**, 715.
- BUBLLOT M., LOMONTE P., LEQUARRE A.-S., ALBRECHT J.-C., NICHOLAS J., FLECKENSTEIN B., PASTORET P.-P., THIRY E. Genetic relationships between bovine herpesvirus 4 and the gammaherpesviruses Epstein-Barr virus and herpesvirus saimiri. *Virology*, 1992, **190**, 654.
- CASTRUCCI G., FRIGERI F., FERRARI M., CILLI V., ALDROVANDI V., RAMPICINI L., GATTI R. A study of the pathogenesis of Bovid herpesvirus-4 in calves. *J. Vet. Med. B*, 1987a, **34**, 473.
- CASTRUCCI G., FRIGERI F., FERRARI M., PEDINI B., ALDROVANDI V., CILLI V., RAMPICINI L., GATTI R. Reactivation in calves of latent infection by Bovid herpesvirus-4. *Microbiologica*, 1987b, **10**, 37.
- DUBUISSON J., THIRY E., THOMAS I., COIGNOUL F., BUBLLOT M., VAN HEULE G., DEKEGEL D., PASTORET P.-P. Infection expérimentale de taureaux par injection intratesticulaire d'une souche de bovid herpesvirus 4 isolée d'un cas d'orchite. *Ann. Méd. Vét.*, 1987, **131**, 37.
- DUBUISSON J., BOULANGER D., BUBLLOT M., THIRY E., PASTORET P.-P. 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.*, 1989a, **70**, 1743.
- DUBUISSON J., THIRY E., BUBLLOT M., SNEYERS M., BOULANGER D., GUILLAUME J., PASTORET P.-P. Production and characterization of monoclonal antibodies to bovid herpesvirus 4. *Vet. Microbiol.*, 1989b, **19**, 305.
- DUBUISSON J., THIRY E., BUBLLOT M., THOMAS I., VAN BRESSEM M.-F., COIGNOUL F., PASTORET P.-P. Experimental infection of bulls with a genital isolate of bovine herpesvirus-4 and reactivation of latent virus with dexamethasone. *Vet. Microbiol.*, 1989c, **21**, 97.
- DUBUISSON J., GUILLAUME J., BOULANGER D., THIRY E., BUBLLOT M., PASTORET P.-P. Neutralization of bovine herpesvirus type 4 by pairs of monoclonal antibodies raised against two glycoproteins and identification of antigenic determinants involved in neutralization. *J. Gen. Virol.*, 1990, **71**, 647.
- DUBUISSON J., BUBLLOT M., WELLEMANS G., PASTORET P.-P., THIRY E. Bovine herpesvirus 4 isolates : a comparison of three major glycoproteins. *Vet. Microbiol.*, 1991a, **29**, 251.
- DUBUISSON J., DANYI S., BUBLLOT M., PASTORET P.-P., THIRY E. Comparison of proteins of simian herpesvirus aotus type 2 and bovine herpesvirus type 4. *J. Gen. Virol.*, 1991b, **72**, 1145.
- DUBUISSON J., PASTORET P.-P., THIRY E. Temporal control of bovine herpesvirus type 4 glycoprotein synthesis. *J. Gen. Virol.*, 1991c, **72**, 1429.
- DUBUISSON J., KOROMYSLOVI, PASTORET P.-P., THIRY E. Proteins of bovine herpesvirus type 4 released into the culture medium of productively infected cells : identification of a 135 K glycoprotein involved in viral attachment. *J. Gen. Virol.*, 1992a, **73**, 189.
- DUBUISSON J., PASTORET P.-P., THIRY E. Identification and characterization of the gp1 glycoprotein of bovine herpesvirus type 4. *J. Gen. Virol.*, 1992b, **73**, 1293.
- EHLERS B., BUHK, H.-J., LUDWIG, H. Analysis of bovine cytomegalovirus genome structure : cloning and mapping of the monomeric polyreplicative DNA unit, and comparison of European and American strains. *J. Gen. Virol.*, 1985, **66**, 55.
- EUGSTER A.K. Isolation of bovine herpesvirus III from diarrheic feces. *Vet. Microbiol.*, 1978/1979, **3**, 199.
- FABRICANT C.G., GILLESPIE J.H., KROOK L. Intracellular and extracellular mineral crystal formation induced by viral infection of cell cultures. *Infect. Immun.*, 1971, **3**, 416.
- FUCHS P.G., RÜGER R., PFISTER H., FLECKENSTEIN B. Genome organization of herpesvirus aotus type 2. *J. Virol.*, 1985, **53**, 13.
- HOMAN E.J., EASTERDAY B.C. Further studies of naturally occurring latent bovine herpesvirus infection. *Am. J. Vet. Res.*, 1981, **42**, 1811.
- HONESS R.W., GOMPERS U.A., BARRELL B.G., CRAXTON M., CAMERON K.R., STADEN R., CHANG Y.-N., HAYWARD G.S. Deviations from expected frequencies of CpG dinucleotides in herpesvirus DNA may be diagnostic of differences in the states of their latent genomes. *J. Gen. Virol.*, 1989, **70**, 837.
- KIT S., KIT M., ICHIMURA H., CRANDELL R., McCONNELL, S. Induction of thymidine kinase activity by viruses with group B DNA genomes : bovine cytomegalovirus (bovine herpesvirus 4). *Virus Research*, 1986, **4**, 197.
- KROGMAN L.A., McADARAGH J.P. Recrudescence of bovine herpesvirus-5 in experimentally infected calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1982, **43**, 336.
- KRUGER J.M., OSBORNE C.A., GOYAL S.M., POMEROY K.A., O'BRIEN T.D. Clinicopathologic and pathologic findings of herpesvirus-induced urinary tract infection in conventionally reared cats. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, **51**, 1649.
- LIEBERMANN H., SCHULZE P., KOKLES R., HANTSCH H. Isolierung und Identifizierung eines weiteren neuartigen bovinen Herpesvirus. *Arch. Exp. Veterinaermed.*, 1967, **21**, 761.
- LOMONTE P., BUBLLOT M., PASTORET P.-P., THIRY E. Location and characterization of the bovine herpesvirus type 4 thymidine kinase gene; comparison with thymidine kinase genes of other herpesviruses. *Arch. Virol.*, 1992, **127**, 327.
- LUTHER P.D., BRADLEY P.G., HAIG D.A. The isolation and characterization of a herpesvirus from calf kidney cell culture. *Res. Vet. Sci.*, 1971, **12**, 496.
- MOHANTY S.B., HAMMOND R.C., LILLIE M.G. A new bovine herpesvirus and its effect on experimentally infected calves. *Arch. Gesamt. Virusforsch.*, 1971, **34**, 394.
- MORENO-LOPEZ J., GOLTZ M., REHBINDER C., VALSALA K.V., LUDWIG H. A bovine herpesvirus (BHV-4) as passenger virus in ethmoidal tumours in Indian cattle. *J. Vet. Med. B*, 1989, **36**, 481.
- OSORIO F.A., REED D.E. Experimental inoculation of cattle with bovine herpesvirus-4 : evidence for a lymphoid-associated persistent infection. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, **44**, 975.
- OSORIO F.A., REED D.E., ROCK D.L. Experimental infection of rabbits with bovine herpesvirus-4 : acute and persistent infection. *Vet. Microbiol.*, 1982, **7**, 503.
- OSORIO F.A., REED D.E., VAN DER MAATEN M.J., METZ C.A. Comparison of the herpesviruses of cattle by DNA restriction endonuclease analysis and serologic analysis. *Am. J. Vet. Res.*, 1985a, **46**, 2104.

- OSORIO F.A., ROCK D.L., REED D.E. Studies on the pathogenesis of a bovine cytomegalo-like virus in an experimental host. *J. Gen. Virol.*, 1985b, 66, 1941.
- REED D.E., LANGPAP T.J., ANSON M.A. Characterization of herpesviruses isolated from lactating dairy cows with mammary pustular dermatitis. *Am. J. Vet. Res.*, 1977, 38, 1631.
- REED D.R., LANGPAP T.J., BERGELAND M.E. Bovine abortion associated with mixed Movar 33/63 type herpesvirus and bovine viral diarrhoea virus infection. *Cornell Vet.*, 1979, 69, 54.
- ROIZMAN B., SEARS A.E. Herpes simplex viruses and their replication. In: B.N. Fields and D.M. Knipe (Editors), *Virology*. Raven Press, New York, 1990, pp. 1795-1841.
- ROIZMAN B., DESROSIERS R.C., FLECKENSTEIN B., LOPEZ C., MINSON A.C., STUDDERT M.J. The family Herpesviridae: an update. *Arch. Virol.*, 1992, 113, 425.
- ROSSITER P.B., MUSHI E.Z., PLOWRIGHT W. The development of antibody in rabbit and cattle infected experimentally with an African strain of malignant catarrhal fever virus. *Vet. Microbiol.*, 1977, 2, 27.
- ROSSITER P.B., GUMM I.D., MIRANGI P.K. Immunological relationships between malignant catarrhal fever virus (Alcelaphine Herpesvirus 1) and Bovine Cytomegalovirus (Bovine Herpesvirus 3). *Vet. Microbiol.*, 1988, 16, 211.
- ROSSITER P.B., GUMM I.D., STAGG D.A., CONRAD P.A., MUKOLWE S., DAVIES F.G., WHITE H. Isolation of bovine herpesvirus-3 from African buffaloes (*Syncerus caffer*). *Res. Vet. Sci.*, 1989, 46, 337.
- SEAL B.S., HEUSCHELE W.P., KLIEFORTH R.B. Prevalence of antibodies to alcelaphine herpesvirus-1 and nucleic acid hybridization analysis of viruses isolated from captive exotic ruminants. *Am. Res. Vet. Res.*, 1989a, 50, 1447.
- SEAL B.S., KLIEFORTH R.B., WELCH W.H., HEUSCHELE W.P. Alcelaphine herpesvirus 1 and 2: SDS-PAGE analysis of virion polypeptides, restriction endonuclease analysis of genomic DNA and virus replication restriction in different cell types. *Arch. Virol.*, 1989b, 106, 301.
- STORZ J. Comments on malignant catarrhal fever. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1968, 152, 804.
- THIRY E., PASTORET P.-P., DESSY-DOIZE C., HANZEN C., CALBERG-BACQ C.M., DAGENAIS L., VINDEVOGEL H., ECTORS F. Réactivation d'un herpesvirus en culture de cellules testiculaires prélevées chez un taureau atteint d'orchite et d'azoospermie. *Ann. Méd. Vét.*, 1981, 125, 207.
- THIRY E., BUBLOT M., DUBUISSON J., PASTORET P.-P. Bovine herpesvirus 4 (BHV-4) infections of cattle. In: G. Wittmann (Editor), *Herpesvirus diseases of cattle, horses, and pigs*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, 1989, pp. 96-115.
- THIRY E., DUBUISSON J., BUBLOT M., VAN BRESSEM M.-F., PASTORET P.-P. The biology of bovine herpesvirus-4 infection of cattle. *Dische Tierärztl. Wochenschr.*, 1990, 97, 72.
- THIRY E., CHAPPUIS G., VAN BRESSEM M.-F., DUBUISSON J., BUBLOT M., PASTORET P.-P. Failure to infect cat with bovine herpesvirus type 4 strain Movar 33/63. *Vet. Rec.*, 1991, 128, 614.
- THIRY E., BUBLOT M., DUBUISSON J., VAN BRESSEM M.-F., LOMONTE P., LEQUARRE A.S., VANDERPLASSCHEN A., PASTORET P.-P. Molecular biology of bovine herpesvirus type 4. *Vet. Microbiol.*, 1992, 33, 79.
- TODD W.J. and STORZ J., 1983. Morphogenesis of a cytomegalovirus from an American bison affected with malignant catarrhal fever. *J. Gen. Virol.*, 64: 1025-1030.
- VAN MALDEREN G., VAN OPDENBOSCH E., WELLEMANS G. Bovine herpes virus 1 en 4: een sero-epidemiologisch onderzoek van de Belgische rundveestapel. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, 1987, 56, 364.
- VAN OPDENBOSCH E., WELLEMANS G., OUDEWATER J. Toevallige isolatie van het bovine herpesvirus 4 uit de long van een schaap. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, 1986, 55, 432.
- VAN SANTEN V. Characterization of bovine herpesvirus-4 major immediate-early transcript. *J. Virol.*, 1991, 65, 5211.
- WELLEMANS G., ANTOINE H., BROES A., CHARLIER G., VAN OPDENBOSCH E. Symptomatologie variée apparaissant lors de métrites chroniques associées à un virus herpès chez les bovins. *Ann. Méd. Vét.*, 1984, 128, 65.
- WELLEMANS G., VAN OPDENBOSCH E., MAMMERICKX M. Inoculation expérimentale du virus LVR140 (herpès bovin IV) à des vaches gestantes et non gestantes. *Ann. Rech. Vét.*, 1986, 17, 89.
- WELLEMANS G., VAN OPDENBOSCH E. Association entre l'infection par le BHV4 et l'avortement chez la vache. *Ann. Méd. Vét.*, 1989, 133, 347.