

SYNTHESE

Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine

M. LEMAIRE, P.-P. PASTORET, E. THIRY

Services de Virologie et d'Immunologie,
Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège,
Bât. B 43, Sart Tilman, B-4000 Liège.

Travail subventionné par la Région Wallonne (Ministère de l'Agriculture, de l'Environnement et des Ressources Naturelles) et par l'I.R.S.I.A. (Institut pour l'encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture).

Manuscrit déposé le 01/04/1994

INTRODUCTION

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR, infectious bovine rhinotracheitis) est une maladie virale causée par le bovine herpesvirus type 1 (BHV-1). Elle constitue la forme respiratoire de cette infection virale. Cette forme respiratoire est la forme clinique de l'infection la plus fréquemment observée chez le bétail. Cette entité pathologique n'est pas le seul syndrome provoqué par cette infection virale : le virus BHV-1 est également responsable d'encéphalites, de conjonctivites, d'avortements, de métrites après césarienne, d'une forme systémique mortelle en période néonatale et d'une forme génitale qui est décrite depuis le siècle dernier : la vulvovaginite pustuleuse infectieuse (infectious pustular vulvovaginitis; IPV) qui est encore observée sporadiquement (Kahrs, 1977; Wyler et al., 1989; Straub, 1990). Le BHV-1 est également impliqué, en association avec d'autres agents, aux bronchopneumonies en-

zootiques du bétail (Pastoret et al., 1984, 1988).

La Communauté Européenne a publié une directive imposant le statut séronégatif envers l'IBR dans les centres d'insémination artificielle (directive C.E.E. 88/407 du 14 juin 1988; Anon., 1988, 1990; Pastoret et al., 1989). Les répercussions de cette directive sont déjà visibles dans le commerce du sperme et des embryons congelés (Anon., 1988). De plus, des conventions particulières ou des règlements sanitaires nationaux imposent également le statut séronégatif envers l'IBR pour l'importation du bétail sur pied. L'exportation de bétail, même vers des pays où la lutte n'est pas organisée au plan national, requiert souvent un statut négatif envers l'IBR.

L'importance économique de l'IBR se manifeste donc non seulement par les pertes provoquées par la maladie, mais aussi par les restrictions d'échanges entre pays. Dans ce

RESUME

Le contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est devenu un élément important en Europe, essentiellement en ce qui concerne les échanges intracommunautaires de bovins, de sperme et d'embryons congelés. L'éradication ou le contrôle de cette infection virale causée par le bovine herpesvirus 1 (BHV-1) sont déjà réalisés dans plusieurs pays ou régions. L'installation de ce virus chez l'animal à l'état latent, après primo-infection, réinfection, vaccination à l'aide d'une souche virale atténuée, constitue l'obstacle majeur que peuvent rencontrer les prophylaxies sanitaires. La latence assure la pérennité de cette infection même au sein d'un troupeau fermé. De plus, l'animal vacciné contre le BHV-1 ne présente aucune garantie épidémiologique. En effet, si les vaccins actuellement disponibles protègent efficacement contre les signes cliniques de la maladie, ils sont incapables de prévenir l'infection virale et donc l'installation du BHV-1 à l'état latent et par conséquent la réactivation et la réexcrétion virales. Dans le contexte économique actuel, il est nécessaire de développer de nouvelles stratégies de vaccination ou de nouveaux vaccins qui, en plus de leur efficacité envers la maladie, devront empêcher le virus de s'installer à l'état latent ou du moins prévenir la réexcrétion du virus. Les nouveaux vaccins devront également permettre la différenciation sérologique entre animaux infectés et vaccinés. Ces vaccins de nouvelle génération permettront plus aisément le contrôle et l'élimination de l'IBR. Cependant, le risque d'avoir des animaux faux négatifs envers cette infection sera toujours présent et les nouvelles stratégies de contrôle devront en tenir compte.

contexte économique, le contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine devient un élément important. Actuellement, il est réalisé dans plusieurs pays ou régions d'Europe (Anon., 1989; Ackermann et al., 1990a). Le Danemark s'est déclaré indemne d'IBR en 1991. Cependant, l'apparition récente de deux foyers dans ce pays indique que le contrôle de cette infection est particulièrement difficile à réaliser.

En Belgique, le premier effet de cette directive européenne a été, dès 1991, de n'autoriser que l'entrée de veaux séronégatifs envers l'IBR dans les centres de sélection bovine.

Les centres d'insémination artificielle (I.A.) se constituent également en centres séronégatifs envers l'IBR. Selon l'arrêté royal du 9 décembre 1992, ne sont admis dans les centres d'insémination artificielle que les taureaux séronégatifs pour l'IBR. Les taureaux séropositifs et/ou qui ont été vaccinés et admis avant l'entrée en vigueur de l'Arrêté devront être retirés du centre au plus tard le 31 décembre 1995 et retirés du circuit de l'élevage au plus tard le 31 décembre 1998 (Moniteur Belge, 6 février 1993, pp 2445-2459).

Le contrôle de l'infection par le BHV-1 ne peut être envisagé sans une bonne compréhension préalable de la biologie de cette infection et particulièrement du phénomène de latence. En effet, l'installation du BHV-1 à l'état latent chez l'animal assure la pérennité de l'infection même dans un troupeau fermé (Pastoret et al., 1986) et constitue donc un problème majeur pour le contrôle de cette infection.

Ce travail a pour but de faire le point sur les connaissances actuelles concernant le BHV-1, dans l'optique du contrôle de cette infection. Dans un premier temps, les propriétés biologiques du virus sont passées en revue, en insistant tout particulièrement sur le phénomène de latence et sur ses conséquences épidémiologiques. Cet article donne un aperçu de la situation européenne et belge en matière d'IBR, et les possibilités actuelles de contrôle de cette infection. Enfin, il décrit les nouvelles perspectives qui se dégagent des résultats de récentes recherches en

matière de prophylaxie de la maladie et de l'infection virale.

LE BOVINE HERPESVIRUS 1

Le bovine herpesvirus de type 1 (BHV-1) partage les propriétés des *alphaherpesvirinae*, la sous-famille des *herpesviridae* qui comprend, entre autres, le virus de la maladie d'Aujeszky chez le porc (Suid herpesvirus 1) et le virus herpes simplex chez l'homme (HSV) (Wittmann et Rziha, 1989; Wyler et al., 1989; Roizman et Sears, 1990).

La structure du BHV-1 est typique des herpesvirus. Il est constitué d'une nucléocapside de symétrie icosaédrale, composée de 162 capsomères et comprenant un DNA génomique bicaténaire (d'environ 140 kilo paires de bases). La nucléocapside est entourée d'une zone appelée tégument, puis d'une double enveloppe lipidique composée de phospholipides et de glycoprotéines. La taille du virion est de 150-200 nm. (Wyler et al., 1989).

Deux sous-types de BHV-1 (sous-types 1 et 2) peuvent être distingués selon le génotype (Engels et al., 1981). Le DNA des souches de type BHV-1.1 possède un profil électrophorétique semblable à la souche virale de référence Cooper. Ce type comprend en majeure partie des virus isolés du tractus respiratoire. Le DNA des souches de type BHV-1.2 présente un profil électrophorétique semblable à la souche virale de référence K 22. Ce deuxième type comprend de nombreuses souches génitales (Engels et al., 1981). L'étude rétrospective des souches de BHV-1 a permis d'identifier une cassure dans le génotype prévalent dans la population bovine, largement associée à un changement correspondant dans la forme de la maladie. En effet, avant les années soixantedix, la forme génitale prévalait dans le cheptel bovin. Elle fut remplacée ensuite par la forme respiratoire. Une étude exhaustive des souches de BHV-1 isolées en Grande-Bretagne a démontré que, dans les années soixante, seules les souches de BHV-1.2 étaient isolées. A partir de 1977, Le génotype BHV-1.1 a été isolé de manière prédominante, avec occa-

sionnellement des souches de BHV-1.2. Les souches de BHV-1.2 sont d'ailleurs isolées à la fois de cas respiratoires et génitaux (Edwards et al., 1990). L'association entre génotype et forme de la maladie doit donc être interprétée avec beaucoup de prudence.

Un troisième sous-type de BHV-1 (BHV-1.3) était auparavant décrit (Engels et al., 1987). Ce virus appartient désormais à une nouvelle espèce virale, le bovine herpesvirus de type 5 (BHV-5), responsable d'encéphalite chez le bovin. Ce virus a été isolé en Australie (French, 1962), en Hongrie (Bartha et al., 1969), en Argentine (Carillo et al., 1983) et en Amérique du Nord (d'Offay et al., 1993).

De plus, il existe des herpesvirus de ruminants qui sont différents du BHV-1 mais antigéniquement apparentés à ce virus. Ils ont été isolés chez la chèvre (caprine herpesvirus 1) (Engels et al., 1983, 1987), du cerf (*Cervus elaphus*) (cervid herpesvirus 1), du renne (*Rangifer tarandus*) (cervid herpesvirus 2) et du buffle d'eau (*Bubalus bubalis*) (Bubalo herpesvirus 1) (Ek-Kommonen et al., 1986; Nettleton et al., 1988; Bulach et Studdert, 1990; Vanderplasschen et al., 1993).

PATHOGENIE DE L'INFECTION PAR LE BOVINE HERPESVIRUS 1

La clef de voûte de l'épidémiologie de l'infection par le BHV-1 est constituée par le portage latent (Pastoret et al., 1986). La latence est définie comme une infection virale persistante dans l'organisme où le génome viral est présent en l'absence de virus infectieux, à l'exception de certaines périodes de réactivation virale au cours desquelles le virus infectieux est produit. Cependant, il est important de distinguer réactivation et réexcrétion, car chez certains animaux il peut y avoir réactivation virale sans réexcrétion de virus infectieux. En effet, l'immunité spécifique de l'animal infecté de manière latente exerce un contrôle sur la réexcrétion virale (Pastoret et al. 1982; Thiry et al., 1983 b).

De la primo-infection à la latence

Dissémination du bovine herpesvirus 1 dans l'organisme

Lors d'une infection, le virus se multiplie intensément au niveau de la porte d'entrée, c'est-à-dire au niveau des cellules épithéliales de la muqueuse respiratoire (tractus respiratoire antérieur) ou de la muqueuse génitale.

La dissémination de l'infection par le BHV-1 emprunte trois voies différentes : le sang, le système nerveux et la transmission de cellules à cellules (Pastoret et al., 1982).

L'infection primaire provoque une virémie transitoire qui peut entraîner chez l'animal adulte des localisations secondaires au niveau d'organes cibles tels que le tractus digestif, le fœtus, les ovaires ou la mamelle (Kendrick, 1973; Van der Maaten et Miller, 1984-85; Miller et al., 1985; Wyler et al. 1989). Le veau nouveau-né peut succomber à une généralisation de l'infection s'il n'est pas protégé par l'immunité colostrale (Thiry et al., 1984; Mechor et al., 1987).

En se multipliant au niveau de la muqueuse, le virus contamine ainsi les nerfs périphériques et remonte par voie axonale rétrograde jusqu'au ganglion nerveux régional. C'est dans les cellules nerveuses du ganglion trijumeau, lors d'infection respiratoire (Ackermann et al., 1982), et du ganglion sacral, après inoculation intravaginale (Ackermann et Wyler, 1984), que le BHV-1 s'installe à l'état latent. Les macrophages et les cellules épithéliales pourraient également constituer des sites de latence (Pastoret et al., 1979; Wyler et al., 1989).

Enfin le BHV-1 peut se transmettre d'une cellule à l'autre sans phase extracellulaire et donc à l'abri des anticorps spécifiques. Cette voie de transmission peut s'avérer importante lors de réactivation d'un virus latent alors que l'animal est immunisé.

Excrétion

En se multipliant intensément au niveau des cellules épithéliales de la muqueuse du tractus respiratoire

antérieur (lors d'infection respiratoire), le BHV-1 est excrété dans le mucus nasal à des taux parfois très élevés, jusqu'à 10^{10} DICT₅₀/g de mucus (DICT : dose infectieuse en culture de tissus) (Straub, 1990). La période d'excrétion primaire qui correspond à une forte dissémination du virus dans le milieu extérieur varie de 10 à 16 jours, avec un pic d'excrétion entre le 4ème et le 6ème jour après infection (Thiry et al., 1985a; Straub, 1990).

En réponse à l'infection, l'animal va dans un premier temps développer une réponse immune non spécifique suivie d'une réponse immune spécifique. C'est cette dernière qui permet au bovin de surmonter l'infection et qui provoque l'arrêt de l'excrétion virale primaire. Ensuite, l'animal devient un porteur latent asymptomatique du virus. Même si les particules virales ne sont plus décelables dans le mucus nasal, le virus est néanmoins présent chez l'animal de manière latente, sous forme de génome viral non intégré, et ceci vraisemblablement à vie.

L'animal porteur latent

Le virus s'installe à l'état latent après infection primaire, après une réinfection et même par la vaccination à l'aide d'un vaccin vivant atténué (Nettleton et Sharp, 1980; Pastoret et al., 1984) (Figure 1). En effet, les souches vaccinales atténuées, thermosensibles ou non, s'installent à l'état latent et peuvent être réactivées et éventuellement réexcrétées après un traitement à la dexaméthasone (Pastoret et al., 1980; Thiry et al., 1983c; Thiry et al., 1985a). C'est le cas également pour les souches virales qui n'expriment pas la thymidine kinase soit par mutation (Kit et al., 1985), soit par délétion obtenue par ingénierie génétique (Whetstone et al., 1992).

Les vaccins disponibles actuellement ne permettent pas d'empêcher l'installation ultérieure de BHV-1 à l'état latent et n'éliminent pas un virus installé à l'état latent avant la vaccination (Zuffa et Feketeova, 1980; Wyler et al., 1989; Bruchhof et Straub, 1993).

L'animal porteur latent est en bonne santé et ne montre aucun signe cli-

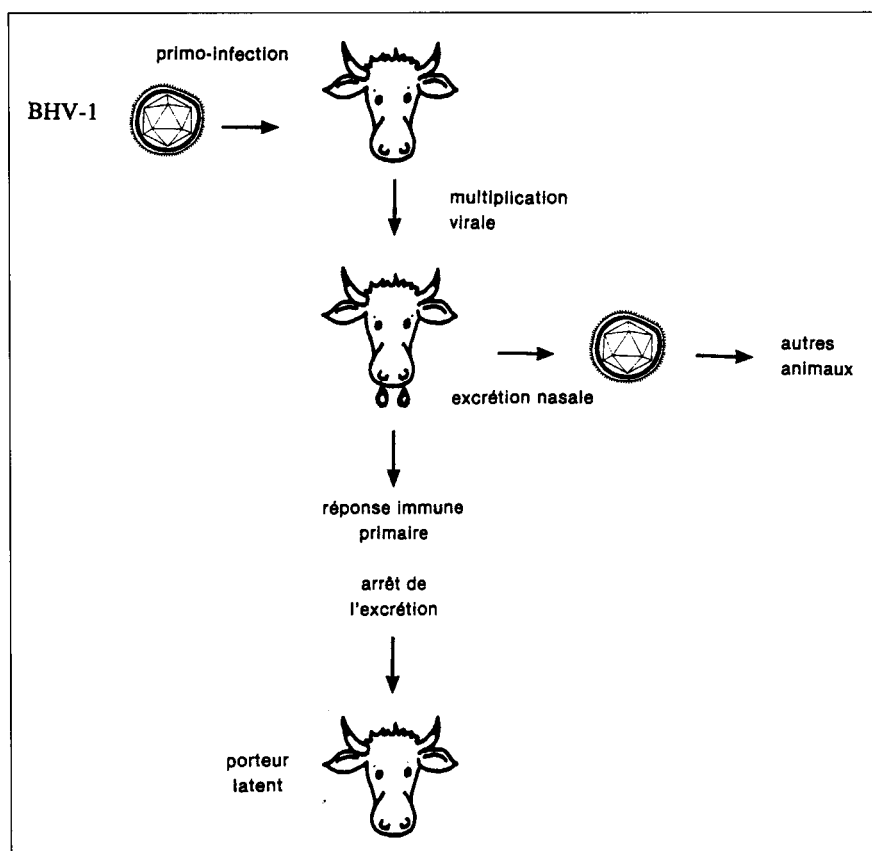


Figure 1

Pathogénie de l'infection par le bovine herpesvirus 1 (BHV-1) : de la primo-infection à la latence.

nique. Il peut être dépisté par un examen sérologique mettant en évidence les anticorps (Ac) spécifiques. Un animal vacciné ne présentant aucune garantie épidémiologique, il en résulte qu'un animal séropositif envers le BHV-1 est soit un animal infecté par une souche naturelle, soit un animal vacciné, soit les deux. En Belgique, où seuls des vaccins atténués étaient utilisés jusqu'à présent, on peut affirmer que tout animal séropositif envers le BHV-1 est un animal porteur latent du virus, à l'exception éventuellement d'un jeune animal possédant des Ac d'origine maternelle (figure 2).

Cependant, il faut considérer que, dans une population à forte prévalence d'infection par le BHV-1, certains animaux porteurs latents ne présentent pas un taux d'anticorps détectable : ce sont des faux négatifs qui ne peuvent donc être repérés et constituent un danger pour les animaux voisins (Aguilar-Setién et al., 1979). Une infection par un virus de virulence réduite, par exemple obtenu par mutation dans le gène codant pour la thymidine kinase, peut avoir lieu avec établissement d'un état latent sans signature sérologique (Gilliam et al., 1993). En France, parmi tous les taureaux séronégatifs importés du Canada et des Etats-

Unis, entre 1972 et 1980, 3% se sont révélés être de faux négatifs. En effet, ces animaux ont montré une séro-conversion parfois plusieurs années après leur introduction dans les centres I. A. (Dufour, 1990).

Ces animaux faux négatifs peuvent être dépistés avec plus de certitude par l'association de plusieurs méthodes de diagnostic, en associant par exemple un test intradermique mettant en évidence une réaction d'hypersensibilité retardée (Aguilar-Setién et al., 1979; Thiry et al., 1983a; Straub, 1986; Straub et al., 1989, 1990; Thiry et al., 1992).

Le bovin séronégatif porteur latent du BHV-1 constitue un danger pour son entourage, principalement dans le cadre du contrôle de l'IBR.

Ainsi l'équation : «animal séronégatif = animal indemne de l'infection» n'est pas vérifiée dans tous les cas.

Réactivation et réexcrétion virales

L'état latent peut être rompu et le virus latent débute de nouveaux cycles de multiplication dans l'organisme. Ce processus, appelé réactivation virale, est provoqué par divers stimuli que le bovin rencontre au cours de sa vie : transport (Thiry et al., 1987), parturition (Thiry et al., 1985b), injection de glucocorti-

coïdes (Pastoret et al., 1980), surinfection par un autre virus (Mensik et al., 1976), infestation parasitaire (bronchite vermineuse) (Msolla et al., 1983).

La réactivation virale conduit généralement à une réexcrétion du BHV-1, avec peu ou pas de signes cliniques de la maladie (Nettleton et al., 1984) (Figure 3). Une conséquence directe de la réactivation virale, et parfois la seule détectable (Thiry et al., 1983b), réside dans un effet anamnétique sur l'immunité spécifique de l'animal, qui se traduit notamment par une augmentation du taux d'anticorps spécifiques dans le sérum sanguin (Pastoret et al., 1979, 1980; Thiry et al., 1985a).

Différents glucocorticoïdes (prednisolone, dexaméthasone et fluméthasone) ont été testés à des doses élevées et répétées : tous peuvent induire une réactivation virale accompagnée d'une réexcrétion de virus chez des bovins porteurs latents. La réexcrétion virale est plus marquée suite à un traitement à la prednisolone ou à la dexaméthasone (Straub et Lorenz, 1991). L'injection de dexaméthasone (à la dose de 0,1 mg/kg/jour durant 3 à 5 jours) est une technique fréquemment employée avec succès pour provoquer la réactivation expérimentale du

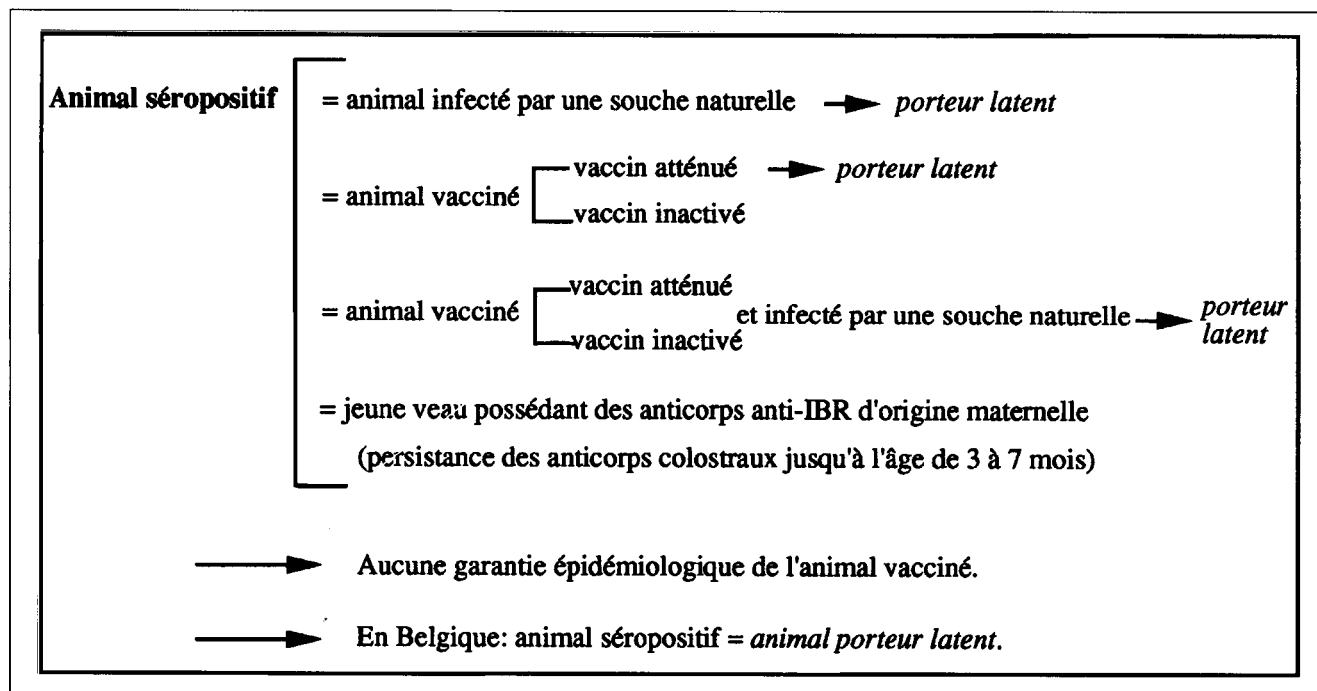


Figure 2
Signification épidémiologique de l'animal séropositif envers le BHV-1.

BHV-1 chez un animal porteur latent (Pastoret et al., 1980; Thiry et al., 1983b).

Mécanismes de réactivation virale

La dexaméthasone agirait directement sur le neurone infecté de manière latente; aussi l'immunodépression associée aux glucocorticoïdes n'est pas responsable de la réactivation virale. En effet, aucune réexcrétion du virus BHV-1 n'a pu être mise en évidence après un traitement avec une dose élevée de cyclophosphamide (substance immunosuppressive agissant essentiellement sur les lymphocytes B et partiellement les lymphocytes T) chez des bovins porteurs latents (Pastoret et al.,

1980). Pastoret et al. (1978 et 1979) montrent l'apparition de particules physiques non infectieuses dans le mucus nasal, dès 24 heures après le premier traitement à la dexaméthasone. Ce qui signifie que le phénomène de réactivation a lieu très peu de temps après la première injection de dexaméthasone. En 1992, Rock et al. ont étudié les aspects moléculaires de la latence du BHV-1 chez le lapin. Chez cette espèce, l'inoculation intraconjonctivale de BHV-1 produit une infection latente du ganglion trijumeau, qui peut être réactivée par une seule injection de dexaméthasone. Le passage du profil de transcription du génome viral spécifique de la latence au profil caractéristique d'une infec-

tion productive se produit entre 15 et 18 heures après l'injection de dexaméthasone et le DNA viral est déjà détectable 18 à 21 heures après le traitement (Rock et al., 1992). Le glucocorticoïde interviendrait donc directement au niveau de la cellule infectée de manière latente, puisque son injection est rapidement suivie par une induction du cycle de multiplication virale dans le neurone. Ces résultats plaident donc pour l'hypothèse d'une activation directe du génome viral par le glucocorticoïde.

Contrôle de l'immunité spécifique sur la réexcrétion virale

La réactivation du virus n'est pas nécessairement accompagnée d'une réexcrétion de virus infectieux (Figure 3). Le taux de réexcrétion virale est influencé de manière déterminante par l'immunité spécifique de l'animal. L'immunité spécifique de l'animal exerce un contrôle sur les accès de réexcrétion (Pastoret et al. 1982; Thiry et al., 1983 b). Le danger de réexcrétion est néanmoins réel. Dans un troupeau infecté, la fréquence de réexcrétion semble être faible, cependant l'immunité du troupeau empêche de visualiser cliniquement la circulation du virus. Ce qui n'est pas le cas si l'on introduit un porteur latent dans un troupeau indemne (Pastoret et al., 1982).

Conséquences de la latence

Il est important de souligner les différents problèmes épidémiologiques qu'entraîne la latence du BHV-1 :

- 1° Tout animal infecté par une souche de virus sauvage devient porteur latent (Pastoret et al., 1984).
- 2° Les souches virales atténuées (thermosensibles ou non) utilisées comme vaccin, de même que les souches thymidine kinase négatives, s'installent à l'état latent et peuvent être réactivées et réexcrétées au même titre que les souches sauvages (Nettleton et Sharp, 1980; Nettleton et al., 1984, Pastoret et al., 1980, 1984; Thiry et al., 1983a, 1985a; Kit et al., 1985; Whetstone et al., 1992).
- 3° Jusqu'à présent, la vaccination (à l'aide d'un vaccin inactivé ou atté-

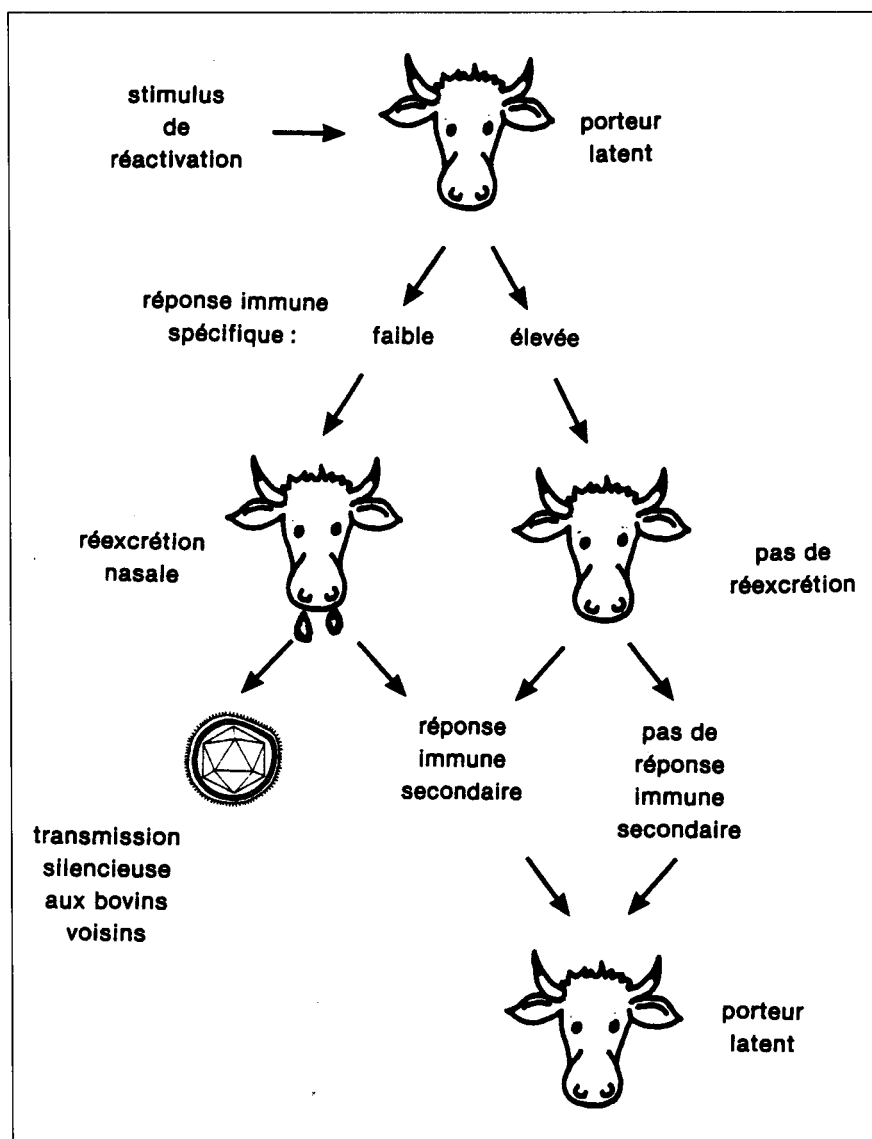


Figure 3
Réactivation du bovine herpesvirus 1 :
contrôle de l'immunité spécifique sur la réexcrétion virale.

nué) ne prévient pas l'installation ultérieure d'une souche sauvage à l'état latent (Zuffa et Feketeova, 1980; Nettleton et al., 1984, Wyler et al., 1989). De récentes études ont montré qu'il est possible de prévenir l'excrétion virale après primo-infection par la vaccination à l'aide de vaccins sous-unitaires (Israël et al., 1992; Van Drunen Littel-Van den Hurk et al., 1993b).

4° Deux souches virales différentes peuvent s'installer à l'état latent chez le même animal (et au niveau des mêmes tissus) (Nettleton et al., 1984; Thiry et al., 1985a; Whetstone et Miller, 1989).

Le génome des souches de BHV-1 montre des variations après un seul passage chez l'animal et après réactivation de l'état latent (Whetstone et al., 1989).

L'émergence de virus recombinants *in vivo*, issus d'une coinfection ou d'une surinfection d'un bovin par deux souches différentes est une hypothèse vraisemblable, mais qui n'a pas encore pu être démontrée (Pastoret et Thiry, 1985; Whetstone et Miller, 1989).

5° De manière générale, la vaccination (à l'aide d'un vaccin atténué ou inactivé) diminue en durée et en intensité l'excrétion virale après infection (Zygraich et al., 1974; Lupton et Reed, 1980a; Nettleton et Sharp, 1980; Straub et al., 1986; Zuffa et Feketeova, 1980; Wentink et al., 1993; Lemaire et al., résultats non publiés).

6° L'état immun de l'animal infecté de manière latente influence de manière déterminante la fréquence et l'importance des épisodes de réexcrétion virale (Pastoret et al., 1982; Thiry et al., 1983b).

La présence d'animaux porteurs latents est l'élément essentiel de la persistance du virus au sein d'une population. Ces individus pourront infecter les congénères indemnes de leur troupeau lors d'une réactivation accompagnée d'une réexcrétion. La signification épidémiologique de la latence est donc de permettre le maintien de l'infection dans un groupe d'animaux sans apport exogène de virus.

Réponse immune

La réponse immune est à la fois non spécifique et spécifique. La réponse immune non spécifique se caractérise par la sécrétion rapide d'interféron de type 1 (IFN α et β) (De Maeyer-Guignard, 1993) et fait intervenir différents types cellulaires, dont les macrophages, les cellules natural killer (NK) et les polymorphonucléaires neutrophiles (PMN). Les mécanismes de défense spécifiques comprennent la réponse immune à médiation cellulaire (lymphocytes T) et la réponse immune humorale (anticorps). Les anticorps (Ac) dirigés contre le BHV-1 (IgM puis IgG) apparaissent dans le sérum sanguin environ 8 à 12 jours après l'infection (Wyler et al., 1989) et peuvent persister pendant des périodes allant jusqu'à 6 ans (Chow et al., 1972; Van Nieuwstadt et Verhoeff, 1983). Il est impossible d'estimer la durée de persistance des anticorps anti-BHV-1 après une infection primaire, car le bovin porteur latent peut, à tout moment, subir des accès de réactivation virale qui produisent une réponse immune secondaire se traduisant notamment par une augmentation du taux d'anticorps spécifiques (Rusch et al., 1981; Bitsch, 1984).

Les lymphocytes T peuvent agir soit par la production de lymphokines, soit par une activité cytotoxique directe, ou le plus souvent en association avec des cellules phagocytaires (macrophages et PMN). Les lymphocytes T sensibilisés apparaissent environ 5 jours après l'infection, avec un pic entre les 8ème et 10ème jours (Wyler et al., 1989).

Lors d'infection respiratoire, la première barrière de défense spécifique est locale et est constituée par la présence d'Ac neutralisants (IgA et IgG1) dans le mucus nasal. Les anticorps sériques neutralisent également le virus mais ils n'interviennent qu'à partir du moment où l'infection locale est installée et que les premières lésions inflammatoires apparaissent. Cependant, dès que le BHV-1 a infecté les cellules épithéliales, il peut être transmis directement aux cellules voisines et être ainsi disséminé, même en présence de taux élevés d'Ac spécifiques dans le milieu extracellulaire. Dans

ce cas, ce sont les mécanismes immuns de type cellulaire qui peuvent exercer un contrôle, tels que le système ADCC (Antibody dependent cell mediated cytotoxicity) et l'immunité spécifique à médiation cellulaire (Denis et al., 1994).

Les veaux issus de mères immunisées contre le BHV-1 (à la suite d'une infection naturelle, ou par la vaccination) reçoivent à la naissance un colostrum possédant des Ac anti-BHV-1. Cette immunité passive, d'origine maternelle, les protège de la forme néonatale généralisée souvent mortelle (Thiry et al., 1984; Mechor et al., 1987), mais interfère aussi avec le développement d'une immunité active (Menanteau-Horta, 1985). La décroissance du taux d'Ac maternels a été étudiée par différents auteurs et le temps de demi-vie est en moyenne de 20 jours (Brar et al., 1978; Menanteau-Horta et al., 1985). Le taux d'Ac maternels contre le BHV-1 arrive à un niveau indétectable entre 95 et 231 jours, selon le titre initial en Ac (Brar et al., 1978), après quoi le veau devient séronégatif envers le BHV-1. Cependant l'infection du veau sous couvert colostrale, sans signes cliniques de la maladie, avec installation à l'état latent et éventuellement sans réponse sérologique est envisageable. Cela aurait pour conséquence dramatique la génération d'animaux faux négatifs, porteurs latents du virus BHV-1 (Lemaire et al., soumis pour publication).

TRANSMISSION DU BOVINE HERPESVIRUS 1

Agents de transmission du bovine herpesvirus 1

Le BHV-1 est excrété dans les sécrétions respiratoires, oculaires et génitales du bovin infecté. La dose minimale infectante pour un bovin est très faible, elle a été estimée à 3,2 DICT₅₀ (Straub, 1987). Une faible excrétion de virus est donc potentiellement dangereuse pour les animaux voisins.

Le virus est présent en abondance dans le jetage nasal, celui-ci représente la source majeure d'infection (Wyler et al., 1989). Il se transmet essentiellement par contact direct de

«naseau à naseau», ou sur de courtes distances par aérosolisation de gouttelettes de mucus nasal lors d'épisodes de toux et éternuements. Les personnes soignant des bovins excréant le BHV-1 peuvent transmettre ce virus à d'autres animaux sensibles par l'intermédiaire du matériel (cordes, seaux, pince mouchette,...) ou des vêtements souillés par des sécrétions nasales (Wentink et al., 1993). Les précautions hygiéniques doivent prendre ce mode de transmission en considération. Le BHV-1 est sensible à la plupart des désinfectants couramment utilisés tels que les dérivés phénoliques, les ammoniums quaternaires et le formol (Straub, 1990). Son enveloppe phospholipidique externe qui est essentielle pour son infectivité est détruite par les détergents.

La possibilité de transmission aérogène du virus a été soulevée par l'apparition de foyers d'IBR dans une région indemne du sud du Danemark. Le virus proviendrait d'Allemagne et aurait été introduit par les vents du sud-ouest en hiver. Les chercheurs danois pensent que la transmission du BHV-1 par voie aérogène pourrait s'effectuer sur des distances de plus de 8 km (Wentink et al., 1993). Il conviendrait néanmoins d'en apporter les preuves.

Une autre source d'infection est constituée par le sperme provenant de taureaux infectés. En effet, le BHV-1 a été fréquemment isolé dans le sperme de taureaux séropositifs dans différents centres d'insémination artificielle (Bitsch, 1984; Van Oirschot et al., 1993; Wellemans et al., 1993). Van Oirschot et al. (1993), en Hollande, ont mis en évidence une infection subclinique par le BHV-1 dans un centre d'insémination artificielle : 43 taureaux sur les 116 examinés durant une période de 6 mois ont excrété le BHV-1 dans le sperme une seule fois ou de façon intermittente.

La dose de virus nécessaire pour infecter une vache par insémination artificielle n'est pas exactement déterminée. Une séroconversion a été observée chez 6 animaux sur 25 après insémination artificielle à l'aide d'une paille contenant de petites quantités de virus (inférieures à 200 DICT₅₀). L'insémination artificielle

de vaches avec des doses plus élevées (10^{5,3} DICT₅₀) provoque une infection entraînant notamment une endométrite et de l'infertilité transitoire (Parsonson et Snowden, 1975; Miller et Van der Maaten, 1984; Miller, 1991). La quantité de virus nécessaire pour développer une infection dépend probablement de la virulence de la souche virale, une souche plus virulente nécessitant une dose infectante plus faible (Wentink et al., 1993).

En ce qui concerne le transfert embryonnaire, il y a apparemment très peu de risque de transmission virale (Straub, 1990). Thibier et Nibart (1987) ont montré que des embryons (plus de 1000) issus de vaches positives transférés sur des receveuses séronégatives, n'ont entraîné aucune séroconversion. Cependant, le BHV-1 est capable d'adhérer à la membrane pellucide de l'ovocyte ou de l'embryon après infection *in vitro* (Singh et al., 1982; Guérin et al., 1990; Thibier et Guérin, 1991). Des ovocytes ou des embryons fécondés *in vitro*, collectés en phase aiguë de maladie chez des vaches infectées expérimentalement par le virus BHV-1 peuvent être contaminés par ce virus et représentent donc un vecteur potentiel de la maladie (Guérin et al., 1989). Le traitement de ces embryons avec de la trypsine (enzyme protéolytique) élimine le BHV-1 adsorbé sur la membrane pellucide. Un tel traitement peut être préconisé pour l'importation d'embryons dans un pays indemne d'IBR (Singh et al., 1982; Singh et al., 1983; Stringfellow et al., 1990). Guérin et al. (1989) ont également montré que le milieu de maturation des ovocytes et celui de la culture de cellules tubaires au contact desquelles l'embryon se développe *in vitro* peuvent constituer d'excellents révélateurs de la présence du virus (par isolement viral), en vue du contrôle sanitaire.

Circulation du bovine herpesvirus 1 dans une exploitation fermée

La latence assure la permanence de l'infection même dans un troupeau fermé, sans introduction d'un nouvel animal (Thiry et al., 1986). L'étude de la circulation du virus dans des troupeaux révèle que l'infection se

propage régulièrement parmi les animaux durant des périodes de plusieurs mois qui sont espacées d'intervalles d'une à plusieurs années. Il est impossible de prévoir la fréquence des accès de réactivation et de circulation du BHV-1 (Van Nieuwstadt et Verhoeff, 1983).

Dans un troupeau fermé, plus l'intervalle entre deux cycles de circulation virale augmente, plus la proportion d'animaux sensibles à l'infection augmente. Donc, au cours du temps, les risques de pertes économiques dues à l'infection par le BHV-1 augmentent. En effet lors d'une nouvelle réactivation virale, l'infection touchera non seulement les veaux et les jeunes animaux (très sensibles à l'infection), mais aussi les bovins adultes indemnes d'IBR (avortements, chutes de lactation, etc.). En conséquence, il est dangereux d'interrompre brutalement la vaccination contre l'IBR.

PREVALENCE DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE EN EUROPE ET EN BELGIQUE

La situation en Europe

Les données concernant la prévalence d'animaux ou de troupeaux séropositifs envers le BHV-1 dans les différents pays ou régions d'Europe sont en général incomplètes et peu récentes. Cependant, il en ressort que la distribution du BHV-1 est très variable selon le pays, la région, le type de troupeau (laitier ou viandeux) et la prophylaxie utilisée.

En Suisse, en 1978, la prévalence d'exploitations séropositives était plus élevée à l'est et au centre (15%) par rapport à la partie ouest du pays (1%) (Ackermann, 1990b). Après un programme national d'éradication, elle a été virtuellement considérée comme indemne en 1988, sans l'emploi de vaccins contre l'IBR. En Allemagne (RFA), la prévalence varie considérablement d'une région à l'autre : de 0 à 42% (Wyler et al., 1989). En Grande Bretagne, la prévalence d'animaux séropositifs, inférieure à 5% en 1970, a augmenté pour atteindre en 1988 plus de 15% dans les troupeaux d'élevage et 40-50% dans les

exploitations dites «commerciales» (Ackermann, 1990a). En Ecosse, la prévalence était de 12% en 1981 (Straub, 1990). Le Danemark s'est déclaré officiellement indemne en 1991. En France, une enquête séroépidémiologique nationale réalisée en 1978 donnait une prévalence moyenne de 10,8% (Perrin et al., 1981). Selon une enquête, réalisée en 1993 auprès des groupements français de défense sanitaire, le taux de prévalence apparent, c'est-à-dire le pourcentage de séropositifs parmi les animaux dépistés durant l'année précédente lors d'enquêtes sérologiques, était de 39% en sérums individuels, de 40% en sérums de mélange, et de 9% en lait de mélange (Vedeau, 1993). Ces différentes enquêtes montraient des taux de prévalence individuelle et d'élevage très variables entre les différents départements.

La situation en Belgique

La prévalence d'animaux séropositifs envers le BHV-1 a toujours été élevée dans notre pays. Il existe au moins trois explications à ce fait : les échanges sont fréquents; la persistance du virus à l'état latent lui permet de se maintenir dans un troupeau fermé pendant de nombreuses années; la vaccination entretient un nombre important d'animaux séropositifs sans avoir eu de contact avec le virus sauvage.

La vaccination contre la rhinotrachéite infectieuse bovine est pratiquée depuis les années soixante-dix dans notre pays, au moment où la forme respiratoire est apparue. Un nombre important de bovins est vacciné, principalement les jeunes animaux de 4 à 8 mois du bétail viandeux. La vaccination est la base de la lutte contre l'infection en Belgique (Antoine et Pastoret, 1988). Les vaccins utilisés en Belgique jusqu'à présent étaient tous des vaccins vivants atténués. Ils présentent tous une efficacité démontrée envers la maladie clinique (Pastoret et Thiry, 1985). Récemment, un vaccin inactivé et un vaccin sous-unitaire ont été enregistrés dans notre pays.

Une enquête séro-épidémiologique, réalisée en 1986, révélait que 62% des fermes examinées étaient séropositives en sérums de mélange. La

prévalence était semblable quelle que soit la province envisagée : elle variait de 56 à 68% (Van Malderen et al., 1987). Afin de déterminer de façon plus précise la prévalence d'animaux séropositifs envers le BHV-1 en Région Wallonne, deux enquêtes séro-épidémiologiques ont été récemment réalisées en collaboration avec les laboratoires de dépistage des maladies animales et avec le centre d'économie rurale de Marloie, au cours des hivers 91-92 et 92-93. Ces enquêtes ont été réalisées en profitant des prises de sang du dépistage annuel de la brucellose réalisé sur tous les bovins de plus d'un an. Au cours de l'hiver 91-92, une prévalence de 51,6% d'animaux séropositifs envers l'IBR a été déterminée à partir d'un échantillon aléatoire systématique de 300 sérums issus des provinces de Hainaut, de Liège et de Namur. Au cours de l'hiver 1992-1993, une prévalence de 56,6% a été obtenue à partir d'un échantillon aléatoire systématique de 400 sérums provenant des provinces de Hainaut, de Liège, de Namur et de Luxembourg.

Le contexte économique actuel impose donc à l'élevage belge d'être en mesure de fournir des animaux indemnes d'IBR dans une région où environ 50 à 60% des animaux de plus d'un an sont séropositifs et où la politique a consisté en la vaccination massive à l'aide de vaccins vivants atténués.

Il est clair que la garantie d'un statut séronégatif envers l'IBR dans les stations de sélection et les centres d'I.A. ne peut être donnée que si des mesures de contrôle sont prises à la source, c'est-à-dire dans les élevages d'où proviennent les animaux.

LES METHODES DE CONTROLE DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE

Le contrôle de l'IBR est actuellement reconsidéré dans plusieurs pays de la Communauté Européenne. Ce contrôle était auparavant réalisé uniquement par une prophylaxie médicale basée sur la vaccination, soit à l'aide de vaccins atténués (Hollande, Belgique), soit à l'aide de vaccins inactivés (France, Allemagne, en de-

hors des foyers cliniques). Plusieurs pays ou régions ont entamé un programme de contrôle puis d'éradication de l'IBR : le land de Bavière en Allemagne, la Bretagne en France, l'Autriche et le Luxembourg (Anon., 1989). En France, les actions de lutte sont variables d'un département à l'autre, elles se répartissent en dépistage, assainissement par élimination et/ou réforme précoce, vaccination, contrôle à l'introduction et délivrance d'appellations de cheptel (Vedeau, 1993). Seuls le Danemark et la Suisse (Ackermann et al., 1990b) ont organisé un programme national d'éradication.

Plusieurs méthodes de contrôle de l'IBR peuvent être donc envisagées, essentiellement selon la prévalence de l'IBR et selon les objectifs économiques de l'éleveur ou du pays intéressé.

Elimination des animaux séropositifs

La méthode la plus radicale consiste en l'éradication de la maladie par l'élimination des animaux séropositifs. Cette méthode a été utilisée par exemple en Suisse, où un programme d'éradication sur le plan national a été organisé dès 1978, lors de l'identification des premiers cas d'IBR dans ce pays. Afin de mener ce programme national à terme, différents règlements ont été mis en application :

- 1) contrôle sérologique annuel du troupeau national;
- 2) abattage des animaux séropositifs;
- 3) restriction des échanges de bétail, afin de prévenir la transmission de l'infection.

Les animaux doivent être séronégatifs pour être mis sur le marché. Les animaux séropositifs ne peuvent pas être vendus pour l'élevage, mais doivent être abattus. Pour qu'une exploitation puisse réintroduire des animaux sur le marché, deux bilans sérologiques négatifs réalisés à 6 mois d'intervalle sur tous les animaux sont nécessaires;

- 4) aucun vaccin contre l'IBR n'est autorisé;
- 5) prévention de nouveaux foyers en réglementant l'importation du bétail et du sperme.

Après 10 ans, la Suisse est devenue virtuellement indemne d'IBR, sans emploi de vaccins anti-BHV-1. Cela a été rendu possible, d'une part car au départ la prévalence d'exploitations positives n'était pas élevée, environ 4,2% (Staub, 1991), et d'autre part grâce aux actions légales comprenant entre autres une indemnité d'abattage. (Ackermann, 1990a).

Dans le Morbihan (Bretagne), des actions de lutte contre l'IBR ont débuté dès 1978. En 1985, la prévalence d'exploitations séropositives était de 15%; en 1993, elle n'est plus que de 1,3%, et ceci sans emploi de vaccins contre l'IBR (Joly A., communication personnelle). Cet assainissement progressif envers l'IBR a été obtenu grâce à différentes mesures «volontaires» :

- dépistage des exploitations séropositives sur lait de mélange;
- analyses individuelles sur sérum pour les exploitations ayant réagi positivement, afin de repérer les animaux séropositifs;
- réforme précoce des animaux séropositifs «conseillée»;
- gestion de la circulation des animaux; seuls les animaux séronégatifs pouvant circuler.

Contrôle de l'infection associé à l'emploi de vaccins

Lorsque la prévalence des animaux séropositifs est très élevée, une éradication par l'élimination brutale de ces animaux est difficilement envisageable. C'est le cas en Belgique où, de plus, le contrôle de l'IBR ne doit pas être un obstacle à la sélection génétique, principalement en race Blanc-Bleu-Belge.

Un protocole alternatif basé sur l'hyperimmunisation des animaux séropositifs est proposé. En effet, la réactivation virale n'est pas toujours suivie d'une réexcrétion de virus infectieux et il a été montré que l'immunité spécifique de l'animal porteur latent exerce un contrôle sur la réexcrétion virale (Zygraich et al., 1974; Lupton et Reed, 1980a; Nettleton et Sharp, 1980; Pastoret, et al., 1982; Thiry et al., 1983 b; Straub et al., 1986; Zuffa et Feketeova, 1980; Wentink et al., 1993; Lemaire et al., résultats non publiés).

Dans le cadre du contrôle de l'infection au sein d'un troupeau, la prévention de l'excrétion et de la réexcrétion virales est de toute première importance. Elle s'applique particulièrement aux animaux séropositifs qui ne peuvent pas être éliminés dans un bref délai. Ceux-ci sont vaccinés de manière répétée (tous les 6 mois) à l'aide d'un vaccin inactivé, de manière à empêcher toute dissémination de virus vaccinal. Ce protocole permet à ces animaux d'accéder à une immunité spécifique élevée qui diminue le risque de réexcrétion virale lors d'un accès de réactivation du virus latent. Le protocole est complété, tous les 6 mois, par un examen sérologique de contrôle sur les animaux séronégatifs.

Cette méthode est utilisée en Allemagne, et est basée sur des résultats de terrain (Forschner et al., 1987). L'assainissement de troupeaux a été obtenu par cette méthode, bien que quelques échecs ont été remarqués; ils sont vraisemblablement dus à la présence d'animaux séronégatifs porteurs du virus.

Cette stratégie de vaccination fait donc appel à un nouveau concept : la vaccination est utilisée non plus pour prévenir la maladie clinique, mais pour empêcher la réexcrétion de virus par les animaux séropositifs. Cette méthode de contrôle permet une coexistence «pacifique» d'animaux séropositifs et d'animaux séronégatifs, seule méthode envisageable en Belgique. Ce protocole de contrôle est actuellement expérimentalement validé en station expérimentale (Lemaire et Thiry, résultats non publiés).

NOUVELLES PERSPECTIVES

Les vaccins actuellement disponibles contre le BHV-1 préviennent efficacement les signes cliniques de la maladie, mais sont incapables de prévenir l'infection virale et donc par conséquent l'excrétion et la réexcrétion virales. De plus, ils ne permettent pas la distinction entre un animal vacciné et un animal infecté par le virus sauvage.

Dans le contexte économique actuel, l'idéal serait de posséder des vaccins non seulement efficaces contre la maladie clinique, mais également empêchant le virus de s'installer à l'état latent chez l'animal après infection, et/ou permettant de différencier sérologiquement les animaux vaccinés des animaux infectés.

Afin d'empêcher l'installation du virus sauvage à l'état latent chez l'animal, ou du moins prévenir l'excrétion et la réexcrétion virale, il faut rendre les vaccins plus immunogènes. Pour y arriver, deux grandes voies d'approches peuvent être considérées:

- 1) modification des protocoles de vaccination: soit en augmentant le nombre d'immunisations, soit en choisissant une meilleure voie d'administration (voie intranasale, par exemple), soit en combinant ces deux approches;
- 2) amélioration de l'immunogénicité du vaccin, par l'utilisation de meilleurs adjuvants.

Les nouveaux vaccins devront également permettre de différencier sérologiquement les animaux vaccinés des animaux infectés par le virus sauvage. Cette distinction sérologique permettra l'élimination des animaux porteurs latents et l'éradication de la maladie. Ce deuxième objectif est plus facile à atteindre. Les vaccins de nouvelle génération, tout en essayant d'être plus immunogènes, posséderont donc un tel marqueur sérologique.

Ainsi, le nouveau vaccin sera soit un virus délété, soit sous-unitaire, soit recombinant, ou encore constitué de DNA plasmidique.

Les vaccins atténués délétés ou «marqués»

Ce sont des vaccins constitués de virus dont le génome porte une délétion dans un gène codant pour un antigène de l'enveloppe virale, c'est-à-dire une glycoprotéine. Les animaux vaccinés ne développent pas d'anticorps contre cette glycoprotéine et sont donc repérés par rapport aux animaux infectés par un virus sauvage qui possèdent des anticorps contre cette glycoprotéine. Cette stratégie de vaccination est

déjà appliquée chez le porc dans la lutte contre la maladie d'Aujeszky, à l'aide d'un vaccin délété dans le gène codant pour la glycoprotéine gI (Pensaert et al., 1992).

La mise au point d'un tel vaccin n'est pas aisée, car la protéine dont il faut déléter le gène doit posséder des qualités parfois contradictoires. Il doit s'agir d'une protéine non essentielle pour la multiplication du virus et dont la présence n'est pas indispensable pour le développement d'une réponse immune protectrice, mais qui confère, lorsqu'elle est présente dans le virus, une signature sérologique durable chez l'animal infecté.

Différents mutants de délétion ont déjà été produits. Kit et al. (1990) ont proposé aux Etats-Unis l'utilisation d'un vaccin délété dans le gène codant pour une glycoprotéine majeure (gIII), en association avec un test de diagnostic sérologique permettant de différencier les animaux vaccinés des animaux infectés (Kit et al., 1992). Néanmoins Denis et al. (1993) ont récemment démontré que cette glycoprotéine gIII intervient comme antigène majeur dans la réaction de lymphocytotoxicité de la réponse immune cellulaire. De plus, ce mutant de délétion s'installe à l'état latent et peut être transmis à d'autres animaux (Liang et al., 1992).

Le mutant de délétion BHV-1 qui est actuellement le plus étudié en vue de l'obtention d'un vaccin marqué porte une délétion dans le gène codant pour la glycoprotéine gE. Cette glycoprotéine gE est l'homologue de la glycoprotéine gI, dont le gène est délété dans les vaccins utilisés chez le porc dans la lutte contre la maladie d'Aujeszky.

L'installation de ces virus atténués délétés (vivants) à l'état latent chez l'animal peut représenter un inconvénient qui pourrait être éventuellement contourné en inactivant le mutant de délétion idéal, et en ajoutant un adjuvant puissant de l'immunité.

Les vaccins sous-unitaires

Ils sont constitués d'une ou de plusieurs glycoprotéines virales en présence d'un adjuvant conventionnel

ou d'ISCOMS (immunostimulating complexes).

Lupton et Reed (1980b) ont montré qu'il était possible de prévenir l'excrétion virale après épreuve virulente grâce à un vaccin sous-unitaire contenant les glycoprotéines d'enveloppe du BHV-1.

Un vaccin sous-unitaire comportant un nombre restreint de glycoprotéines virales et conférant la même protection qu'un vaccin inactivé conventionnel permettrait la distinction sérologique entre animaux vaccinés et infectés, tout en garantissant que le vaccin ne contienne ni virus infectieux, ni DNA viral.

Chacune des trois glycoprotéines majeures du BHV-1 (gI, gIII et gIV) a été testée comme vaccin sous-unitaire. Toutes les trois confèrent une bonne protection contre la maladie clinique, mais l'excrétion virale, bien que réduite, n'est pas inhibée après épreuve virulente (Babiuk et al., 1987; Israël et al., 1988; Van Drunen Littel-van den Hurk et al., 1990). De même, la vaccination à l'aide d'un vaccin sous-unitaire constitué par gI et gIII en association avec un ISCOM protège efficacement de la maladie clinique, mais ne prévient pas totalement l'excrétion virale (Trudel et al., 1988).

L'excrétion nasale après infection virale est particulièrement réduite après immunisation avec la glycoprotéine gIV. Il en résulte que la glycoprotéine gIV constitue un bon candidat pour un vaccin sous-unitaire, en association avec d'autres composants stimulant tout particulièrement l'immunité à médiation cellulaire très importante pour la prévention de la multiplication virale (Van Drunen Littel-van den Hurk et al., 1990).

Israël et al. (1992) ont administré plusieurs fois, par voie intranasale et intramusculaire une combinaison de glycoprotéines du BHV-1 et d'un adjuvant puissant de l'immunité associée aux muqueuses (sous-unité B de toxine cholérique). La réponse locale engendrée par cette immunisation agit comme barrière à l'infection des cellules de l'épithélium, empêchant ainsi l'installation d'un virus de primo-infection à l'état la-

tent. Le même type de protocole d'immunisation a été testé, avec succès, avec une partie seulement de la glycoprotéine gI (Gao et al., 1994).

Récemment, l'excrétion virale après primo-infection a été également prévenue par l'immunisation par voie intramusculaire des animaux à l'aide de la glycoprotéine gIV produite par recombinaison génétique dans différents systèmes d'expression cellulaire (Van Drunen Littel-van den Hurk et al., 1993).

Les vaccins recombinants

Ils sont de deux types: soit le BHV 1 est lui-même utilisé comme vecteur d'expression pour des gènes étrangers, soit un ou plusieurs gènes codant pour des glycoprotéines immunogènes du BHV 1 sont introduits dans le génome d'un autre virus vecteur (Bello et al., 1992).

Vaccination à l'aide de DNA plasmidique

Une toute nouvelle méthode d'immunisation consiste en la vaccination à l'aide de DNA plasmidique codant pour une ou plusieurs glycoprotéines du BHV 1. Cox et al. (1993) montrent que des veaux vaccinés par voie intramusculaire à l'aide de DNA plasmidique codant pour la glycoprotéine gIV développent un titre élevé d'anticorps anti-gIV et excrètent significativement moins de virus après exposition à un virus d'épreuve.

CONCLUSIONS

Du fait des différents problèmes engendrés par le phénomène de la latence, le contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine ne pourra être garanti que si plusieurs facteurs sont réunis. Premièrement, le succès du contrôle de cette infection dépend du développement de vaccins de nouvelle génération capables d'empêcher l'excrétion du virus lors de primo-infection et/ou lors de réactivation virale. En effet, l'apparition de ces nouveaux vaccins permettra de contrôler cette infection avec plus de sécurité, même dans des pays où la prévalence est élevée.

Cependant, le risque de ne pas détecter tous les animaux porteurs latents du virus sauvage demeure. En effet, si l'animal porteur latent est généralement séropositif envers le BHV-1, c'est-à-dire qu'il possède des anticorps spécifiques du BHV-1, certains animaux porteurs latents n'en possèdent pas ou peu; ce sont de faux négatifs (Aguilar-Setién et al., 1979). L'infection par une souche virale atténuée ou l'infection du veau par le BHV-1 sous couvert des anticorps passifs d'origine maternelle pourraient engendrer de tels animaux séronégatifs porteurs latents (Guilliam et al., 1993; Lemaire et al., soumis pour publication). Ces animaux faux négatifs constituent un danger pour les pays ou régions indemnes d'IBR et leur introduction dans un centre d'insémination indemne d'IBR constitue une véritable menace. Ainsi, le succès du contrôle ou de l'éradication de cette infection est également conditionné par le développement de méthodes de diagnostic performantes capables de détecter le bovin séronégatif porteur latent. De nouvelles stratégies de détection des animaux porteurs latents seront notamment envisageables grâce à l'amélioration et la mise au point du test d'hypersensibilité retardée (THR) et de la technique d'amplification génique (polymerase chain reaction, P.C.R.).

Dans la mesure où l'IBR est actuellement une maladie à lutte facultative pour l'Union Européenne, le facteur humain n'est pas à négliger. Pour que les centres d'insémination artificielle puissent conserver un statut IBR négatif stable, des mesures doivent être prises dans les élevages qui leur fournissent des animaux. Ainsi l'information et la motivation des différents intervenants (éleveur, médecin vétérinaire, laboratoires de dépistage, responsables des centres de sélection bovine et des centres d'insémination artificielles, etc) constituent les éléments de base du succès d'un programme de contrôle de l'IBR.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement les responsables des laboratoires de dépistage des maladies animales et du laboratoire de Virologie du centre d'économie rurale de Marloie pour leur collaboration dans le programme de contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine, subventionné par la Région Wallonne.

Ils remercient également E. Baranowski, D. Boulanger, B. Limbourg, M. Denis, E. Hanon et G. Meyer pour les conseils et renseignements aimablement fournis, ainsi que J.-P. Georgin, J. et A. Brichaud pour leur précieuse aide technique.

SUMMARY

The control of infectious bovine rhinotracheitis (IBR)

The control of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) is now a major concern in the European Union in terms of cattle, semen and embryo trade. The eradication or control of this infection caused by bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) has been initiated in several countries or regions. The establishment of wild-type or vaccinal BHV-1 strains in a latent state, following primary infection, reinfection or even after vaccination with a live attenuated or inactivated vaccine, is considered as a major obstacle to control programmes. Latency allows the persistence of BHV-1 infection even in closed herds. Moreover, BHV-1 vaccination does not offer an epidemiological guarantee. In fact, current vaccines prevent clinical signs of the disease, but they are unable to prevent viral infection, latency, reactivation from latency and thus spread throughout a population. Therefore, new strategies of vaccination or new vaccines, as well as preventing clinical signs, should prevent the establishment of latency or at least reexcretion following reactivation. In addition, new vaccines should contain a serological marker to allow a distinction to be made between naturally infected and vaccinated animals. In this way, vaccination would be an important aid in the control and eradication of IBR. However, all strategies of control must take into account the risk that false negative animals may be present.

BIBLIOGRAPHIE

- ACKERMANN M., PETERHANS E., WYLER R. DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1982, **43**, 36-41.
- ACKERMANN M., WYLER R. The DNA of an IPV strain of bovine herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection. *Vet. Microbiol.*, 1984, **9**, 53-63.
- ACKERMANN M., BELAK S., BITSCH V., EDWARDS S., MOUSSA A., ROCKBORN G., THIRY E. Round table on infectious bovine rhinotracheitis / infectious pustular vulvovaginitis Virus infection infection diagnosis and control. *Vet. Microbiol.*, 1990a, **23**, 361-363.
- ACKERMANN M., MULLER H.K., BRUCKNER L., KIHM U. Eradication of infectious bovine rhinotracheitis in Switzerland: review and prospects. *Vet. Microbiol.*, 1990b, **23**, 365-370.
- AGUILAR-SETIÉN A., PASTORET P.-P., JETTEUR P., BURTONBOY G., S CHOENAERS F. Excrétion du virus de la rhinotrachéite bovine (IBR, Bovine herpesvirus 1) après injection de dexaméthasone, chez un bovin réagissant au test d'hypersensibilité retardée, mais dépourvu d'anticorps neutralisant ce virus. *Ann. Méd. vét.*, 1979, **123**, 93-101.
- ANONYME. Directive du Conseil du 14 juin 1988(88/407/CEE), *Journal Officiel des Communautés Européennes*, N° L194/10.

- ANONYME. Directive du Conseil du 5 mars 1990(90/120/CEE), *Journal Officiel des Communautés Européennes*, N° L71/37-38.
- ANONYME. L'Europe de la Santé Animale, Etat des lieux, F.N.G.D.S.B., Groupements de Défense Sanitaire, numéro spécial, n° 98, août-sept.-occ 1989, France.
- ANTOINE H., PASTORET P.-P. Virus associés aux maladies respiratoires des jeunes bovins en Belgique. In: *Maladies respiratoires des jeunes bovins: où en est-on? Où vat-on?*, Société française de Buiatrie, 1988, 36-41.
- BABIUK L.A., L'ITALIEN I., VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK S., ZAMB T., LAWMAN I.P., HUGUES G., GIFFORD G.A. Protection of cattle from bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) infection by immunization with individual viral glycoproteins. *Virology*, 1987, **159**, 57-66.
- BARTHA A., HAJDU G., ALDASY P., PACZOLAY G. Occurrence of encephalitis caused by infectious bovine rhinotracheitis virus in Hungary. *Acta Vet. Hung.*, 1969, **19**, 145-151.
- BELLO L. J., WHITBECK J.C., LAWRENCE W.C. Bovine herpesvirus 1 as a live vector for expression of foreign genes. *Viol.*, 1992, **190**, 666.
- BITSCH V. On the latency of infectious bovine rhinotracheitis virus infection and its significance, especially with regard to the possibility of controlling infection. In: *Latent Herpes Virus Infections in Veterinary Medicine*, G wittmann, Gaskell M., Rziha H.-J. (Eds), Martinus Nijhoff Publishers, Boston, 1984, 163-170.
- BRAR J.S., JOHNSON D.W., MUSCOPLAT C.C., SHOPE R.E., MEISKE J.C. Maternal immunity to infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhea Viruses: duration and effect on vaccination in young calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1978, **39**, 241-244.
- BRUCHHOF B.R., STRAUB O.C. BHV-1 Reactivierung nach verschiedenen Infektions- und Vakzinierungsarten. *Tieraerztl. Umschau*, 1993, **48**, 503-508.
- BULACH D. M., STUDDERT M.J. Comparative genome mapping of bovine encephalitis herpesvirus, bovine herpesvirus 1, and buffalo herpesvirus. *Arch. Virol.*, 1990, **113**, 17-34.
- CARILLO B.J., AMBROGI A., SCHUDEL A., VAZQUEZ M., DAHME E., POSPISCHIL A. Meningoencephalitis caused by IBR Virus in calves in Argentina. *J. Vet. Med.*, 1983, **30**, 327-332.
- CHOW L. T. Duration of immunity in heifers inoculated with infectious bovine rhinotracheitis Virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1972, **160**, 51-54.
- COX G.J.M., ZAMB T.J., BABIUK L.A. Bovine herpesvirus 1: immune responses in mice and cattle injected with plasmid DNA. *J. Virol.*, 1993, 5664-5667.
- DE MAEYER-GUIGNARD J. Interférons alpha et beta. In: *Les cytokines*, J.M. Cavaillon, Masson (Ed), Paris, 1993, 285-296.
- DENIS M., SLAOUI M., KEIL G., BABIUK L. A., ERNST E., PASTORET P.-P., THIRY E. Identification of different target glycoproteins for bovine herpes virus type 1-specific cytotoxic T lymphocytes depending on the method of *in vitro* stimulation. *Immunol.*, 1993, **78**, 7-13.
- DENIS M., SPLITTER G., THIRY E., P.-P. PASTORET, BABIUK L. A. Infectious bovine rhinotracheitis (bovine herpesvirus 1): helper T cells, cytotoxic T cells, and NK cells. In: *Cell-mediated immunity in ruminants*, Goddeeris B. M., Morrison W. I. (Eds), CRC Press, Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo, 1994, 159-174.
- DUFOUR B. La commission scientifique fait le point sur l'IBR. *GDS-info*, 1990, **100**, 15-23.
- EDWARDS S., WHITE H., NIXON P. A Study of the predominant genotypes of Bovid Herpesvirus 1 found in the U.K. *Vet. Microbiol.*, 1990, **22**, 213-223.
- EK-KOMMONEN C., PELKONEN S., NETTLETON P.F. Isolation of a herpesvirus serologically related to bovine herpesvirus 1 from reindeer (*Rangifer tarandus*). *Acta Vet. Scand.*, 1986, **27**, 299-301.
- ENGELS M., STECK F., WYLER R. Comparison of the genomes of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis virus strains by restriction endonuclease analysis. *Arch. Virol.*, 1981, **67**, 169-174.
- ENGELS M., GELDERBLOM H., DARAI G., LUDWIG H. Goat herpesviruses: biological and physicochemical properties. *J. Gen. Virol.*, 1983, **64**, 2237-2247.
- ENGELS M., LOEPFE E., WILD P., SCHRANER E., WYLER R. The genome of caprine herpesvirus 1: genome structure and relatedness to bovine herpesvirus 1. *J. Gen. Virol.*, 1987, **68**, 2019-2023.
- FORSCHNER E., BÜNGER I., SEIDLER M., PETERS E., RIENHOFF E., VOGEL R., HITZMANN G., DIETZE H., HAPPICH A., KÄHLER W. BHV 1-infektion der Rinder: Sanierung durch aktive Immunisierung seropositiver Tiere mit inaktiviertem Impfstoff - ein Feldversuch. *Deutsch. tierärztl. Wochenschr.*, **94**, 381-440.
- FRENCH E. L. A specific Virus encephalitis in calves: isolation and characterization of the causal agent. *Aust. Vet. J.*, 1962, **38**, 216-221.
- GAO Y., LEARY T. P., ESKRA L., SPLITTER G. A. Truncated bovine herpesvirus-1 glycoprotein I (gpl) initiates a protective locale immune response in its natural host. *Vaccine*, 1994, **12**, 145-151.
- GUERIN B., LE GUIENNE B., CHAFFAUX ST., HARLAY T., ALLIETTA M., THIBIER M. Contamination des ovocytes et des embryons fécondés *in vitro* après infection expérimentale de vaches donneuses par le virus herpes bovin de type 1 (BHV1). *Rec. Méd. Vét.*, 1989, **165**, 827-833.
- GUERIN B., MARQUANT-LE GUIENNE B., ALLIETTA M., HARLAY T., THIBIER M. Effets de la contamination par le BHV-1 sur la maturation et la fécondation *in vitro* des ovocytes de bovins. *Rec. Méd. Vét.*, 1990, **166**, 911-917.
- GUILLIAM S.E., THACKRAY A. M., BROWN G A., and FIELD H. J. The pathogenesis of wild type and drug resistant mutant strains of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) in the natural host. *Arch. Virol.*, 1993, **128**, 43-54.
- ISRAËL B.A., MARCHALL R. L., LETCHWORTH G. J. Epitope specificity and protective efficacy of the bovine immune response to bovine herpesvirus-1 glycoprotein vaccines. *Vaccine*, 1988, **6**, 349-356.
- ISRAËL B.A., HERBER R., GAO Y., LETCHWORTH G. J. Induction of a mucosal barrier to bovine herpesvirus 1 replication in cattle. *Virology*, 1992, **188**, 256-264.
- KAHRS R.F. Infectious bovine rhinotracheitis: a Review and Update. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1977, **171**, 1055-1064.
- KENDRICK J.W. Effect of the Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus on the Fetus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1973, **163**, 852-854.
- KIT S., QUAVI H., GAINES J.D., BILLINGSLEY P., MC CONNEL S. Thymidine kinase-negative Bovine herpesvirus type 1 mutant is stable and highly attenuated in calves. *Arch. Virol.*, 1985, **86**, 63-83.
- KIT S., OTSUKA H., KIT M. Gene-deleted IBRV marker vaccine. *Vet. Rec.*, 1990, **127**, 363-364.
- KIT S., OTSUKA H., KIT M. Blocking ELISA for distinguishing infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV)-infected animals from those vaccinated with a genedeleted marker vaccine. *J. Virol. Methods*, 1992, **40**, 45-56.
- LIANG X., BABIUK L.A., ZAMB T.J. An *in vivo* study of a glycoprotein gIII negative bovine herpesvirus 1 (BHV-1) mutant expressing β -galactosidase: evaluation of the role of gIII in virus infectivity and its use as vector for mucosal immunization. *Virology*, 1992, **189**, 629-639.
- LUPTON H.W., REED D.E. Clearance and shedding of infectious bovine rhinotracheitis virus from the nasal mucosa of immune and nonimmune calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1980a, **41**, 117-119.
- LUPTON H.W., REED D.E. Evaluation of experimental subunit vaccines for infectious bovine rhinotracheitis. *Am. J. Vet. Res.*, 1980b, **41**, 383-390.
- McKERCHER G., BIBRACK B., RICHARDS W.P.C. Effects of the Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus on the Central Nervous System of Cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1970, **156**, 1461-1467.
- MECHOR G.D., ROUSSEAU 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. 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 diarrhea vaccines. *Can. J. Comp. Med.*, 1985, **49**, 10-14.
- MENSIK J., POSPISIL Z., SUCHANKOVA A., CEPICA A., ROZOSNY V., MACHATKOVA M. Activation of latent infectious bo-

- vine rhinotracheitis after experimental infection with parainfluenza 3 virus in young calves. *Zentralbl. Vet. Med.*, 1976, **23 B**, 854-864.
- MILLER J.M. The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. Symposium of IBR virus. *Vet. Med.*, 1991, 95-98.
- MILLER J.M., VAN DER MAATEN M.J. Reproductive tract lesions in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1984, **45**, (4), 790-794.
- MILLER J. M., VAN DER MAATEN M.J., WHETSTONE C.A. Ovarian lesions induced in heifers by intravenous inoculation with modified-live infectious bovine rhinotracheitis virus on the day after breeding. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46**, (9), 1996-1999.
- MSOLLA P. M., ALLAN E. M., SELMAN I. E., WISEMAN A. Re-activation and shedding of Bovine herpesvirus 1 following *Dictyocaulus viviparus* infection. *J. Comp. Path.*, 1983, **93**, 271-274.
- NETTLETON P.F., SHARP J.M. Infectious bovine rhinotracheitis virus excretion after vaccination. *Vet. Rec.*, 1980, **107**, 379.
- NETTLETON P.F., SHARP J.M., HERRING A.J. Infectious bovine rhinotracheitis virus excretion after vaccination, challenge, and immunosuppression. In: G. Wittmann, R.M. Gaskell, H.-J. Rziha (Editeurs). Latent herpesvirus infections in veterinary medicine, Martinus Nijhoff Publishers, Boston, The Hague, Dordrecht, Lancaster, 1984, 191-209.
- NETTLETON P.F., THIRY E., REID H., PASTORET P.-P. Herpesvirus infections in Cervidae. *Rev. sci. tech. Off int. Epiz.*, 1988, **7**, 977-988.
- OFFAY D' J. M., MOCH R. E., FULTON R. W. Isolation and characterization of encephalitic bovine herpesvirus type 1 isolates from cattle in North America. *Am. J. Vet. Res.*, 1993, **54**, 534-539.
- PARSONSON I. M., SNOWDON W.A. The effect of natural and artificial breeding using bulls infected with, or semen contaminated with, infectious bovine rhinotracheitis virus. *Aust. Vet. J.*, 1975, **51**, 365-369.
- PASTORET P.-P., AGUILAR-SETIÉN A., BURTONBOY G., SCHOENARS F. Mesure de la réexcrétion du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine après injection de dexaméthasone. *Ann. Méd. Vét.*, 1978, **122**, 449-456.
- PASTORET P.-P., AGUILAR-SETIEN A., BURTONBOY G., MAGER J., JETTEUR P., SCHOENARS F. Effect of repeated treatment with dexamethasone on the re-excretion pattern of infectious bovine rhinotracheitis virus and humoral immune response. *Vet. Microbiol.*, 1979, **4**, 149-155.
- PASTORET P.-P., BABIUK L.A., MISRA V., GRIEBEL P. Reactivation of temperature-sensitive and non-temperature-sensitive infectious bovine rhinotracheitis vaccine virus with dexamethasone. *Inf. Immun.*, 1980, **29**, 483-488.
- 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.
- PASTORET P.-P., THIRY E., BROCHIER B., DERBOVEN G., VINDEVOGEL H. The role of latency in the epizootiology of infectious bovine rhinotracheitis. In: Latent herpesvirus infections in veterinary medicine, G. Wittmann, R.M. Gaskell, H.-J. Rziha (Eds), Martinus Nijhoff Publishers, Boston, The Hague, Dordrecht, Lancaster, 1984, 221-227.
- PASTORET P.-P., THIRY E. Diagnosis and prophylaxis of infectious bovine rhinotracheitis: the role of virus latency. *Comp. Immunol. Microbiol. infect. Dis.*, 1985, **8**, 35-81.
- PASTORET P.-P., THIRY E., THOMAS R. Logical description of Bovine herpesvirus type 1 latent infection. *J. Gen. Virol.*, 1986, **67**, 885-897.
- PASTORET P.-P., THIRY E., DUBUISSON J., BUBLOT M. La rhinotrachéite infectieuse bovine: pathogénie, épidémiologie et prophylaxie. In: Maladies respiratoires des jeunes bovins: où en est-on? Où va-t-on?, Société française de Buiatrie, 1988, 67-74.
- PASTORET P.-P., DETAL G., DIVE M., WAXWEILER S., WELLEMANS G., MARCOURT M., MAGONET P., DERNELLE E. Mesures à prendre au centre de sélection bovine de Ciney en vue de répondre aux nouvelles normes sanitaires imposées par la Commission européenne. *Ann. Méd. Vét.*, 1989, **133**, 247-256.
- PENSAERT M., GIELKENS A.L.J., LOMNICZI B., KIMMAN T.G., VANNIER P., ELOIT M. Round table on control of Aujeszky's disease and vaccine development based on molecular biology. *Vet. Microbiol.*, 1992, **33**, 53-67.
- PERRIN M., DANNACHER G., COUDERT M., FEDIDA M. La rhinotrachéite bovine infectieuse: résultats de l'enquête nationale 1978. *Rec. Méd. Vét.*, 1981, **157**, 485-490.
- POSPISIL Z., MENSÍK J., KREJCI J. Demonstration of infectious bovine rhinotracheitis Virus in newborn colostrum-deprived calves with particular reference to its epizootiological significance. *Zentralbl. Vet. Med. B*, 1979, **26**, 325-335.
- ROCK D., LOKENSGARD J., LEWIS T., KUTISH G. Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent bovine herpesvirus 1. *J. Virol.*, 1992, **66**, 2484-2490.
- ROIZMAN B., SEARS A. E. Herpes Simplex viruses and their replication. In: Fields Virology, Fields B. N., Knipe D. M. (Eds), Raven Press, New York, 1990, 1795-1841.
- RÜSCH P., ENGELS M., BERCHTOLD M., WYLER R. Untersuchungen über den Titerverlauf virusneutralisierender Antikörper nach akuter IBR. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 1981, **123**, 419-427.
- SCHWARZMAIER A., SCHMIDT B. Erfahrung bei BHV1-Sanierung im Reg.-Bez. Freiburg. *Tieraerztl. Umschau*, 1992, **47**, 140-149.
- SINGH E.L., THOMAS F.C., PAPP-VID G., EAGLESOME M.D., HARE W.C.D. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. II. The in vitro exposure of preimplantation bovine embryos to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Theriogenology*, 1982, **18**, (2), 133-140.
- SINGH E.L., HARE W.C.D., THOMAS F.C., EAGLESOME M.D., BIELANSKI A. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. IV. Non-transmission of infectious bovine rhinotracheitis / infectious pustular vulvovaginitis virus following trypsin treatment of exposed embryos. *Theriogenology*, 1983, **20**, (2), 169-176.
- STRAUB O.C. Über die Eignung eines Intrakutantests als diagnostisches Hilfsmittel bei der Bekämpfung der durch BHV1 hervorgerufenen Krankheiten. *Der praktische Tierarzt*, 1986, **12**, 1043-1048.
- STRAUB O.C. Untersuchungen zur Bestimmung der Rinderinfektionen Dosis bei einem virulenten und einem avirulenten BHV1-Stamm zur Ermittlung der Viruslatenz. *Tieraerztl. Umschau*, 1987, **42**, 231-234.
- STRAUB O.C. Infectious bovine rhinotracheitis Virus. In: virus infections of vertebrates, Horzinek M. C. (Series Ed), Vol. 3: Virus infections of ruminants, Dinter Z., Morein B. (Eds), Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo, 1990, 71-108.
- STRAUB O.C. BHV-1 infections: relevance and spread in Europe. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 1991, **14**, 175-186.
- STRAUB O.C., BENGELSDORFF H.-J., MOSER H. IBR-Belastungsversuche nach Impfung von Jungtieren mit der Rinder-grippe-IBR-Adsorbatvakzine Bovigrip plus. *Tieraerztl. Umschau*, 1986, **41**, 605-613.
- STRAUB O.C., BENGELSDORFF H.-J., WIZIGMANN G. Untersuchung zum Nachweis des bovinen Herpesvirus Typ 1 (BHV 1) mittels Intrakutantest. I. Mitteilung: Feldversuche. *J. Vet. Med.*, 1989, **36**, 757-764.
- STRAUB O.C., BENGELSDORFF H.-J., WIZIGMANN G. Untersuchung zum Nachweis des bovinen Herpesvirus Typ 1 (BHV 1) mittels Intrakutantest. II. Mitteilung: Experimentelle Untersuchungen. *J. Vet. Med.*, 1990, **37**, 35-46.
- STRAUB O.C., LORENZ R.J. Behandlung von im Atmungs- und Trakt latent BHV1-infizierten Rindern mit verschiedenen Immunsuppressiva. *Tieraerztl. Umschau*, 1991, **46**, 344-352.
- STRINGFELLOW D.A., LAUERMAN L.H., NASTI K.B., GALIK P.K. Trypsin treatment of bovine embryos after in vitro exposure to infectious bovine rhinotracheitis or bovine herpesvirus-4. *Theriogenology*, 1990, **3**, 427-433.
- THIBIER M., NIBART M. Disease control of embryo importations. *Theriogenology*, 1987, **27**, 37-47.
- THIBIER M., GUERIN B. Les biotechnologies de la reproduction et l'amélioration sanitaire du troupeau. *Rec. Méd. Vét.*, 1991, **167**, 249-258.
- THIRY E., BROCHIER B., HANTON G., DERBOVEN G., PASTORET P.-P. Absence de séroconversion envers le virus de la rhinotrachéite bovine (bovine herpesvirus 1, BHV 1, virus IBR) chez des bovins indemnes d'IBR, soumis à un test d'hypersensibilité retardée au BHV-1. *Ann. Méd. Vét.*, 1983a, **127**, 477-479.

- THIRY E., BROCHIER B., LANSIVAL B., HANTON G., DERBOVEN G., PASTORET P.-P. Réactivation du virus de la rhinotrachéite bovine (Bovine herpesvirus 1, BHV1) non accompagnée de réexcrétion de particules infectieuses, après injection de dexaméthasone, chez des bovins préalablement soumis au test d'hypermensibilité retardée au BHV-1. *Ann. Méd. Vét.*, 1983b, **127**, 377-381.
- THIRY E., BROCHIER B., LANSIVAL B., HANTON G., DERBOVEN G., PASTORET P.-P., ANTOINE H. Etude sur l'excrétion et la réexcrétion spontanée de deux souches vaccinales de la rhinotrachéite infectieuse bovine (Bovine herpesvirus 1) par des veaux sains maintenus en station de sélection. *Ann. Méd. Vét.*, 1983c, **127**, 87-95.
- 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., BROCHIER B., SALIKI J., PIRAK M., PASTORET P.-P. Excretion and reexcretion of thermosensitive and wild-type strains of infectious bovine rhinotracheitis virus after co-infection or two successive infections. *Vet. Microbiol.*, 1985a, **10**, 371-380.
- THIRY E., SALIKI J., SCHWERS A., PASTORET P.-P. Parturition as a stimulus of IBR virus reactivation. *Vet. Rec.*, 1985b, **116**, 599-600.
- THIRY E., DUBUISSON J., PASTORET P.-P. Pathogenesis, latency and reactivation of infections by herpesviruses. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1986, **5**, 209-222.
- THIRY E., SALIKI J., BUBLOT M., PASTORET P.-P. Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transport. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 1987, **10**, 59-63.
- THIRY E., WELLEMANS G., LIMBOURG B., BROES A., PASTORET P.-P. Effect of repeated intradermal injections of bovine herpesvirus type 1 antigen on seronegative cattle. *Vet. Rec.*, 1992, **130**, 372-375.
- TRUDEL M., BOULAY G., SEGUIN C., NADON F., LUSSIER G. Control of infectious bovine rhinotracheitis in calves with BHV-1 subunit-ISCOM vaccine. *Vaccine*, 1988, **6**, 525-529.
- TRYBALA E., WISNIEWSKI J. An intradermal test for the diagnosis of BHV-1 infection. The effect of repeated testing on the immune status of cattle. *J. Vet. Med.*, 1993, **40**, 73-77.
- VAN DER MAATEN M.J., MILLER J.M. Ovarian lesions in heifers exposed to infectious bovine rhinotracheitis virus by non-genital routes on the day after breeding. *Vet. Microbiol.*, 1984-85, **10**, 155-163.
- VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK S., GIFFORD G. A., BABIUK L.A. Epitope specificity of protective immune response induced by individual bovine herpesvirus-1 glycoproteins. *Vaccine*, 1990, **8**, 358-368.
- VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK S., GIFFORD G.A., BABIUK L.A. Epitope specificity of protective immune response induced by individual bovine herpesvirus-1 glycoproteins. *Vaccine*, 1993a, **8**, 358-368.
- VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK S., PARKER M.D., MASSIE B., VAN DEN HURK J.V., HARLAND R., BABIUK L.A., ZAMB T.J. Protection of cattle from BHV-1 infection by immunization with recombinant glycoprotein gIV. *Vaccine*, 1993b, **11**, 25-35.
- VAN MALDEREN G., VAN OPDENBOSCH E., WELLEMANS G. Bovien herpesvirus 1 en 4: een sero-epidemiologisch onderzoek van de Belgische rundveestapel. VI. *Diergeneesk. Tijdschr.*, 1987, **4**, 364-371.
- VAN NIEUWSTADT A.P., VERHOEFF J. Epidemiology of BHV-1 infections in dairy herds. *J. Hyg., Camb*, 1983, **91**, 308-318.
- VAN OIRSCHOT J.T., STRAVER P.J., VAN LIESHOUT A.H., QUAK J., WESTENBRINK F., VAN EXSEL A.C.A. A subclinical infection of bulls with bovine herpesvirus type 1 at an artificial insemination centre. *Vet. Rec.*, 1993, **132**, 32-35.
- VANDERPLASSCHEN A., BUBLOT M., PASTORET P.-P., THIRY E. Restriction maps of the DNA of cervid herpesvirus 1 and cervid herpesvirus 2, two viruses related to bovine herpesvirus 1. *Arch. Virol.*, 1993, **128**, 379-388.
- VEDEAU F. Enquête I.B.R. *GDS-Info*, 1993, **113**, 7-16.
- WELLEMANS G., VANOPDENBOSCH E., OUDEWATER I. Isolement d'un virus BHV1 (Bovine herpesvirus 1) dans le sperme de deux taureaux séropositifs. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, **137**, 119-120.
- WENTINK G.H., VAN OIRSCHOT J.T., VERHOEFF J. Risk of infection with bovine herpes virus 1 (BHV1): a review. *Vet. Q.*, 1993, **15**, 30-33.
- WHETSTONE C. A., MILLER J. M. Two different strains of alphaherpesvirus can establish latency in the same tissue of host animal: evidence from bovine herpesvirus 1. *Arch. Virol.*, 1989, **107**, 27-34.
- WHETSTONE C. A., MILLER J. M., BORTNER D.M., VAN DER MAATEN M.J. Changes in the bovine herpesvirus 1 genome during acute infection, after reactivation from latency, and after superinfection in the host animal. *Arch. Virol.*, 1989, **106**, 261-279.
- WHETSTONE C. A., MILLER J. M., SEAL B.S., BELLO L.J., LAWRENCE W.C. Latency and reactivation of a thymidine kinase-negative bovine herpesvirus 1 deletion mutant. *Arch. Virol.*, 1992, **122**, 207-214.
- WITTMANN G., RZIHA H.-J. Aujeszky's disease (Pseudorabies) in pigs. In: *Herpesvirus Diseases of Cattle, Horse and Pigs*, G. Wittman (Ed), Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, 1989, 176-228.
- WYLER R., ENGELS M., SCHWYZER M. Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV-1). In: *Herpesvirus Diseases of Cattle, Horse and Pigs*, G. Wittman, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, 1989, 1-72.
- ZUFFA A., FEKETOVA N. Protection of cattle vaccinated with inactivated oil-adjuvant IBR-vaccine against experimental infection. *Zentralbl. Vet. Med. B*, 1980, **27**, 725-733.
- ZYGRAICH N., LOBMANN M., VASCOBOINIC E., BERGE E., HUYGELEN C. In vivo and in vitro properties of a temperature sensitive mutant of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Res. Vet. Sci.*, 1974, **16**, 328-335.