

Nouveautés sur le pestivirus BVD/MD, et sur l'infection asymptomatique qu'il provoque chez les bovins

BOULANGER D., MIGNON B., WAXWEILER S.,
KARLELLE-BUI THI L., LONCAR M., DUBUISSON J.,
KOROMYSLOV I., THIRY E., PASTORET P.P.

Département de Virologie-Immunologie,
Faculté de Médecine Vétérinaire, ULg.,
rue des Vétérinaires, 45
B-1070 Bruxelles, Belgique

Extrait d'une leçon donnée par P.P. PASTORET dans le cadre de la chaire Francqui au titre belge, à l'Université libre de Bruxelles, le 02/02/1990.

I. INTRODUCTION

L'infection asymptomatique des bovins par le virus BVD-MD responsable de la maladie des muqueuses présente un intérêt particulier puisqu'elle est associée à un état d'immunotolérance (PASTORET *et al.*, 1987; DEMEUR *et al.*, 1990). En outre l'impact économique de cette infection (HARKNESS, 1987) a justifié l'instauration de nouvelles mesures de lutte au sein de la communauté européenne (PASTORET *et al.*, 1989).

Pendant longtemps, les connaissances sur le Pestivirus responsable étaient difficiles à acquérir, du fait de ses propriétés particulières qui rendent difficiles sa production et sa purification.

Depuis le premier séquençage du génome d'un pestivirus par RENARD *et al.* (1985; 1987 a, b et c), les progrès dans la connaissance de la biologie moléculaire de ces virus ont été extrêmement rapides. Ces progrès ont

également eu des répercussions sur la compréhension de la pathogénie des maladies associées à l'infection par le virus BVD-MD. En effet, depuis que BROWNLIE *et al.* ont, en 1984, à la suite des travaux de l'équipe de LIESS (1974), reproduit expérimentalement la maladie des muqueuses, beaucoup d'inconnues sur les mécanismes responsables ont été levées.

L'infection par le virus BVD-MD ayant déjà fait l'objet d'un article de synthèse dans cette même revue (NETTLETON *et al.*, 1985), celui-ci se concentrera sur les acquisitions des cinq dernières années. Une revue plus récente avait la physiopathologie de l'infection comme principal objet (PASTORET *et al.*, 1986).

2. CLASSIFICATION DU VIRUS BVD-MD ET ORGANISATION GENOMIQUE

Le virus BVD-MD est un virus enveloppé à ARN monocaténaire de

polarité positive. Il fait partie du genre pestivirus tout comme le virus de la peste porcine classique, Hog Cholera virus (HCV), et le virus de la maladie des frontières, Border Disease virus (BDV), chez le mouton, avec lesquels il présente une grande parenté antigénique (DARBYS-HIRE, 1960; DINTER, 1963; GARDINER et BARLOW, 1972; ACLAND *et al.*, 1972; WENSVOORT *et al.*, 1986, 1989).

Les pestivirus ont été classés parmi les *Togaviridae* (WESTAWAY *et al.*, 1985), mais des études récentes portant sur leur organisation génomique et leur stratégie d'expression ont relevé des différences fondamentales. En effet, contrairement aux *Togaviridae*, l'ARN des pestivirus, bien qu'il soit infectieux, ne possède pas de queue polyadénylée, aucun ARN subgénomique n'a été mis en évidence et les protéines de structure sont codées par l'extrémité 5' de l'ARN (RENARD *et al.*, 1987 a; COLLETT *et al.*, 1988 b et c). En outre, le séquençage du génome des pestivirus (BVDV : RENARD *et al.*, 1987 b; COLLETT *et al.*, 1988 c; HCV : MEYERS *et al.*, 1989 a; MOORMANN *et al.*, 1990) et la comparaison de ces séquences avec celles des flavivirus ont permis de déceler de courts segments homologues chez ces 2 groupes de virus (COLLETT *et al.*, 1988 a; BAZAN et FLETTERICK, 1989). COLLETT *et al.*, (1988 b) proposent dès lors de classer les pestivirus parmi les *Flaviviridae*.

3. LES PROTEINES CODEES PAR LE VIRUS BVD-MD

a) Protéines virales

Les résultats des premières études portant sur les protéines virales ont montré une grande hétérogénéité dans le nombre et le poids moléculaire.

laire des protéines mises en évidence (PRITCHETT et ZEE, 1975; MATTHAEUS, 1979; CORIA *et al.*, 1983). Les résultats obtenus ces dernières années concordent davantage (PURCHIO *et al.*, 1984; POCKOCK *et al.*, 1987; DONIS et DUBOVI, 1987 a et b; MAGAR *et al.*, 1988). Vu la difficulté de purifier le virus, ces différents auteurs ont travaillé sur du lysat cellulaire infecté et n'ont pas pu établir avec certitude quelles sont les protéines de structure, les précurseurs et les protéines fonctionnelles parmi les 12 protéines, de poids moléculaire compris entre 19 et 165 kd, identifiées par DONIS et DUBOVI (1987 a et b). Cependant, les résultats des études portant sur l'organisation génomique du virus BVD-MD (COLLETT *et al.*, 1988 b) tendent à confirmer l'existence de 2 glycoprotéines (gp 53 et gp 48) vraisemblablement présentes au niveau de l'enveloppe virale et ayant été mises en évidence par DONIS et DUBOVI (1987 b). La protéine E1 du virus de la peste porcine a été caractérisée (WENSVOORT *et al.*, 1990).

b) Etudes menées à l'aide d'anticorps monoclonaux

Certains anticorps monoclonaux obtenus reconnaissent la protéine fonctionnelle de 80 kd immunodominante présente uniquement chez les souches cytopathogènes et qui a été décrite par BOLIN (1988) et DONIS et DUBOVI (1987 a et c). La 2ème protéine reconnue par ces anticorps monoclonaux est le précurseur de la protéine de 80 kd qui est présent chez les 2 biotypes (BOLIN, 1988; DONIS et DUBOVI, 1987 a et c; PURCHIO *et al.*, 1984; COLLETT *et al.*, 1988 b).

La séquence en acides aminés de cette protéine de 80 kd est très bien conservée parmi les souches de BVDV : presque 100 % d'homologie entre NADL et Osloss cytopathogène (COLLETT *et al.*, 1989).

D'autres anticorps monoclonaux reconnaissent une glycoprotéine majeure d'une cinquantaine de kd (55 kd selon MAGAR *et al.*, 1988; 56 kd selon BOLIN *et al.*, 1988; gp 56-58 selon DONIS *et al.*, 1988; gp 53 selon la nomenclature de COLLETT *et al.*, 1988 b).

Les épitopes de cette glycoprotéine ont pu être localisés à l'aide d'anticorps monoclonaux chez le virus BVD-MD et le virus de la peste porcine classique (MOENNIG, 1989; WENSVOORT, 1989). MOENNIG (1990) a constaté que la majorité de ces épitopes étaient de type conformationnel. RÜMENAPF *et al.*, (1989) ont également observé que les protéines virales dénaturées ne sont reconnues par un sérum polyclonal de chèvre que si cette dernière a été immunisée avec de l'antigène dénaturé.

Enfin, DONIS *et al.*, (1988) ont obtenu un anticorps monoclonal dirigé contre la glycoprotéine de 48 kd.

4. NEUTRALISATION VIRALE

Plusieurs auteurs ont obtenu des anticorps monoclonaux neutralisant le virus BVD-MD. Ces anticorps reconnaissant tous la gp 53 (MAGAR *et al.*, 1988; BOLIN *et al.*, 1988; DONIS *et al.*, 1988; WEILAND *et al.*, 1989), cette protéine se trouve vraisemblablement à la surface du virion. Son rôle dans l'attachement et la pénétration virale reste à démontrer. Cette glycoprotéine semble varier fortement d'une souche à l'autre puisque certains anticorps la reconnaissant ne réagissent pas avec toutes les souches (MAGAR *et al.*, 1988). En outre, certains anticorps monoclonaux neutralisant le pouvoir infectieux de certaines souches virales se fixent sur d'autres souches sans les neutraliser (MOENNIG, 1990). Cette variabilité antigénique pourrait être en partie responsable des échecs observés lors de l'expérimentation des vaccins.

Etant donné la difficulté de purifier le virus BVD-MD, l'antigène servant à immuniser les souris en vue de réaliser des fusions est inmanquablement contaminé par des fragments cellulaires, ce qui conduit à l'obtention d'un nombre élevé d'anticorps monoclonaux dirigés contre des protéines cellulaires. Le nombre de ces anticorps monoclonaux peut cependant être diminué en traitant les souris préalablement à la cyclophosphamide (WEILAND *et al.*, 1989). TEYSSEDOU *et al.*, (1987) ont ob-

servé que certains de ces anticorps anti-protéines cellulaires montraient une activité neutralisante partielle due sans doute à la fixation de l'anticorps sur ou à proximité du récepteur cellulaire du virus. Récemment, MOENNIG (1990) a également obtenu un anticorps monoclonal dirigé contre une protéine de surface de cellule bovine neutralisant partiellement l'infectivité d'un certain nombre de souches du virus BVD-MD.

5. DIFFERENCES ENTRE LES SOUCHES CYTOPATHOGENES ET NON CYTOPATHOGENES AU NIVEAU DES PROTEINES

Le virus BVD a été isolé sous 2 formes, ou biotypes, différenciables *in vitro* : le biotype cytopathogène induit, en culture cellulaire, un effet cytopathogène caractérisé par une vacuolisation des cellules infectées qui sont ensuite lysées, tandis que le biotype non cytopathogène ne provoque pas de lyse cellulaire et est fortement associé à la cellule.

Des tests d'immunofluorescence indirecte réalisés à l'aide d'un grand nombre d'anticorps monoclonaux dirigés contre les 2 glycoprotéines majeures, gp 53 et gp 48, ont montré qu'il existe une grande similitude antigénique entre les 2 biotypes d'une même souche virale, tandis que les différences entre les souches sont beaucoup plus marquées. Cette constatation renforce l'hypothèse d'une mutation de la forme non cytopathogène en cytopathogène (CORAPI *et al.*, 1988) expliquant la pathogénie de la maladie des muqueuses.

Les 2 biotypes d'une même souche virale induisent la synthèse de protéines de poids moléculaires identiques à l'exception de la protéine fonctionnelle de 80 kd qui est absente chez toutes les souches non cytopathogènes testées (DONIS et DUBOVI, 1987 a; POCKOCK *et al.*, 1987, MAGAR *et al.*, 1988).

Cependant, JOHNSON et ROSENBUSCH (1990) ont observé un effet cytopathogène sur des cellules en-

dothéliales bovines infectées par la souche NY-1 alors que cette souche est non cytopathogène sur les autres types cellulaires utilisés couramment pour la production du BVDV (cellules bovines testiculaires, rénales et des cornets nasaux). Les interactions entre le BVDV et ses cellules hôtes diffèrent donc selon la nature de celles-ci. En outre, sur ces cellules endothéliales, ces auteurs mettent en évidence 2 protéines virales (92 kd et 72 kd) absentes sur les cellules des cornets nasaux et suggèrent que leur apparition serait due à la présence de protéases cellulaires particulières.

6. LE ROLE DE L'UBIQUITINE

En comparant la séquence génomique de deux souches cytopathogènes du virus BVD, et d'une souche du virus suipéste (MEYERS *et al.*, 1989 a), ces mêmes auteurs (1989 b), ainsi que BROWNLIE (1990), ont constaté la présence d'insertions dans le gène du virus BVD codant pour la protéine de 120 kd, précurseur de la protéine de 80 kd, et qui pourraient modifier sa maturation. La séquence en acides aminés déduite de l'insertion observée dans la souche Osloss est presque identique à celle de l'ubiquitine animale; en effet, cette séquence ne diffère que de deux acides aminés parmi les 76 conservés dans toutes les espèces animales.

Sur base de ces observations, ces auteurs ont proposé une nouvelle interprétation de la genèse des souches cytopathogènes provoquant la maladie des muqueuses. Chez un animal infecté de manière persistante, une souche non cytopathogène du virus BVD se transforme en souche pathogène par l'acquisition, par recombinaison, de séquences nucléotidiques cellulaires.

7. LOCALISATION DES ISOLEMENTS DES SOUCHES CYTOPATHOGENES OU NON, CHEZ LES BOVINS INFECTES

CLARKE *et al.*, (1987) ont examiné la répartition des souches cytopatho-

gènes ou non dans les tissus d'animaux infectés de manière asymptomatique ou morts de maladie des muqueuses. En effet, il avait été établi tout d'abord que des bovins infectés de manière persistante par une souche non cytopathogène du virus BVD pouvaient succomber ultérieurement de maladie des muqueuses, le plus souvent entre 6 et 24 mois d'âge (MALMQUIST, 1968; LIESS *et al.*, 1974; STECK *et al.*, 1980; ROEDER et DREW, 1984), ensuite, que l'on retrouvait chez des bovins atteints de maladie des muqueuses, les deux types de souches (BROWNLIE *et al.*, 1984) et, enfin, que la maladie des muqueuses pouvait être expérimentalement reproduite par la surinfection d'animaux porteurs asymptomatiques de virus non cytopathogène à l'aide d'une souche cytopathogène du même virus (BROWNLIE *et al.*, 1984; BOLIN *et al.*, 1985 b).

CLARKE *et al.* ont tout d'abord examiné 28 cas de maladie des muqueuses survenus naturellement et 53 animaux virémiques persistants qui ne présentaient aucun signe clinique. Des souches cytopathogènes et non cytopathogènes étaient concomitamment isolées chez les animaux qui souffraient de maladie des muqueuses, alors que seules des souches non cytopathogènes étaient isolées des animaux infectés de manière persistante. Ces observations, en plus des résultats des reproductions expérimentales de maladie des muqueuses, confirment que les deux types de souches sont nécessaires pour générer cette maladie. Ces mêmes auteurs ont observé davantage de souches cytopathogènes dans les prélèvements intestinaux, alors que les souches non cytopathogènes étaient associées aux cellules sanguines, aux organes associés à la circulation sanguine et au tractus respiratoire. Ces résultats ont été confirmés par BIELEFELDT OHMANN (1988). Les deux types de souches semblent donc manifester un tropisme différent. Des antigènes viraux de souches non cytopathogènes ont également été retrouvés au niveau du système nerveux central des animaux infectés de manière persistante (HEWICKER *et al.*, 1990).

8. PATHOGENIE ET EPIDEMIOLOGIE DE L'INFECTION PAR LE VIRUS BVD

Le virus BVD-MD représente un agent pathogène majeur pour le bétail et est très répandu en Europe et en Amérique du Nord (36 à 88 % des bovins possèdent des anticorps dirigés contre ce virus) ainsi qu'en Afrique et en Australie (PASTORET *et al.*, 1986).

Le mode de transmission et le biotype (cytopathogène ou non cytopathogène) de la souche infectante influencent la pathogénie de l'infection.

Lors d'une transmission horizontale, le virus, généralement non cytopathogène, pénètre au niveau oro-nasal, conjonctif ou génital, s'y multiplie, puis est transporté par voie sanguine vers d'autres organes cibles tels que la muqueuse intestinale. Ce mode de transmission peut entraîner l'apparition d'une diarrhée ordinairement bénigne s'accompagnant d'une fièvre modérée et d'une leucopénie transitoire, mais pouvant aussi être responsable d'une chute de la production dans les exploitations laitières. Des anticorps neutralisants apparaissent 2 à 3 semaines après l'infection (BROWNLIE *et al.*, 1987).

A côté de ce tableau relativement bénin, une forme sévère a également été observée. Elle se caractérise par une forte hyperthermie, une diarrhée aqueuse, parfois sanguinolante, de la leucopénie, de l'anémie et une thrombocytopénie sévère; elle peut entraîner des mortalités (CORAPI *et al.*, 1989).

Si une vache est infectée en cours de gestation, le virus peut traverser la barrière placentaire et contaminer le fœtus (transmission épigénétique). L'issue de l'infection dépendra du type de souche impliqué (cytopathogène ou non) et du stade du développement fœtal au moment où elle se produit. Si une souche non cytopathogène infecte une vache avant environ le 110^e jour de gestation, il peut en résulter des résorptions embryonnaires, des avortements, des momi-fications fœtales, des mortina-

talités ultérieures ou la naissance de veaux présentant des malformations oculaires et du système nerveux et, enfin, la naissance de veaux infectés de manière persistante (BROWNLIE *et al.*, 1987; McCLURKIN *et al.*, 1984) par le biotype non cytopathogène de la souche infectante et immunotolérants envers cette souche. L'immunotolérance est acquise par présentation des antigènes viraux pendant la période critique (DEMEUR *et al.*, 1990). Ces veaux, apparemment sains dans la majorité des cas, excrètent continuellement le virus sous sa forme non cytopathogène et contaminent le reste du troupeau de façon silencieuse. La présence d'un animal infecté de manière persistante dans un troupeau reproducteur peut avoir de graves conséquences :

- une vache infectée de manière persistante donnera naissance à des veaux infectés de manière persistante perpétuant ce cercle vicieux;
- un taureau infecté de manière persistante peut transmettre le virus par son sperme (importance cruciale dans les centres d'insémination artificielle) (CORIA et McCLURKIN, 1978);
- lors de transfert d'embryons, il y a également un risque de transmission du virus BVD-MD à la vache receveuse si l'embryon provient d'une vache porteuse infectée de manière persistante.

Si le fœtus est infecté à un stade plus avancé de la gestation, il développe une immunité active et stérilisante.

Si l'animal est infecté par une souche cytopathogène, les conséquences de l'infection fœtale diffèrent (BROWNLIE *et al.*, 1989). Le biotype cytopathogène peut également traverser la barrière placentaire, mais sans provoquer d'avortement ni la naissance de veaux infectés de manière persistante. Il pourrait cependant être responsable de mortinatalités. Si l'infection se produit après le 110ème jour de gestation, le fœtus produit des anticorps spécifiques (séroconversion).

BROWNLIE *et al.*, (1989) ne sont pas parvenus à réisoler ce biotype chez des fœtus infectés 6 jours au-

paravant. Ils suggèrent dès lors que les cellules cibles du biotype cytopathogène, contrairement à celles du biotype non cytopathogène, ne sont pas encore différenciées avant la période d'immunocompétence, ce qui empêcherait le virus de s'établir de manière persistante.

Seuls les veaux infectés de manière persistante peuvent développer la maladie des muqueuses à issue toujours fatale. Les animaux atteints hébergent les 2 biotypes du virus. Comme mentionné précédemment, le biotype cytopathogène peut être détecté préférentiellement au niveau du tractus digestif (duodénum, jéjunum, rumen, réseau,...) alors que le biotype non cytopathogène peut être isolé de la plupart des organes et à partir des leucocytes sanguins (CLARKE *et al.*, 1987; BIELEFELDT OHMANN *et al.*, 1987); l'infection concerne les lymphocytes B et T, les monocytes et les cellules nulles.

Il est remarquable de constater que seules des souches non cytopathogènes sont isolées du tractus respiratoire (NETTLETON *et al.*, 1987; BARBER *et al.*, 1985).

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer le déclenchement de cette maladie, certaines d'entre elles ont déjà été évoquées plus haut :

- elle surviendrait après surinfection du veau infecté de manière persistante par une souche cytopathogène antigéniquement identique, par exemple, à l'occasion d'une vaccination (PASTORET *et al.*, 1986). Une surinfection par une souche hétérologue, induirait une séroconversion d'autant plus rapide et importante que la souche surinfectante est antigéniquement plus éloignée de la souche non cytopathogène persistante (BOLIN, 1988). Ce phénomène permet d'expliquer la présence d'anticorps anti-virus BVD chez des animaux infectés de manière persistante (WAXWEILER *et al.*, 1989) qui devraient normalement en être dépourvus puisqu'immunotolérants.
- une mutation transformerait le biotype non cytopathogène en cy-

topathogène (BROWNLIE *et al.*, 1987; HOWARD *et al.*, 1987). Comme rappelé précédemment, au niveau protéique, les deux biotypes ne diffèrent que par la présence, chez le biotype cytopathogène, d'une protéine non structurale de 80 kd (p 80), dont on ignore encore la fonction, et qui dérive d'une protéine précurseur de 120 kd (p 120), présente chez les deux biotypes. Cette protéine de 120 kd subirait donc une mutation qui la rendrait sensible à une protéase d'origine virale ou cellulaire. Cette hypothèse est renforcée par l'étude de la variabilité antigénique des souches du virus BVD-MD dans la population bovine et au niveau des couples cytopathogène - non cytopathogène qui a montré que les 2 biotypes sont antigéniquement semblables (CORAPI *et al.*, 1988).

- la dernière hypothèse, la plus récente, implique un phénomène de recombinaison entre des séquences nucléotidiques cellulaires et le génome du biotype non cytopathogène qui aurait pour effet de modifier la maturation de la protéine de 120 kd. Des séquences étrangères ont en effet été décelées chez les deux souches de virus séquencées à ce jour : OSLOSS-c (RENARD *et al.*, 1985) et NADL (COLLETT *et al.*, 1988 c). Dans la souche OSLOSS-c, comme mentionné auparavant, la séquence en acides aminés déduite de l'insert est pratiquement identique à celle de l'ubiquitine, alors que l'insert de la souche NADL ne correspond à aucune séquence connue (MEYERS *et al.*, 1989 b; BROWNLIE, 1990).

D'après BROWNLIE *et al.*, (1987), dans certains cas, la surinfection d'animaux infectés de manière persistante par une souche cytopathogène du virus BVD, antigéniquement proche de la souche persistante provoquerait un syndrome différent de la maladie des muqueuses qui se traduirait par un affaiblissement progressif et inexorable des animaux («runting»), qui est régulièrement observé par les praticiens sans qu'ils puissent en préciser l'étiologie.

9. DIAGNOSTIC ET EPIDEMOLOGIE

Les veaux infectés de manière persistante jouent donc un rôle essentiel dans l'épidémiologie de l'infection par le virus BVD, puisque ces animaux sont, en définitive, la source des biotypes non cytopathogènes et, après mutation ponctuelle ou recombinaison, également la source des biotypes cytopathogènes capables de déclencher la maladie des muqueuses. Il est donc important de pouvoir identifier ces animaux et de les éliminer des troupeaux. Heureusement, leur nombre est assez restreint (BOLIN *et al.*, 1985 a; WAXWEILER *et al.*, 1989; PETERS *et al.*, 1987; BAUM *et al.*, 1989). L'incidence des animaux infectés persistants peut cependant se révéler étonnamment élevée dans certaines conditions d'élevage. C'est ainsi que dans un troupeau de type viandeux au pis, 10 des 21 veaux survivants nés de 34 vaches exposées au début de la gestation à une vache virémique furent démontrés être des infectés persistants (ROEDER et DREW, 1984).

Le diagnostic de l'infection persistante par le virus BVD reste fastidieux à établir en laboratoire (WAXWEILER *et al.*, 1989) et peut difficilement être généralisé à l'ensemble des troupeaux, dans l'état actuel des choses. Des améliorations sont cependant attendues dans un proche avenir, soit par l'application des techniques de l'ingénierie génétique (LECOMTE *et al.*, 1990) ou l'utilisation d'anticorps monoclonaux (PETERS *et al.*, 1986; CAY *et al.*, 1989; BOULANGER *et al.*, 1990).

La circulation de souches non cytopathogènes du virus BVD-MD a été suivie parmi les lots de taurillons du centre de sélection bovine de Ciney (WAXWEILER *et al.*, 1989), où la transmission épigénétique est évidemment exclue. Les résultats de la recherche de souches non cytopathogènes de virus BVD dans les prélèvements provenant des animaux soumis au test de performances nous montrent que 2,7 % des animaux sont positifs lors de la première prise de sang contre seulement 0,72 % à la seconde. Ceci montre l'absolue né-

cessité de procéder à deux prélèvements successifs à un mois d'intervalle pour s'assurer de la portée d'un examen positif lors d'une première prise. Il semble en effet qu'un nombre relativement important d'animaux font une virémie primaire consécutive à une transmission horizontale du virus au départ d'un petit nombre d'animaux réellement porteurs persistants ou en cours d'infection primaire. En effet, 4 animaux seulement sur 554 testés étaient réellement porteurs persistants parmi ceux soumis au test de performances et au moins deux parmi les 97 taurillons soumis au test de la descendance.

Huit animaux soumis au test de la descendance étaient virémiques à la seconde prise de sang, sans l'être à la première. Cet état peut s'expliquer soit par l'existence d'une virémie consécutive à une infection horizontale, soit par un état de portage persistant dont la détection était contrariée à la première prise de sang par les anticorps d'origine maternelle. Une troisième prise de sang serait donc nécessaire pour décider du statut réel de ces animaux.

Ceci justifie également de ne rechercher les infectés persistants qu'à partir de l'âge de 6 mois pour être à l'abri d'une interférence éventuelle des anticorps d'origine maternelle. Il faut cependant signaler que les anticorps spécifiques anti-virus BVD acquis passivement par les animaux nés infectés persistants d'une mère normale suite à une infection primaire pendant la gestation, disparaissent plus rapidement que les anticorps acquis activement (CORIA et McCLURKIN, 1978). Cette situation pourrait être à l'origine de la formation d'immunocomplexes en excès, qui expliquent une partie de la pathologie éventuellement associée à l'état de porteur persistant (PASTORET *et al.*, 1986). En outre certains animaux peuvent être porteurs persistants tout en étant légèrement séropositifs, car ils peuvent avoir été surinfectés par une souche qui diffère antigéniquement de celle qu'ils hébergent (voir ci-dessus).

Quatre-vingt-un pour cent des animaux du centre de sélection soumis au test de la descendance et 88 % des

animaux soumis au test de performances appartiennent à la catégorie des animaux qui ne changent pas de statut entre deux prises de sang (virus — sérologie +). Plus de 80 % des animaux appartenant aux deux groupes (descendance et performances) sont sérologiquement positifs à leur première prise de sang alors qu'ils sont de provenances diverses. Ce pourcentage élevé n'empêche cependant pas le virus de circuler dans les troupeaux comme en témoigne le fait que près de 3 % des animaux soumis au test de performances présentaient une virémie à la première prise de sang alors qu'il n'y avait que quatre porteurs persistants dans ce groupe de 554 animaux.

Chez la majorité des individus, l'infection par le BVDV est subclinique, mais l'immunodépression transitoire provoquée lors d'une infection par le virus BVD-MD pourrait potentialiser l'action d'autres agents pathogènes (PASTORET *et al.*, 1986). En dépit du fait que la transmission horizontale du virus s'opère principalement par voie respiratoire, l'association de cette infection avec une symptomatologie respiratoire est peu documentée et le rôle exact du virus BVD dans les maladies du bétail à l'engrais n'est pas clairement établi (LOPEZ *et al.*, 1986; POTGIETER *et al.*, 1984 a et b et 1985). Les infections expérimentales du tractus respiratoire ne produisent d'ailleurs que des lésions bénignes (LOPEZ *et al.*, 1986; POTGIETER *et al.*, 1984 b; TYLER et RAMSEY, 1965). Si le virus BVD ne semble pas être un agent pathogène primaire important, il favorise cependant l'envahissement par d'autres virus (tels que les virus IBR ou PI3) et peut ouvrir la voie à une invasion bactérienne conduisant alors à une symptomatologie respiratoire plus accusée (POTGIETER, 1984 a et b et 1985).

Parmi les animaux du centre de Sélection soumis au test de performances, nous n'avons pas pu établir de relation entre les troubles respiratoires observés et la présence de souches non cytopathogènes de virus BVD. Nos observations contrastent quelque peu avec celles de Nettleton *et al.*, (1987; BARBER *et al.*, 1985) qui ont constaté une augmentation

de l'incidence des pneumonies après l'introduction accidentelle de virus BVD dans un troupeau laitier auparavant indemne. Les cas de pneumonie observés n'intéressaient cependant que des veaux à partir desquels ces auteurs n'ont pu isoler que des souches non cytopathogènes. De même, STOTT *et al.*, (1980) n'ont jamais pu isoler de souches cytopathogènes de virus BVD de bovins présentant des troubles respiratoires.

10. PROPHYLAXIE

Les conséquences non négligeables du point de vue économique et les

fréquentes contaminations silencieuses imposent un contrôle de l'infection des troupeaux. Deux champs d'action peuvent être envisagés :

1° une prophylaxie hygiénique visant à éliminer les animaux infectés de manière persistante, mais malheureusement, les tests de détection mis au point jusqu'à ce jour sont lourds, coûteux et donc inapplicables à une grande échelle; des améliorations peuvent être attendues dans un proche avenir (FENTON *et al.*, 1989).

2° une prophylaxie vaccinale qui empêcherait le développement de la phase virémique lors d'une

infection aiguë, donc également la transmission du virus au fœtus, (ROEDER, 1986; ERNST et BUTLER, 1983; RADOSTITS et LITTLEJOHNS, 1988; VISO, 1986; DUFEL et HARKNESS, 1985).

En matière de vaccination également, des progrès peuvent être attendus de l'application des techniques dérivées de la biologie moléculaire; un virus recombinant vaccine-BVD, vient d'être récemment obtenu (DUBOVI *et al.*, 1987).

BIBLIOGRAPHIE

- ACLAND H.M., GARD G.P. and PLANT J.W. Infection of sheep with a mucosal disease virus. *Aust. Vet.*, 1972, **48**, 70-75.
- BARBER D.M.L., NETTLETON P.F. et HERRING J.A. Disease in a dairy herd associated with the introduction and spread of bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.*, 1985, **117**, 459-464.
- BAUM K.H., PERRY B.D., LESSARD P., DUBOVI E.J., SNOWDEN HUNTER W., HOOKE R.L. Epidemiology of bovine viral diarrhoea disease in beef cattle. *Continuing education*, 1989, **11**, 1149-1156.
- BAZAN J.F. and FLETTERICK R.J. Detection of a trypsin-like serine protease domain in Flaviviruses and Pestiviruses. *Virology*, 1989, **171**, 637-639.
- BIELEFELDT OHMANN. BVD virus antigens in tissues of persistently viraemic, clinically normal cattle : implications for the pathogenesis of clinically fatal disease. *Acta vet. scand.*, 1988, **29**, 77-84.
- BIELEFELDT OHMANN H., RONSHOLT L., BLOCH B. Demonstration of bovine viral Diarrhoea virus in peripheral blood mononuclear cells of persistently infected, clinically normal cattle. *J. Gen. Virol.*, 1987, **68**, 1971-1982.
- BOLIN S.R. Viral and viral protein specificity of antibodies induced in cows persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus after vaccination with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1988, **49**, 40-44.
- BOLIN S.R., McCLURKIN A.W. et CORIA M.F. Frequency of persistent bovine viral diarrhoea virus infection in selected cattle herds. *Am. J. Vet. Res.*, 1985 a, **46**, 2385-2387.
- BOLIN S.R., McCLURKIN A.W., CUTLIP R.C., CORIA M.F. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1985 b, **46**, 573-576.
- BOLIN S., MOENNIG V., KELSO GOURLEY N.E. and RIDPATH J. Monoclonal antibodies with neutralizing activity segregate isolates of bovine viral diarrhoea virus into groups. *Arch. Virol.*, 1988, **99**, 117-123.
- BOULANGER D., WAXWEILER S., KARELLE L., LONCAR M., MIGNON B., DUBUISSON J., THIRY E. and PASTORET P.P. Neutralizing Monoclonal antibodies to the 48 kd protein of Bovine Viral Diarrhoea virus do not block virus attachment but a step subsequent to adsorption. *J. Gen. Virol.*, 1990, submitted.
- BROWNLIE J. Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus. In *Advances in Veterinary Virology*, Edwards S. et Pastoret P.P., Editors, Veterinary Microbiology, Elsevier, 1990, in press.
- BROWNLIE J., CLARKE M.C., HOWARD C.J. Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. *Vet. Rec.*, 1984, **114**, 535.
- BROWNLIE J., CLARKE M.C., HOWARD C.J. Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. *Research in Veterinary Science*, 1989, **46**, 307-311.
- BROWNLIE J., CLARKE M.C., HOWARD C.J. and POCOCK D.H. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Ann. Rech. Vét.*, 1987, **18**, 157-166 (numéro spécial : meeting on Pestivirus, 8th april 1986, Liège).
- CAY B., CHAPPUIS G., COULIBALY C., DINTER Z., EDWARDS S., GREISER-WILKE I., GUNN, HAVE P., HESS G., JUNTIN, LIESS B., MATEO A., McHUGH P., MOENNIG V., NETTLETON P., WENSVOORT G. Comparative analysis of monoclonal antibodies against pestiviruses : report of an international workshop. *Vet. Microbiol.*, 1989, **20**, 123-129.
- CLARKE M.C., BROWNLIE J., HOWARD C.J. Isolation of cytopathic and non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus from tissues of infected animals. In *Pestivirus infections of ruminants*. Harkness J.W., Editor. Commission of the European Communities, Report EUR 10238 EN, 1987, 3-10.
- COLLETT M.S., ANDERSON K.A. and RETZEL E. Comparisons of the Pestivirus Bovine Viral Diarrhoea Virus with members of the Flaviviridae. *J. Gen. Virol.*, 1988 a, **69**, 2637-2643.
- COLLETT M.S., LARSON R., BELZER S.K. and RETZEL E. Proteins encoded by bovine viral diarrhoea virus : the genomic organization of a pestivirus. *Virology*, 1988 b, **165**, 200-208.

- COLLETT M.S., LARSON R., GOLD C., STRICK D., ANDERSON D.K. and PURCHIO A.F. Molecular cloning and nucleotide sequence of the Pestivirus Bovine Viral Diarrhea Virus. *Virology*, 1988 c, **165**, 191-199.
- COLLETT M.S., MOENNIG V. and HORZINEK M.C. Recent advances in Pestivirus research. *J. Gen. Virol.* 1989, **70**, 253-266.
- CORAPI W.V., DONIS R.O. and DUBOVI E.J. Monoclonal antibody analyses of cytopathic and noncytopathic viruses from fatal bovine viral diarrhoea virus infections. *J. Virol.* 1988, **62**, 2823-2827.
- CORAPI W.V., FRENCH T.W., DUBOVI E.J. Severe thrombocytopenia in young calves experimentally infected with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *J. Virol.*, 1989, **63**, 3934-3943.
- CORIA M.F. et McCLURKIN A.W. Specific immune tolerance in an apparently healthy bull persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *J.A.V.M.A.*, 1978, **172**, 449-451.
- CORIA M.F., SCHMERR M.J.F. and McCLURKIN A.W. Characterization of the major structural proteins of purified bovine viral diarrhoea virus. *Arch. Virol.*, 1983, **76**, 335-339.
- DARBYSHIRE J.H. A serological relationship between swine fever and mucosal disease of cattle. *Vet. Rec.*, 1960, **72**, 331.
- DEMEUR C., URBAIN J., PASTORET P.P. Immunotolérance. In *Immunologie animale*, Pastoret P.P., Govaerts A., Bazin H., Editeurs. Flammarion, Médecine — Sciences, Paris, 1990.
- DINTER Z. Relationship between bovine diarrhoea virus and hog cholera virus. *Zbl. Bakt. ParasitKde (I. Abt.)*, 1963, **188**, 475-486.
- DONIS R.O., CORAPI W. and DUBOVI E.J. Neutralizing monoclonal antibodies to bovine viral diarrhoea virus bind to the 56K to 58K glycoprotein. *J. Gen. Virol.*, 1988, **69**, 77-86.
- DONIS R.O. and DUBOVI E.J. Characterization of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus-specific proteins in bovine cells. *J. Gen. Virol.*, 1987 a, **68**, 1597-1605.
- DONIS R.O. and DUBOVI E.J. Glycoproteins of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus in infected bovine cells. *J. Gen. Virol.*, 1987 b, **68**, 1607-1616.
- DONIS R.O. and DUBOVI E.J. Differences in virus-induced polypeptides in cells infected by cytopathic and noncytopathic biotypes of bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus. *Virology*, 1987 c, **158**, 168-173.
- DUBOVI E.J., DONIS R., WHITE R.T., CORDELL R., DALE B. Expression of a glycoprotein antigen of bovine viral diarrhoea virus that elicits neutralizing antibody production in mice. *Vaccines* 87, 435-439, 1987, Ed. by Chanock R.M., Lerner R.A., Brown F. and Ginsberg H. New-York : Cold spring Harbor Laboratory.
- DUFFELL S.J. et HARKNESS J.W. Bovine virus diarrhoea mucosal disease infection in cattle. *Vet. Rec.*, 1985, **117**, 240-245.
- ERNST P.B. et BUTLER D.G. A bovine virus diarrhoea calfhood vaccination trial in a persistently infected herd : effects on titres, health and growth. *Can. J. Comp. Med.*, 1983, **47**, 118-123.
- FENTON A., ENTRICAN G., HERRING J.A., NETTLETON P.F. An ELISA for detecting pestivirus antigen in the blood of sheep persistently infected with border disease virus. *J. Virol. Methods*, 1989, in press.
- GARDINER A.C. and BARLOW R.M. Experiments in Border Disease. III. Some epidemiological considerations with reference to the experimental disease. *J. Comp. Pathol.*, 1972, **82**, 29-35.
- HARKNESS J.W. The control of bovine viral diarrhoea virus infection. *Ann. Rech. Vét.*, 1987, **18**, 167-174.
- HEWICKER M., WÖHRMANN T., FERNANDEZ A., TRAUTWEIN G., LIESS B., MOENNIG V. Immunohistological detection of bovine viral diarrhoea virus antigen in the central nervous system of persistently infected cattle using monoclonal antibodies. In *Advances in Veterinary Virology*, Edwards S. et Pastoret P.P., Editors, Veterinary Microbiology, Elsevier, 1990, in press.
- HOWARD C.J., BROWNLIE J. and CLARKE M.C. Comparison by the neutralisation assay of pairs of non-cytopathogenic and cytopathogenic strains of bovine virus diarrhoea virus isolated from cases of mucosal disease. *Vet. Microbiol.*, 1987, **13**, 361-369.
- JOHNSON J.C. and ROSENBUSCH R.F. Effect of host cell on the in vitro characteristics expressed by two Bovine Viral Diarrhoea Virus strains. *Vet. Microbiol.*, 1990, **21**, 319-328.
- LECOMTE C., PIN J.J., DEMOERLOOZE L., VANDENBERGH D., LAMBERT A.F., PASTORET P.P., CHAPPUIS G. Elisa detection of BVDV specific antibodies using recombinant antigen and monoclonal antibodies. In *Advances in Veterinary Virology*, Edwards S. and Pastoret P.P., Editors, Veterinary Microbiology, Elsevier, 1990, in press.
- LISS B., FREY H.R., KITTSTEINER H., BAUMANN F., NEUMANN W. Beobachtungen und Untersuchungen über die «Mucosal Disease» des Rindes. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, 1974, **81**, 477-500.
- LOPEZ A., MAXIE M.G., RUHNKE L., SAVAN M., THOMSON R.G. Cellular inflammatory response in the lungs of calves exposed to bovine viral diarrhoea virus, *Mycoplasma bovis* and *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.*, 1986, **47**, 1283-1286.
- McCLURKIN A.W., LITTLEDIKE E.T., CUTLIP R.C., FRANK G.H., CORIA M.F. and BOLIN S.R. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Can. J. Comp. Med.*, 1984, **48**, 156-161.
- MAGAR R., MINOCHA H.C. and LECOMTE J. Bovine viral diarrhoea virus proteins : heterogeneity of cytopathogenic and non-cytopathogenic strains and evidence of a 53K glycoprotein neutralization epitope. *Vet. Microbiol.*, 1988, **16**, 303-314.
- MALMQUIST W.A. Bovine viral diarrhoea — mucosal disease : etiology, pathogenesis and applied immunity. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1968, **152**, 763-768.
- MATTHAEUS W. Detection of three polypeptides in preparations of bovine viral diarrhoea virus. *Arch. Virol.*, 1979, **59**, 299-305.
- MEYERS G., RÜMENAPF T., THIEL H.J. Molecular cloning and nucleotide sequence of the genome of hog cholera virus. *Virology*, 1989 a, **171**, 555-567.
- MEYERS G., RÜMENAPF T., THIEL H.J. Ubiquitin in a togavirus. *Nature*, 1989 b, **341**, 491.
- MOENNIG V., KÖRKE J., MATEO A., GREISER-WILKE I., BOLIN S.R., KELSO N.E. and LIESS B. Distribution of neutralization-relevant epitopes on the major glycoprotein of Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Abstract. Proc. of the 1st Congress of the European Society of Veterinary Virology*, 5-7 April 1989, Liège-Belgium.
- MOENNIG V. Pestiviruses : a new group. In *Advances in Veterinary Virology*, Edwards S. and Pastoret P.P., Editors, Elsevier, Veterinary Microbiology, 1990, in press.
- MOORMANN R.J.M., WARMERDAM R.A.M., VAN DER MEER B., HULST M.M. Nucleotide sequence of hog cholera virus RNA : properties of the polyprotein encoded by the open reading frame spanning the viral genomic RNA. In *Advances in Veterinary Virology*, Edwards S. and Pastoret P.P., Editors, Veterinary Microbiology, Elsevier 1990, in press.
- NETTLETON P.F., BARLOW R.M., GARDINER A.C., PASTORET P.P., THIRY E. La pathogénie et l'épidémiologie de l'infection par le virus BVD. *Ann. Méd. Vét.*, 1985, **129**, 88-108.
- NETTLETON P.F., GARDINER A.C., GILMOUR J.S., BARBER D.M.L. Cytopathic and non-cytopathic isolates of BVDV in a closed dairy herd. In *Pestivirus infections of ruminants*. HARKNESS J.W., Editor. Commission of the European Communities, Report EUR 10238 EN, 1987, 13-27.
- PASTORET P.P., DETAL G., DIVE M., WAXWEILER S., THIRY E., WELLEMANS G., MARCOURT J., 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 des Communautés européennes. *Ann. Méd. Vét.*, 1989, **133**, 247-256.
- PASTORET P.P., THIRY E., DUBUISSON J. Les porteurs de virus : analyse des états d'équilibre entre le virus et son hôte. *Ann. Rech. Vét.*, 1987, **18**, 181-191.
- PASTORET P.P., THIRY E., SCHWERS A. et DUBUISSON J. Épidémiologie et physiopathologie de l'infection par le virus BVD. Congrès, Société française de buiatrie; 6-7/11/1986, Paris. In *Pestivirus des ovins et des bovins : nouvelles connaissances, utilisation comme stratégie de contrôle*, 87-104.

- PETERS W., GREISER-WILKE I., MOENNIG V. and LIESS B. Preliminary serological characterization of bovine viral diarrhoea virus strains using monoclonal antibodies. *Vet. Microbiol.*, 1986, **12**, 195-200.
- PETERS W., GREISER-WILKE I., MOENNIG V. and LIESS B. Incidence and impact of persistent infections with BVD virus in the field. In. *Pestivirus infections of ruminants*. HARKNESS J.W., Editor. Commission of the European Communities, Report EUR 10238 EN, 1987, 133-143.
- POCOCK D.H., HOWARD C.J., CLARKE M.C. and BROWNLIE J. Variation in the intracellular polypeptide profiles from different isolates of bovine virus diarrhoea virus. *Arch. Virol.*, 1987, **94**, 43-53.
- POTGIETER L.N.D., McCRACKEN M.D., HOPKINS F.M., GUY J.S. Comparison of the pneumopathogenicity of two strains of bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46**, 151-158.
- POTGIETER L.N.D., McCRACKEN M.D., HOPKINS F.M., WALKER R.D. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1984 a, **45**, 687-690.
- POTGIETER L.N.D., McCRACKEN M.D., HOPKINS F.M., WALKER R.D., GUY J.S. Experimental production of bovine respiratory tract disease with bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1984 b, **45**, 1582-1585.
- PRITCHETT R.F. and ZEE Y.C. Structural proteins of bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1975, **36**, 1731-1734.
- PURCHIO A.F., LARSON R. and COLLETT M.S. Characterization of bovine viral diarrhoea virus proteins. *J. Virol.*, 1984, **50**, 666-669.
- RADOSTITS M. et LITTLEJOHNS (I.R.) New concepts in the pathogenesis, diagnosis and control of diseases caused by the Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Can. Vet. J.*, 1988, **29**, 513-528.
- RENARD A., BROWN-SHIMMER S., SCHMETZ D., GUIOT C., DAGENAIS L., PASTORET P.P., DINA D., MARTIAL J. Molecular cloning, sequencing and expression of BVDV RNA. In. *Pestivirus infections of ruminants*. HARKNESS J.W., Editor. Commission of the European Communities, Report EUR 10238 EN, 1987 a, 53-64.
- RENARD A., DINO D. and MARTIAL J. Vaccines and diagnostics derived from bovine diarrhoea virus. European Patent Application number 86870095.6 Publication number 0208672, 14 January 1987.
- RENARD A., GUIOT C., SCHMETZ D., DAGENAIS L., PASTORET P.P., DINA D. and MARTIAL J.A. Molecular cloning of bovine viral diarrhoea viral sequence. DNA, 1985, **4**, 429-438.
- RENARD A., SCHMETZ D., GUIOT C., BROWN-SHIMMER S., DAGENAIS L., PASTORET P.P., DINA D. and MARTIAL J.A. Molecular cloning of the bovine viral diarrhoea virus genomic RNA. *Ann. Rech. Vét.*, 1987 b, **18**, 121-125 (numéro spécial : meeting on Pestivirus, 8th april 1986, Liège).
- ROEDER P.L. and DREW T.W. Mucosal disease of cattle : a late sequel to fetal infection. *Vet. Rec.*, 1984, **114**, 309-313.
- ROEDER P.L. Moyens de lutte contre l'infection par le BVD : le point de vue des Britanniques. Congrès, Société française de buiatrie; 6-7/11/1986, Paris. In. *Pestivirus des ovins et des bovins : nouvelles connaissances, utilisation comme stratégie de contrôle*, 119-131.
- RÜMENAPF T., MEYERS G., STARK R. and THIEL H.-J. Hog Cholera Virus — Characterization of specific antiserum and identification of cDNA clones. *Virology*, 1989, **171**, 18-27.
- STECK F., LAZARY S., FEY H., WANDELER A., HUGGLER C., OPPLIGER G., BAUMBERGER H., KADERKI R., MARTIG J. Immune responsiveness in cattle fatally affected by bovine virus diarrhoea-mucosal disease. *Zbl. Vet. Med.*, 1980, **273**, 429-445.
- STOTT E.J., THOMAS L.H., COLLINS A.P., CROUCH S., JEBBETT J., SMITH G.S., LUTHER P.D., CASWELL R. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease. *J. Hyg. Camb.*, 1980, **85**, 257-270.
- TEYSSÉDOU E., MAGAR R., JUSTEWICZ D.M. and LECOMTE J. Cell-protective monoclonal antibodies to bovine enterovirus-3 and partial or no activity against other serotypes. *J. Virol.*, 1987, **61**, 2050-2053.
- TYLER D.E. et RAMSEY F.K. Comparative pathologic, immunologic and clinical responses produced by selective agents of the bovine mucosal disease-virus diarrhoea complex. *Am. J. Vet. Res.*, 1965, **26**, 903-913.
- VISO M. La vaccination contre le BVD : un problème complexe. Congrès, Société française de buiatrie; 6-7/11/1986, Paris. In. *Pestivirus des ovins et des bovins : nouvelles connaissances, utilisation comme stratégie de contrôle*, 109-117.
- WAXWEILER S., KARELLE-BUI THI L., SNEYERS M., LAMBERT A.F., DELCHAMBRE M., DUBUISSON J., THIRY E., ANTOINE H., DIVE M., DETAL G., PASTORET P.P. Circulation de souches non-cytopathogènes du virus BVD-MD dans des lots de taureillons. *Ann. Méd. Vét.*, 1989, **133**, 681-690.
- WEILAND E., THIEL H.-J., HESS G. and WEILAND F. Development of monoclonal neutralizing antibodies against bovine viral diarrhoea virus after pretreatment of mice with normal bovine cells and cyclophosphamide. *J. Virol. Methods*, 1989, **24**, 237-244.
- WESTAWAY E.G., BRINTON M.A., GAIDAMOVICH S. Ya., HORZINEK M.C., IGARASHI A., KÄÄRÄINEN L., LVOV D.K., PORTERFIELD J.S., RUSSEL P.K., TRENT D.W. Togaviridae. *Intervirology*, 1985, **24**, 125-139.
- WENSVOORT G. Topographical and functional mapping of epitopes on hog cholera virus with monoclonal antibodies. *J. Gen. Virol.*, 1989, **70**, 2865-2876.
- WENSVOORT G., TERPSTRA C., BOONSTRA J., BLOEMRAAD M. and VAN ZAANE D. Production of monoclonal antibodies against swine fever virus and their use in laboratory diagnosis. *Vet. Microbiol.*, 1986, **12**, 101-108.
- WENSVOORT G., BOONSTRA J., BODZINGA B.G. Immunoaffinity purification and characterization of the envelope protein E1 of hog cholera virus. *J. Gen. Virol.*, 1990, **71**, 531-540.
- WENSVOORT G., TERPSTRA C., DE KLUYVER E.P. Characterization of porcine and some ruminant pestiviruses by cross-neutralization. *Vet. Microbiol.*, 1989, **20**, 291-306.