



HAL
open science

Protection des veaux contre le virus respiratoire syncytial bovin (VRSB) par le transfert de l'immunité maternelle : apport de la vaccination des mères en fin de gestation

Antoine Cuquemelle

► To cite this version:

Antoine Cuquemelle. Protection des veaux contre le virus respiratoire syncytial bovin (VRSB) par le transfert de l'immunité maternelle : apport de la vaccination des mères en fin de gestation. Médecine vétérinaire et santé animale. 2016. dumas-04571207

HAL Id: dumas-04571207

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04571207>

Submitted on 7 May 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

PROTECTION DES VEAUX CONTRE LE VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL BOVIN (VRSB) PAR LE TRANSFERT DE L'IMMUNITE MATERNELLE: APPORT DE LA VACCINATION DES MERES EN FIN DE GESTATION

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

CUQUEMELLE Antoine

Directeur de thèse : M. Gilles MEYER

JURY

PRESIDENT :

M. Jacques IZOPET

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Gilles MEYER

M. Renaud MAILLARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- M. **TANIS Jean-Benoît**, *Anatomie – Imagerie Médicale*

REMERCIEMENTS

Au président du jury

À Monsieur le Professeur Jacques IZOPET

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Virologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommages respectueux.

Aux membres du jury

À Monsieur le Professeur Gilles MEYER

Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie des ruminants

Qui nous a confié ce sujet et guidé dans l'élaboration de ce travail,
Pour son soutien, sa disponibilité, sa bonne humeur et sa patience,
Pour m'avoir initié à la rigueur de la recherche,
Sincères remerciements.

À Monsieur le Docteur Renaud MAILLARD

Maitre de conférences de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologies des ruminants

Qui a très aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse,
Pour ses enseignements et l'accompagnement au cours du cursus,
Sincères remerciements

Aux personnes ayant permis le bon déroulement de cette thèse

À Monsieur le Docteur Hervé CASSARD

Praticien hospitalier de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie des ruminants

Pour sa participation et sa disponibilité dans ce travail et au quotidien,
Pour la qualité de ses enseignements cliniques,
Sincères remerciements.

Aux équipes de l'UMR-1225 IHAP

Au personnel de l'INRA-domaine du Pin

Au personnel de l'ESAP-domaine de Lamothe

Pour leur travail en amont et en aval de cette étude

« Le bœuf est lent, mais la terre est patiente »

Proverbe chinois

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	- 7 -
LISTE DES ABRÉVIATIONS	- 11 -
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	- 13 -
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	- 15 -
I. HISTORIQUE	- 15 -
II. LE VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL	- 16 -
II.1. Classification virale	- 16 -
II.2. Structure du virus respiratoire syncytial	- 17 -
II.2.1. Organisation du virion	- 17 -
II.2.2. Organisation du génome et cycle de réplication	- 18 -
<i>Transcription et traduction.....</i>	<i>- 18 -</i>
<i>Réplication.....</i>	<i>- 19 -</i>
II.3. Les protéines virales	- 21 -
II.3.1. Protéines de surface	- 21 -
<i>Glycoprotéine G.....</i>	<i>- 21 -</i>
<i>Protéine de fusion F.....</i>	<i>- 22 -</i>
<i>Protéine hydrophobe (SH).....</i>	<i>- 23 -</i>
II.3.2. Protéines de nucléocapside	- 23 -
<i>Protéine de la nucléocapside N</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Phosphoprotéine P.....</i>	<i>- 24 -</i>
<i>Polymérase L</i>	<i>- 24 -</i>
II.3.3. Protéines de matrice	- 25 -
<i>Protéine M</i>	<i>- 25 -</i>
<i>Les protéines M2.....</i>	<i>- 25 -</i>
II.3.4. Protéines non structurales.....	- 25 -
II.4. Caractéristiques physiques et biologiques	- 26 -
II.4.1. Résistance dans l'environnement.....	- 26 -
II.4.2. Sensibilité et spécificité d'espèces.....	- 27 -
III. MALADIE.....	- 28 -
III.1. Epidémiologie	- 28 -
III.2. Physiopathologie	- 29 -
III.2.1. Mécanisme d'infection	- 29 -
III.2.2. Réponse inflammatoire de l'hôte	- 30 -
<i>Réponse innée</i>	<i>- 31 -</i>
<i>Réponse induite.....</i>	<i>- 32 -</i>
III.3. Signes cliniques	- 33 -
III.4. Lésions	- 34 -
III.4.1. Macroscopiques	- 34 -
III.4.2. Histopathologie.....	- 34 -
<i>Lésions des bronches et bronchioles (Bryson, Platten <i>et al.</i>, 1991)</i>	<i>- 34 -</i>
<i>Lésions alvéolaires (Bryson, McConnell, <i>et al.</i>, 1991).....</i>	<i>- 35 -</i>
III.5. Interactions avec d'autres agents pathogènes	- 36 -

IV.	LA VACCINATION CONTRE LE VRSB	- 36 -
IV.1.	Les modèles expérimentaux disponibles	- 36 -
IV.2.	La problématique de la vaccination contre les VRS	- 37 -
IV.2.1.	<i>Vaccination et immunopathologie</i>	- 37 -
IV.2.2.	<i>Vaccination et variabilité des virus</i>	- 39 -
IV.2.3.	<i>Vaccination et âge de la population cible</i>	- 40 -
IV.3.	Les vaccins contre les VRS	- 41 -
IV.3.1.	<i>Vaccins commercialisés</i>	- 41 -
	<i>Vaccins inactivés.....</i>	- 42 -
	<i>Vaccins vivants</i>	- 43 -
IV.3.2.	<i>Vaccins à l'étude.....</i>	- 43 -
	<i>Vaccins recombinants</i>	- 44 -
	<i>Vaccins ADN.....</i>	- 46 -
IV.3.3.	<i>Intérêt des adjuvants pour les vaccins inactivés</i>	- 47 -
	<i>Saponines.....</i>	- 47 -
	<i>Les complexes immunostimulants</i>	- 48 -
	<i>Les oligodesoxynucléotides (ODN).....</i>	- 48 -
	CONCLUSION	- 49 -
	 SECONDE PARTIE : ETUDE EXPÉRIMENTALE	- 51 -
I.	CADRE GENERAL ET OBJECTIFS	- 51 -
II.	MATERIEL ET METHODES	- 52 -
II.1.	Vaccination des mères, récupération des colostrums et distribution aux veaux	- 52 -
II.1.1.	<i>Vaccination et suivi des vaches</i>	- 52 -
II.1.2.	<i>Collecte et conservation des colostrums</i>	- 52 -
II.2.	Distribution des colostrums et suivi du transfert colostrale	- 53 -
II.3.	Préparation de l'inoculum viral	- 54 -
II.3.1.	<i>Souche</i>	- 54 -
II.3.2.	<i>Réadaptation à l'hôte</i>	- 54 -
II.4.	Infection expérimentale	- 55 -
II.4.1.	<i>Administration de l'inoculum</i>	- 55 -
II.4.2.	<i>Suivi clinique</i>	- 56 -
II.4.3.	<i>Suivi lésionnel.....</i>	- 59 -
	<i>Mode d'euthanasie et technique de dissection</i>	- 59 -
	<i>Lésions macroscopiques</i>	- 59 -
	<i>Histopathologie</i>	- 60 -
II.4.4.	<i>Suivi sérologique</i>	- 60 -
II.4.5.	<i>Suivi virologique</i>	- 61 -
	<i>Lavage broncho-alvéolaire ante-mortem</i>	- 61 -
	<i>Lavage broncho alvéolaire post-mortem</i>	- 62 -
	<i>Écouvillon nasal profond</i>	- 62 -
	<i>Tissu pulmonaire.....</i>	- 62 -
	<i>Quantification des charges virales</i>	- 62 -
II.5.	Analyse statistique	- 63 -
III.	Résultats	- 64 -
III.1.	Evaluation de la réponse en anticorps des vaches vaccinées	- 64 -
III.1.1.	<i>Sélection des vaches</i>	- 64 -
III.1.2.	<i>Analyse du colostrum</i>	- 65 -

III.1.3. Titre en anticorps des veaux avant épreuve	- 66 -
III.2. Protection clinique des veaux conférée par le colostrum	- 67 -
III.3. Protection des veaux contre les lésions respiratoires	- 70 -
III.3.1. Lésions macroscopiques	- 70 -
III.3.2. Lésions tissulaires	- 72 -
III.4. Protection virologique	- 73 -
III.4.1. Réplication virale dans les sécrétions nasales	- 73 -
III.4.2. Réplication virale dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire	- 74 -
III.4.3. Réplication virale dans le parenchyme pulmonaire	- 75 -
IV. Discussion	- 77 -
CONCLUSION	- 83 -
BIBLIOGRAPHIE	- 85 -
ANNEXES	- 105 -

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique
AMM : autorisation de mise sur le marché
ARN : acide ribonucléique
ARNm : acide ribonucléique messenger
BoHV : herpesvirus bovin
BVDV : virus de la diarrhée virale bovine
ED₅₀ : median effective dose
EDTA : ethylene diamine tetraacetic acide
EIA : enzyme immunoassay
ELISA : enzyme linked immunosorbent assay
ENP : écouvillon nasal profond
IBR : rhinotrachéite infectieuse bovine
IgA : immunoglobuline A
IgG : immunoglobuline G
IgM : immunoglobuline M
IFN-X : interféron X
IL-X : interleukine X
Jx : jour x post inoculation
kDa : kilo Dalton
LBA : lavage broncho alvéolaire
LLBA : liquide de lavage broncho alvéolaire
MDBK : Madin-Darby bovine kidney
MEM : milieu essentiel minimum
ODN : oligodeoxynucléotide
PCR : réaction de polymérisation en chaine
PI3V : virus parainfluenza 3
RCP : résumé des caractéristiques du produit
RT-qPCR : réaction de polymérisation en chaine
TCID₅₀ : median tissue culture infective dose
Th-1, Th-2 : lymphocyte T helper 1 ou 2
UFP : unité formant plaque
VRS : virus respiratoire syncytial
VRSB : virus respiratoire syncytial bovin
VRSH : virus respiratoire syncytial humain

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures :

<i>Figure 1 : Représentation schématique de l'organisation du virion</i>	- 18 -
<i>Figure 2 : Représentation schématique de la position et de la taille des gènes du génome du VRS (au centre). Gradient de transcription des ARNm (en log2) et protéines après traduction (en bas), étapes de Réplication du génome viral (en haut) (d'après Valarcher et al. 2007).</i>	- 20 -
<i>Figure 3 : Récapitulatif des prélèvements entre la naissance et l'inoculation d'épreuve</i>	- 54 -
<i>Figure 4 : Récapitulatif des prélèvements et effectifs des animaux pendant l'épreuve virulente</i>	- 61 -
<i>Figure 5 : Titre séroneutralisant des colostrums de chaque groupe après récolte</i>	- 66 -
<i>Figure 6 : Activité séroneutralisante des anticorps des veaux après inoculation d'une souche virulente de VRSB</i>	- 67 -
<i>Figure 7 : Score clinique moyen (a) et accumulé (b) des veaux recevant du colostrum de vaches vaccinées ou non</i>	- 69 -
<i>Figure 8 : Pourcentage de consolidation des lobes crâniens et accessoires des groupes vaccinés et non vaccinés à J7 et J16 (a) et effectif de veaux présentant des lésions macroscopiques (b)</i>	- 71 -
<i>Figure 9 : Moyenne des scores histopathologiques par groupe et par session d'euthanasie (a) et corrélation entre le pourcentage de consolidation des lobes crâniens (b)</i>	- 73 -
<i>Figure 10 : Charges virales moyennes en ARN de VRSB obtenues par RT-qPCR sur écouvillon nasal profond et mesurées tous les deux jours (n=9) (a) et charge virale accumulée (n=9) (b)</i>	- 74 -
<i>Figure 11 : Charge virale moyenne en ARN de VRSB obtenues par RT-qPCR sur le LLBA (n=4)(a) et charge virale accumulée (n=4) (b)</i>	- 75 -
<i>Figure 12 : Charges virales moyennes en nombre de copies (log₁₀/100 mg de tissu) dans les différents prélèvements tissulaires à J7(a) et J16 (b) post-infection.</i>	- 76 -

Tableaux :

<i>Tableau 1 : Place du genre Pneumovirus dans l'ordre des Mononegavirales et critères distinctifs</i>	- 16 -
<i>Tableau 2 : Les espèces du genre Pneumovirus</i>	- 16 -
<i>Tableau 3 : Moyens d'observation et de gradation des signes cliniques</i>	- 57 -
<i>Tableau 4 : Classement des scores cliniques cumulés en fonction des manifestations cliniques visuelles</i> ...	- 58 -
<i>Tableau 5 : Effectif des vaches et veaux selon le titre en anticorps VRSB par ELISA</i>	- 65 -
<i>Tableau 6 : Sévérité des signes cliniques par groupe des veaux</i>	- 68 -
<i>Tableau 7 : Délai d'apparition en jours depuis l'infection des signes cliniques, du pic et de leur durée.</i>	- 68 -
<i>Tableau 8 : Répartition des scores cliniques cumulés des 9 veaux par groupe présents sur toute la durée d'étude.</i>	- 69 -

Images :

<i>Image 1 : Vue d'ensemble d'un bloc pulmonaire à J16 d'un veau du groupe « non vacciné »(a) et détail de l'atteinte lobulaire d'un lobe apical droit à J16 d'un veau du groupe « vacciné »(b)</i>	- 71 -
---	--------

Annexes :

<i>Annexe 1 : Vaccins contenant une valence VRSB disponibles en France en 2015</i>	- 105 -
<i>Annexe 2 : Tableau d'enregistrement des examens cliniques biquotidiens</i>	- 106 -
<i>Annexe 3 : Comparaison des techniques d'inoculation, souches et leur résultat</i>	- 107 -

PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. HISTORIQUE

En 1956, une épizootie se déclara sur des chimpanzés du centre de recherche Walter Reed Army Institute for Research (Washington D.C.). Cette affection de l'appareil respiratoire supérieur provoqua un syndrome appelé alors « chimpanzee coryza agent » qui induisait une séroconversion et la production d'anticorps spécifiques. Aucune autre espèce animale présente dans le centre n'était affectée hormis un manipulateur qui présentait à la fois la même symptomatologie et une production des mêmes d'anticorps spécifiques.

Par la suite, des anticorps spécifiques de cet agent furent mis en évidence chez des adolescents et jeunes adultes parmi la population générale (Morris *et al.*, 1956).

Entre 1956 et 1961, ce virus dorénavant dénommé « virus respiratoire syncytial » (VRS) en raison de sa capacité *in vitro* à former des syncytiums ou cellules géantes polynucléées, fut largement isolé lors d'épisodes de toux sévères et de bronchiolites chez des sujets pédiatriques aux États-Unis, au Royaume-Uni et en Australie (Chanock *et al.*, 1962).

Les recherches contemporaines sur le VRS mirent en évidence que des anticorps d'origine bovine étaient capables d'inhiber la formation de syncytia en cultures cellulaires infectées par le VRSH (Doggett *et al.*, 1968).

L'apparition brutale, en février 1967, dans plusieurs élevages bovins du canton de Genève de cas similaires soit de broncho-pneumonies associées à de fortes fièvres chez les adultes de moins de 7 ans, soit de signes d'atteinte de l'appareil respiratoire supérieur ont permis de démontrer l'existence d'un virus respiratoire syncytial bovin (Paccaud, Jacquier, 1970).

Ce virus est retrouvé en Belgique, au Royaume-Uni, aux États-Unis et au Japon avec plus de 40 000 cas rapportés sur des bovins durant la saison 1968-69 sur l'ensemble des 4 principales îles (Inaba *et al.*, 1973, 1972; Jacobs, Edington, 1971; Rosenquist, 1974).

II. LE VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL

II.1. Classification virale

D'après le International Committee on Taxonomy of Viruses (King *et al.*, 2012) (Tableau 1), le virus respiratoire syncytial est un virus enveloppé à ARN monocaténaire négatif appartenant au genre *Pneumovirus*.

Tableau 1 : Place du genre *Pneumovirus* dans l'ordre des *Mononegavirales* et critères distinctifs

Ordre	<i>Mononegavirales</i>	Virus enveloppé à ARN négatif monocaténaire
Famille	<i>Paramyxoviridae</i>	Protéines de surface d'attachement (H, HN, G) et de fusion (F)
Sous-famille	<i>Pneumovirinae</i>	8 à 10 éléments transcriptionnels distincts Présence d'une protéine associée à la nucléocapside (M2-1)
genre	<i>Pneumovirus</i>	Protéines non structurales NS1 et NS2 (Collins <i>et al.</i> , 1984) Ordre des gènes codant pour les protéines SH-G-F-M2 (Pringle, Easton, 1997)

Le genre *Pneumovirus* comprend par ailleurs trois espèces (Tableau 2).

Tableau 2 : Les espèces du genre *Pneumovirus*

Espèce	Isolats	Abréviation (exemple de souche)
<i>Virus respiratoire syncytial bovin</i>	Ex : virus respiratoire syncytial bovin ATCC51908	BRSV- (ATCC51908)
<i>Virus respiratoire syncytial humain</i>	virus respiratoire syncytial humain A	HRSV-A(2)
	virus respiratoire syncytial humain B	HRSV-B(1)
	virus respiratoire syncytial humain S	HRSV-S(2)
<i>Virus de la pneumonie murine</i>	Ex : virus de la pneumonie murine 15 (anciennement Pneumonia virus of mice)	MPV-(15)

Selon le consensus du International Committee on Taxonomy of Viruses, les virus respiratoires syncytiaux qui affectent les ovins et caprins pourraient représenter, avec le VRSB, un sous-groupe de souches plutôt que des espèces à part entière.

II.2. Structure du virus respiratoire syncytial

II.2.1. Organisation du virion

Les particules virales du genre *Pneumovirus* sont globalement sphériques de l'ordre de 150 à 200 nm de diamètre. Elles sont cependant pléomorphes et peuvent présenter une structure filamenteuse jusqu'à 5 µm de long et 60 à 100 nm de diamètre (Trudel *et al.*, 1989). Ce polymorphisme serait lié à une adaptation à la cellule hôte infectée. En microscopie électronique, le virus bovin (VRSB) a montré des propriétés d'organisation en réseau d'environ 3 par 12 nm reliés entre eux par des « ponts » (Bélangier *et al.*, 1988).

L'enveloppe est constituée d'une bicouche lipidique issue de la membrane plasmique de la cellule de l'hôte. Trois types de protéines de surface formant des « épines », s'insèrent dans cette membrane (Huang *et al.*, 1985; Compans *et al.*, 1967) (**Figure 1**) :

- la glycoprotéine d'attachement (G),
- la protéine de fusion (F),
- la protéine hydrophobe (SH).

L'enveloppe est liée sur sa face interne aux protéines de la matrice (M, M2-1 et M2-2) constituant la nucléocapside hélicoïdale. Cette capsid renferme un unique brin d'ARN négatif non segmenté d'environ 15 000 bases, lié à la nucléoprotéine (N), à la phosphoprotéine (P) et à la polymérase (L).

Les protéines non structurales NS1 et NS2, bien que différenciant les genres *Pneumovirus* et *Métapneumovirus*, sont présentes en très faible quantité au sein du virion.

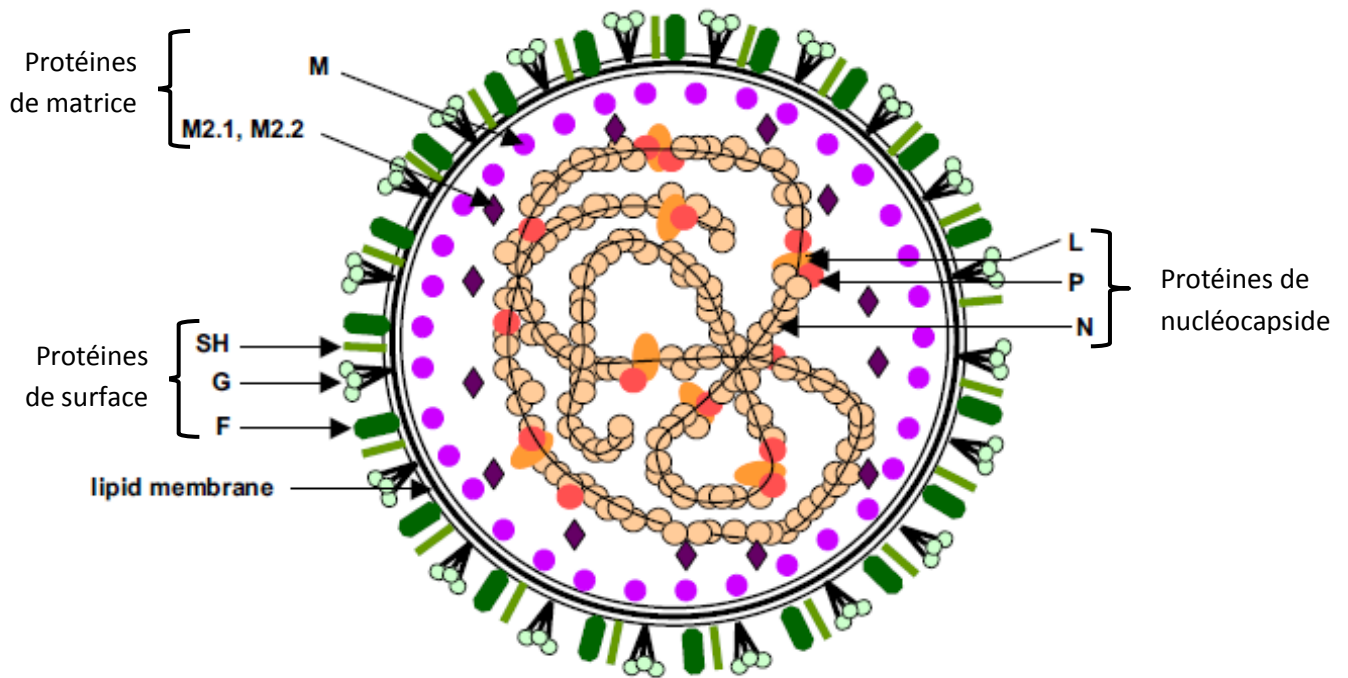


Figure 1 : Représentation schématique de l'organisation du virion
 (d'après Meyer *et al.*, 2008 et Valarcher *et al.*, 2007)

II.2.2. Organisation du génome et cycle de réplication

Transcription et traduction

Après pénétration du VRS dans la cellule hôte, la transcription de l'ARN négatif monocaténaire abouti à la synthèse de 10 ARNm.

Le complexe polymérase initie la transcription sur une partie conservée du génome d'environ 10 nucléotides présente en amont de chaque gène. Des essais de délétion du signal de fin de transcription notamment du gène M2 ont permis de mettre en évidence son organisation :

- un pentanucléotide fortement conservé
- une région riche en nucléotides A et U (1 à 4 nucléotides)
- une région poly-U (4 à 7 nucléotides) formant une queue poly-A sur l'ARNm obtenu (Harmon *et al.*, 2001; Sutherland *et al.*, 2001).

Une unique séquence promoteur sur l'extrémité 3' du génome viral (brin d'ARN négatif) permet la fixation du complexe polymérase sur le génome pour la transcription des brins d'ARNm positifs (Easton *et al.*, 2004). Cette séquence présente une forte stabilité nucléotidique, sur les nucléotides 1, 3, 6, 7 et 9, traduisant la forte implication de ceux-ci au sein du promoteur. Par la suite, le complexe polymérase décroche de la matrice génomique à

la fin de la transcription d'un gène dans un cas sur deux. Si le complexe polymérase s'est dissocié, il se reforme au niveau de la séquence promoteur à l'extrémité 3', sinon il initie la transcription du gène suivant après avoir traversé la région non codante présente entre deux gènes. Cas particulier, lors de la fin de la transcription du gène M2, la polymérase reste liée à l'ARN et balaye en amont et en aval l'ARN à la recherche du signal d'initiation du gène L (Collins, Melero 2011).

Enfin, les séquences initiant les gènes n'ont pas toute la même efficacité à initier la transcription des brins d'ARN positifs. Ainsi, pour les séquences des gènes NS1 et NS2 l'efficacité de l'initiation de la transcription serait 40% moindre que celle des autres gènes viraux (Kuo *et al.*, 1997, 1996; Kuo *et al.*, 1996).

Par conséquent, il existe un gradient décroissant de transcription de l'extrémité 3' de l'ARN vers l'extrémité 5' (Krempf *et al.*, 2002) (**Figure 2**).

Par la suite, les 10 ARNm produits sont méthylés par la polymérase pour pouvoir être traduits par les ribosomes de la cellule infectée en 11 protéines. Ceci est lié à la présence d'un second codon d'initiation au sein du cadre de lecture du gène M2 sur l'ARNm correspondant (Collins, Melero 2011). Par ailleurs, la séquence d'initiation de la transcription du gène L prend place 68 nucléotides en amont du signal de fin transcription du gène M2 (Collins *et al.*, 1987; Fearn, Collins, 1999a).

Réplication

Le mécanisme de réplication proposé est celui des virus à ARN non segmenté simple brin négatif. Les promoteurs de la réplication et de la transcription à l'extrémité 3' de l'ARN viral se chevauchent mais ne sont pas identiques (Fearn *et al.*, 2002). La polymérase initie la réplication, à partir du promoteur 3' de 44 nucléotides, en synthétisant un brin ARN positif antigénomique complet. Cet ARN positif sert alors de matrice à la synthèse de nouveaux ARN négatifs génomiques.

Pour cela, la multiplication des ARN négatifs à partir des ARN antigénomiques positifs s'appuie sur un promoteur de 40 nucléotides à l'extrémité 3' de l'ARN antigénomique quasi identique à son homologue de 44 nucléotides.

L'orientation préférentielle de la synthèse d'ARN en faveur de la transcription ou de la réplication pourrait être régulée par la quantité de protéines de nucléocapside N présente ainsi que par l'effet de la protéine M2-2 sur le complexe polymérase (Fearn *et al.*, 1997; Birmingham, Collins, 1999).

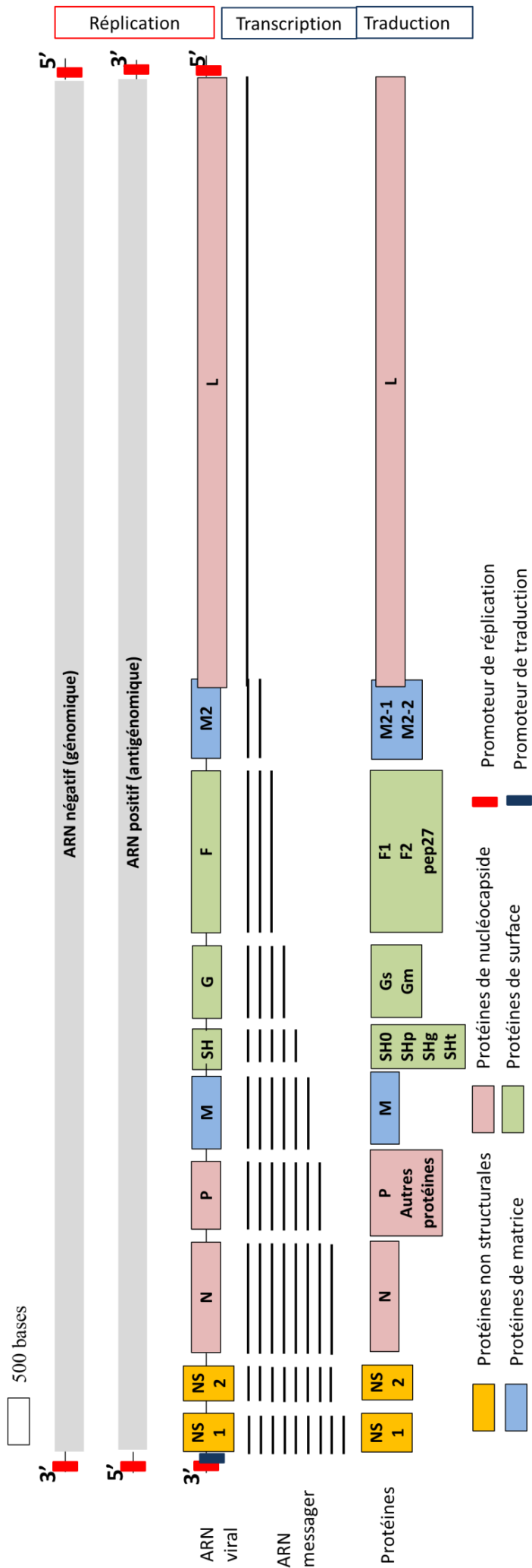


Figure 2 : Représentation schématique de la position et de la taille des gènes du génome du VRS (au centre). Gradient de transcription des ARNm (en log2) et protéines après traduction (en bas), étapes de Réplication du génome viral (en haut) (d'après Valarcher et al. 2007).

II.3. Les protéines virales

L'ensemble des protéines et polypeptides du VRS se divise en deux classes selon qu'elles sont exprimées à la surface de l'enveloppe du virion ou à l'intérieur de l'enveloppe (matrice, nucléocapside, ...).

II.3.1. Protéines de surface

Glycoprotéine G

La glycoprotéine G est aussi appelée protéine d'attachement en raison de l'absence d'attachement des virions aux cellules cibles lorsque ceux-ci sont mis en présence d'anticorps spécifiquement dirigés contre la protéine G (Levine *et al.*, 1987). Ces propriétés d'attachement permettent aussi l'attachement entre deux cellules. Elle participe à la formation finale du virion et à son bourgeonnement. En cultures cellulaires, des virus recombinants dont le gène G est délété sont aptes à se répliquer, mais de manière moins intensive (Karger *et al.*, 2001; Techaarpornkul *et al.*, 2001). En revanche, *in vivo*, la protéine G est essentielle à la multiplication virale (Schmidt *et al.*, 2002 ; Teng *et al.*, 2001). Cette glycoprotéine d'environ 90 kDa comporte 257 acides aminés, elle est très fortement O et N-glycosylée (environ 60% de sa masse totale) (Wertz *et al.*, 1989).

Elle est présente sous deux formes distinctes :

- 20%, ancrée au sein de l'enveloppe virale, appelée G_m (membrane-anchored G),
- 80% sous forme sécrétée, dénommée G_s, représentant le domaine extracellulaire de la première (Roberts *et al.*, 1994; Hendricks *et al.*, 1987; Hendricks *et al.*, 1988).

La synthèse de ces deux formes est due à la présence sur l'ARN_m d'un second codon initiateur AUG, permettant la traduction du cadre de lecture entier dans un cas, ou à partir de ce codon dans l'autre cas (Johnson *et al.*, 1998; Johnson, Graham, 1999).

La forme G_s semble jouer un rôle de leurre antigénique en captant de nombreux anticorps sur ses épitopes, diminuant ainsi l'efficacité de la réponse immunitaire et la clairance virale (Bukreyev *et al.*, 2008).

Cette protéine G est la plus variable des protéines du VRSB, sa séquence nucléotidique présente près 15% de variation. Pour le VRS_H, la variabilité de la protéine G peut atteindre 30% à 40% selon les sous-types. Les mutations induisant des substitutions

d'acides aminés sont plus fréquentes dans deux parties du domaine extracellulaire appelé « mucin-like » à cause de la richesse en proline, sérine et thréonine de cette région (Elvander *et al.*, 1998; Collins, Melero, 2011). La variabilité polypeptidique ainsi que les multiples glycosylations hautement variables génèrent un grand nombre d'épitopes différents. Ainsi, des anticorps monoclonaux dirigés contre un seul épitope ne parviennent pas à empêcher l'attachement viral. Un mélange de ces anticorps monoclonaux permet par encombrement stérique d'éviter cette adhésion virale (Collins, Melero, 2011). Seule une région centrale de l'ectodomaine de 10 à 15 acides aminés comportant 4 résidus cystéine est hautement conservée. La structure de cette région centrale est de type C-X3-C, comparable à celle de la fractalkine (ou neurotactine). Cette chémokine, est en partie responsable de l'adhésion et de la migration des leucocytes au site d'infection (Collins, Melero, 2011; Harcourt *et al.*, 2006; Tripp *et al.*, 2001).

De plus, la protéine G inhibe la production des cytokines induites par le TLR-4 au niveau des monocytes et des macrophages en supprimant la translocation du facteur NF- κ B (Polack *et al.*, 2005). L'attachement du virion à la cellule par l'intermédiaire de la protéine G mettrait en jeu un domaine de fixation de l'héparine « heparin binding domain » avec les glycosaminoglycanes des membranes cellulaires (Teng *et al.*, 2001; Karger *et al.*, 2001)

Protéine de fusion F

La protéine de fusion F est un peptide de 70 kDa, dont la séquence nucléotidique entre les souches présente 0.8% de variation (Valarcher *et al.*, 2000). Elle a pour rôle la fusion de la membrane de l'enveloppe avec la membrane cytoplasmique de la cellule hôte, ainsi que la fusion des membranes de plusieurs cellules hôtes formant des syncytia ou cellules géantes polynucléées. Ce mécanisme met en jeu une déviation d'une GTPase (RhoA) et du cytosquelette de la cellule infectée. La production d'anticorps neutralisants dirigés contre la protéine F inhibe la formation de ces syncytia (McNamara, Smyth, 2002).

La traduction de l'ARNm correspondant au niveau du réticulum endoplasmique permet l'obtention du polypeptide appelé F0. Ce peptide subit au niveau de la portion *trans* de l'appareil de Golgi, un clivage de séquences consensus de la furine, dénommées FCS-1 (RKRR¹³⁶) et FCS-2 (RAR/KR¹⁰⁹) en deux sous-unités F1 et F2. Ces deux sous-unités se lient par des ponts di-sulfure et constituent l'hétéro-dimère présent à la surface du virion. De la qualité de ce clivage dépendent la capacité infectieuse et la formation de syncytia (Valarcher,

Taylor, 2007). Ce clivage produit en outre un oligopeptide résiduel de 27 acides aminés, appelé pep27, dont la séquence primaire est très bien conservée. La structure après maturation post-transcriptionnelle de pep27 présente des homologues avec les tachykinines (Joos *et al.*, 2001). Cette virokinine est capable *in vitro* d'induire la contraction de cellules musculaires lisses et donc pourrait, *in vivo*, entraîner une bronchoconstriction. Elle pourrait aussi jouer un rôle dans le recrutement des éosinophiles sans avoir pour autant d'effet chimiotactique direct sur les cellules inflammatoires (Lagente *et al.*, 1998; Zimmer *et al.*, 2002; Zimmer *et al.*, 2001; González-Reyes *et al.*, 2001; Begoña Ruiz-Argüello *et al.*, 2002; Valarcher *et al.*, 2006).

Protéine hydrophobe (SH)

La protéine hydrophobe SH (pour small hydrophobic) est un protéoglycane dont la masse varie selon le niveau de glycosylation, entre la forme SH0 non glycosylée de 7.5 kDa à la forme SHg (13-15 kDa) et SHp (21 à 30 kDa) mais aussi SHt, non glycosylée, de 4.8kDa issue de la transcription à partir d'un second codon AUG sur l'ARNm correspondant (Anderson *et al.*, 1992). Elle est insérée dans l'enveloppe du virion par son extrémité N-terminale et sa fonction est mal connue tant *in vitro* qu'*in vivo* (Karger *et al.*, 2001). SH0 semble avoir une activité réelle, mais non essentielle dans la formation du complexe de fusion étant donné que tant *in vivo* qu'*in vitro*, la réplication virale s'opère de manière légèrement atténuée (Feldman *et al.*, 2001). La protéine SH partage des caractéristiques structurales avec une catégorie de protéines hydrophobes appelées viroporines (Gonzalez, Carrasco, 2003). Ces viroporines permettent une augmentation de la perméabilité membranaire par la formation de pores de type canaux ioniques (Collins, Melero, 2011). Elle pourrait exercer une faible inhibition de l'apoptose et du signal de TNF- α (Fuentes *et al.*, 2007).

II.3.2. Protéines de nucléocapside

Protéine de la nucléocapside N

La protéine de nucléocapside, présente en grande quantité dans le virion, est le constituant majeur de la nucléocapside. Elle est capable de former spontanément une capsidie hélicoïdale en présence de n'importe quel ARN (Easton *et al.*, 2004). Cette dernière confère une protection vis-à-vis des ARNases lorsqu'elle est associée aux protéines P, L et M2-2 et permet ainsi d'échapper à la réponse antivirale spontanée des cellules.

En effet, l'encapsidation des ARN, qu'ils soient génomiques ou non, les rend peu enclins à être traités par les hélicases cytoplasmiques, responsables :

- du signalement au système immunitaire de la présence de matériel génétique exogène, via de la transduction de IRF-3 et du NF- κ B impliqués dans la production d'interféron et de cytokines pro-inflammatoires,
- de l'activation de facteurs intrinsèques inhibant la synthèse protéique au sein de la cellule infectée (Collins, Melero, 2011).

La protéine N est aussi impliquée dans le bon fonctionnement du complexe polymérase et probablement dans la balance répliation et transcription (Mallipeddi *et al.*, 1996).

Phosphoprotéine P

L'ARNm P par l'intermédiaire de plusieurs codons AUG dans le cadre de lecture conduit à la synthèse de plusieurs protéines, dont la fonction n'est pas clairement définie. Celle issue de la lecture complète de l'ARNm, la phosphoprotéine P peut former des homo-dimères, des hétéro-dimères avec la protéine N, ainsi que réguler l'activité de la polymérase (Easton, Domachowske, Rosenberg, 2004).

Les protéines P et N s'associent par l'intermédiaire de leur extrémité C-terminale pour permettre la stabilisation et la protection des ARN synthétisés vis-à-vis des ARNases intracellulaires (García *et al.*, 1993; Castagné *et al.*, 2004; Curran *et al.*, 1995). Au sein du complexe polymérase, cette liaison permet de rendre accessible l'ARN.

Polymérase L

Cette ARN-polymérase ARN-dépendante, est responsable du processus de répliation et de transcription du génome viral, son activité est régulée par les interactions qu'elle établit avec les protéines N, P, M2-1 et M2-2. Son niveau de fidélité est estimé à 1 mutation pour 1000 à 1500 bases (Yunus, Collins, Samal 1998; Deplanche *et al.*, 2007).

II.3.3. Protéines de matrice

Protéine M

L'assemblage des virions semble médiée par l'accumulation de protéine M. Celle-ci est liée d'un côté aux ancrages transmembranaires des protéines virales de surface, et d'un autre côté à la nucléocapside (Peeples, Levine, 1997; Wunner, Pringle, 1976). L'association de la protéine M avec la nucléocapside stabilise cette dernière et bloque toute transcription (Ghildyal *et al.*, 2003). Ceci permet l'émergence des virions, par bourgeonnement sous forme de filaments, au pôle apical des cellules des épithéliums de l'arbre respiratoire vers la lumière de ce dernier, ou vers une cellule adjacente (Henderson *et al.*, 2002; Teng, Collins, 1998; Roberts *et al.*, 1995).

Les protéines M2

Anciennement nommée protéine 22K, les deux protéines M2-1 et M2-2 sont issues du chevauchement des cadres de lecture de l'ARNm M2. L'ARNm de M2-1 étant dans le cadre de lecture en amont, et celui de M2-2 en aval, chevauchant le premier sur quelques nucléotides. La traduction de M2-2 dépend de la réinitiation des ribosomes une fois celle de M2-1 terminée, médiée par la structure de l'ARNm 150 nucléotides en amont (Collins, Melero, 2011).

M2-1 est un cofacteur du complexe polymérase, dont le rôle est la processivité de la transcription. C'est-à-dire qu'en son absence, la transcription s'arrête prématurément et de manière aléatoire (Fearn's *et al.*, 1999; Collins *et al.*, 1996). M2-1 assure par ailleurs le maintien du complexe polymérase pour poursuivre cette transcription d'un gène à l'autre (Hardy, Wertz, 1998).

M2-2 est aussi un cofacteur de la polymérase. Lorsque son gène est éteint par modification génétique, la transcription et l'expression des protéines de surface est favorisée et inversement lorsqu'il est actif, il oriente la polymérase vers la réplication et la multiplication virale (Birmingham, Collins, 1999).

II.3.4. Protéines non structurales

Ces protéines, bien que non essentielles à la réplication virale, n'induisent qu'une affection atténuée lorsqu'elles sont absentes du génome viral. Leur rôle est une régulation

négative de la synthèse d'ARN viral ou cellulaire (Buchholz *et al.*, 1999; Teng, Collins 1999; Whitehead *et al.*, 1999; Jin *et al.*, 2000).

Leur position en amont du brin négatif du génome permet une transcription importante des deux gènes les codant. Paradoxalement, elles sont présentes en faible quantité dans les virions (Valarcher, Taylor, 2007).

NS1 peut, en précipitant avec la protéine de matrice M, induire une inhibition forte de la synthèse d'ARN (Evans, Cane, Pringle, 1996)

NS2 présente une activité inhibitrice de la transcription seulement, par interaction avec les protéines P et N, mais à un niveau plus faible que celle exercée par NS1 (Atreya, Peeples, Collins 1998).

Par ailleurs, ces protéines non-structurales ont été identifiées comme étant des acteurs majeurs de la stratégie de résistance à la réponse antivirale. D'un côté, elles sont antagonistes des interférons α et β (Schlender *et al.*, 2000). Elles interfèrent et inhibent le facteur 3 de régulation des interférons (IRF-3) (Bossert, Marozin, Conzelmann, 2003).

II.4. Caractéristiques physiques et biologiques

II.4.1. Résistance dans l'environnement

Le virus respiratoire syncytial bovin étant un virus enveloppé, il est peu résistant dans le milieu extérieur ; il est notamment labile à 37°C, diminué par 250 en l'espace de 6h et inactivé à 56°C en l'espace de 10 minutes. Il résiste relativement mieux au froid, la quantité de virion est divisée par 10 à -20°C et par 20 à 4°C en l'espace d'un mois. En revanche si le processus de congélation est rapide, le VRS conserve sa capacité infectieuse à -80°C et est peu sensible à des cycles successifs de décongélation/recongélation, divisé par 2 après 10 cycles.

Les particules virales sont totalement inactivées à pH3 et partiellement à pH4 (Inaba *et al.*, 1973).

De nombreux désinfectants sont actifs sur le VRS : éther, glutaraldéhyde, alcool à 70°,...

Des stabilisants tels que le sucrose permettent de conserver l'infectiosité du virus (Collins, Melero, 2011)

Il perd rapidement de sa virulence après plusieurs passages en cultures cellulaires successives, induisant une expression clinique fruste lors d'essais expérimentaux (Stott,

Taylor, 1985; Gershwin, 2008). Dans de très nombreux essais, des différences cliniques significatives n'ont pu être mises en évidence à cause de ce phénomène.

II.4.2. Sensibilité et spécificité d'espèces

Il n'y a pas de publications faisant état d'infection humaine par le VRSB, de plus l'infection expérimentale de chimpanzés montre peu ou pas de réplication du virus chez ce primate pourtant le plus favorable à la réplication VRSH (Buchholz *et al.*, 2000).

La réplication du VRSH est peu efficace au niveau du nasopharynx, mais est suffisante au niveau pulmonaire pour induire des lésions de pneumonie chez des veaux gnotobiotiques (Thomas *et al.*, 1984). D'un autre côté, l'immunisation de sigmodons et de primates par le VRSB ne met pas en évidence de protection de ceux-ci après épreuve virulente par le VRSH (Prince *et al.*, 1990; Piazza *et al.*, 1993). Le VRSB a été un temps suspecté d'être un vaccin utilisable en humaine dans une approche jennérienne, mais même recombinants et possédant de fait les protéines de surface F et G humaines, ces vaccins se répliquent efficacement sans être suffisamment immunogènes pour prévenir d'une épreuve virulente (Buchholz *et al.*, 2000).

Les principales sources de spécificité sont les protéines de surface F (notamment la sous-unité F2) et dans une moindre mesure G ainsi que les protéine NS (Bossert, Conzelmann, 2002; Buchholz *et al.*, 2000; Yunus, Collins, Samal, 1998).

Contrairement au VRSB, le peptide résiduel du clivage du peptide de la protéine F du VRSH, appelé 27-mer, ne contient pas de motif tachykinine (Zimmer *et al.*, 2003). Ceci suppose que la virokinine bovine est un facteur supplémentaire de spécificité d'espèce.

Les protéines non structurales NS1 et NS2 humaines et bovines, bien qu'ayant un rôle similaire, ont un mécanisme d'action spécifique. Chez l'homme, l'inhibition de la production des interférons de type I est favorisée par l'inhibition du gène Stat2 par ces protéines alors que chez les bovins, elles bloquent la phosphorylation et l'activation de l'IRF3 (Bossert, Marozin, Conzelmann, 2003; Lo, Brazas, Holtzman, 2005).

III. MALADIE

III.1. Épidémiologie

En 2005, 20 à 45 millions d'enfants de moins de 5 ans auraient présenté un syndrome respiratoire aigu associé au VRS, induisant environ 3 millions d'hospitalisation et entre 70 000 à 200 000 décès dont 99% de ceux-ci dans les pays en voie de développement (Nair *et al.*, 2010). Dans les pays développés, parmi les décès observés liés au VRS, environ 80% d'entre eux concernent des adultes de plus de 65 ans, fréquemment couplé à la grippe saisonnière (Thompson *et al.*, 2003). Les autres catégories à risque sont les personnes présentant une insuffisance cardiaque ou respiratoire et les personnes fortement immunodéprimées.

En Europe, le VRS serait responsable de près de 45% des hospitalisations d'enfants de moins de 2 ans présentant une atteinte de l'appareil respiratoire profond (Simoès, Carbonell-Estrany 2003). Le risque pour ces patients de développer par la suite des allergies ou de l'asthme est augmenté (Sigurs *et al.*, 2000) et inversement, les patients allergiques présentent significativement davantage d'IgE-anti RSV (Smith-Norowitz *et al.*, 2015). Certains auteurs considèrent que ce risque ne semble pas plus élevé avec le VRS qu'avec d'autres pathogènes viraux ou bactériens de l'arbre respiratoire profond (Bønnelykke *et al.*, 2015).

Bien que la morbidité soit élevée chez les bovins, la mortalité est généralement faible, de l'ordre de 2 à 3%, mais peut atteindre 20% dans certains épisodes aigus.

Entre 95 et 98% des enfants montrent une séroconversion à l'âge de 3 ans, contre 70% des bovins à l'âge de 2 ans (Van der Poel *et al.*, 1994).

Dans l'espèce bovine, la fréquence des infections au VRS est élevée chez les individus de moins de 1 an, sachant que l'âge pour lequel les animaux sont cliniquement les plus sensibles se situe entre 1 et 6 mois (Stott, Taylor, 1985; Antonis, 2010; Grell *et al.*, 2005), et serait responsable de 60 à 70 % des épisodes d'affections respiratoires dans les troupeaux (Meyer, Deplanche, Schelcher, 2008).

Les données chiffrées caractérisant la circulation virale varient fortement selon les études. Certaines publications font état d'une séroprévalence de 14%, d'autres jusqu'à 100% des bovins testés dans certains élevage dès l'âge de 3 mois (Bidokhti *et al.*, 2009; Angen *et al.*, 2009; Meyer, Deplanche, Schelcher, 2008; Sarmiento-Silva *et al.*, 2012; Sacco *et al.*, 2014).

Les hypothèses avancées pour expliquer cette hétérogénéité de résultats tiennent compte de la méthode d'échantillonnage, du climat, de la densité des élevages dans les zones étudiées, de l'âge de animaux sondés, du système et du type de production, de l'historique de troubles respiratoires dans l'élevage et de l'introduction d'animaux dans le cheptel (Elvander *et al.*, 1998; Hägglund, 2005).

Chez l'homme, la saisonnalité de l'infection, rapportée grâce aux différents réseaux d'épidémiologie, est marquée selon le climat de l'aire géographique considérée. Les zones équatoriales présentent des épidémies tout au long de l'année, les zones tropicales sont atteintes au cours des saisons les plus froides, les zones tempérées pendant les mois les plus froids, c'est-à-dire entre novembre et avril dans l'hémisphère nord avec un pic entre décembre et février (Simoes, Carbonell-Estrany, 2003). Ces mêmes périodes sont rapportées pour les bovins soit par les études épidémiologiques, soit par les praticiens sur le terrain. Des cas d'infections se manifestent aussi en été, notamment lorsque les variations nyctémérales de température sont importantes. Étant donné sa faible résistance dans le milieu extérieur, la principale hypothèse retenue favorisant la persistance du virus d'une saison à l'autre est un portage asymptomatique latent chez des animaux déjà immunisés par une infection antérieure et/ou peu sensibles, notamment des bovins adultes.

Lekeux et ses collaborateurs suggèrent une plus grande susceptibilité des bovins de race Blanc Bleu Belge présentant le phénotype culard. Cependant, ceci semble davantage lié à une relation allométrique entre la masse musculaire, le volume circulatoire, la capacité respiratoire et le stress lié aux conditions d'élevage (transports, allotement, engraissement, ...) spécifique des animaux à croissance rapide que de la race ou de l'agent pathogène (Lekeux *et al.*, 1994).

III.2. Physiopathologie

III.2.1. Mécanisme d'infection

Le VRSB est principalement transmis par contact direct entre animaux infectés ou par aérosol (Mars *et al.*, 1999). Stott a évalué qu'après 20 passages sur culture cellulaire, un inoculum de 10^4 TCID₅₀ infectait tous les individus, mais qu'après deux passages seulement,

une dose de 160 à 640 TCID₅₀ infectait 83% des sujets. Cette dose infectante pourrait être encore moindre lors d'infections sauvages (Stott, Taylor, 1985).

Lors de l'infection par le VRSB, le virus se multiplie dans un premier temps dans les cellules superficielles de l'épithélium cilié de l'arbre respiratoire supérieur. Puis lors d'atteinte profonde, au sein des pneumocytes de type II (Viuff *et al.*, 2002, 1996).

L'adsorption des particules virales sur les cellules cibles est d'au moins 60% en 30 minutes, puis la fusion s'opère en l'espace de 45 minutes environ. La production de nouveau virion requiert au minimum 12 à 16 heures et est maximale 36 à 48 heures après infection.

Le cycle de réplication s'opère complètement dans le cytoplasme de la cellule infectée. Même si la synthèse protéique de la cellule infectée n'est pas affectée par le cycle viral, la synthèse d'ADN et d'ARN cellulaires, épargnée les 11 premières heures est amputée respectivement de 50% et 35% en l'espace de 18 heures (Stott, Taylor, 1985).

Les virions émergent par bourgeonnement au pôle apical et latéral des cellules infectées en émettant des projections cytoplasmiques orientées par le détournement du cytosquelette. Ces projections aboutissent soit à la libération de virions libres, soit à la formation de syncytia.

À la suite d'une infection expérimentale, le virus peut être retrouvé sur écouvillon nasal entre le 1^{er} au 13^{ème} jour post-inoculation. L'excrétion virale active s'opère quant à elle à partir du 4-5^{ème} jour et jusqu'au 10^{ème} jour (Bryson, Platten, *et al.*, 1991; Gershwin *et al.*, 2005). La quantité de virus excrété est de l'ordre de 10⁴ TCID₅₀ par ml de sécrétion nasale (Stott, Taylor, 1985).

III.2.2. Réponse inflammatoire de l'hôte

Lors d'une infection expérimentale par le VRSB de veaux agammaglobulinémiques, la réponse de l'hôte se traduit par une production d'IgG1 sériques détectables au bout de 13 à 17 jours, alors que la production d'IgA et IgM, tant sériques que dans le liquide de LBA ou les sécrétions, se manifeste à partir de 8-10 jours post infection et que celle des IgG2 sériques n'intervient que 1 à 3 mois après inoculation. Dans le cas où ces veaux ont reçu du colostrum, seules des traces d'IgM, IgA et IgG sont détectées après infection (Kimman *et al.*, 1987).

Une réinfection 3 mois plus tard montre une réponse en IgA plus rapide (4 à 8 jours), plus forte et plus durable (jusqu'à 3 mois), ainsi qu'une production d'IgG plus précoce et durable (Kimman *et al.*, 1987).

La production d'IgE spécifiques du VRS et d'histamine est corrélée aux signes cliniques exacerbés lors d'une infection expérimentale tant chez l'homme que chez les bovins (Welliver *et al.*, 1981; Stewart, Gershwin, 1989a, 1989b). De plus, lorsque de manière concomitante à l'infection, les animaux sont soumis à un allergène, ceux-ci produisent significativement plus d'IgE spécifiques de l'allergène que les veaux non infectés. Il en est de même chez les espèces de laboratoire (Dakhama *et al.*, 1999; Gershwin *et al.*, 2011).

La réponse inflammatoire de l'hôte débute par le contact entre les particules virales et les cellules dendritiques et macrophages présents au niveau de l'épithélium respiratoire. La protéine de fusion F interagit avec le toll-like receptor 4 (TLR-4), le CD14 et les protéines du surfactant SP-A et SP-D, capables de se lier à la fois au VRS et au récepteur TLR4 (Kurt-Jones *et al.*, 2000). Cette réponse est médiée par de nombreux gènes agissant à tous les étages de la réponse innée, dont certains allèles ont des effets significatifs sur la susceptibilité des individus atteints à développer une bronchiolite (Janssen *et al.*, 2007). Chez l'homme, les variabilités génétiques du TLR-4 et des protéines du surfactant pulmonaire ont été identifiées comme l'une des causes de variabilité de la réponse innée (Rämet, Korppi, Hallman, 2011).

Réponse innée

L'activation du couple TLR-4/CD14 induit la synthèse de NF- κ B et d'interférons de type I (α et β) par les cellules infectées. Ceci stimule la surproduction de cytokines et chémokines pro-inflammatoires responsables de la réponse innée telles que IL-6, IL-8, TNF α et interférons α , β . Les cytokines IL-1, IL-6 et TNF α sont responsables de l'« habitus animal malade ». En effet, leur action cérébrale modifie le comportement, provoque l'anorexie, la fièvre et l'état de somnolence. Le rôle chimiotactique sur les neutrophiles de l'IL8 joue un rôle important dans la pathogénie du VRSB. L'IL-6 est un important médiateur de la fièvre par changement du point de référence au niveau cérébral. D'autres messagers tels que les MIP-1 (macrophage inflammatory protein) activent les effecteurs de la réponse immunitaire non spécifique des macrophages, les cellules NK (natural-killer) et les cellules présentatrices d'antigène. Celles-ci produisent à leur tour des interleukines IL-4, IL-5, IL-12, IL-13, IFN- γ permettant d'amplifier leur action ainsi que l'orientation de l'immunité spécifique (Valarcher, Taylor, 2007; Gershwin, 2012).

Cette réponse innée est modulée par plusieurs propriétés spécifiques du VRS :

- l'inhibition de l'activation du facteur NF- κ B des macrophages, l'occupation des sites de l' « heparin binding leucocytes » et du récepteur C-X3-C à la fractalkine par la forme sécrétoire de la glycoprotéine G (Gs),
- la répression à la fois du signal de l'IRF-3 et de l'action des IFN- α et β par les protéines NS1 et NS2,
- la protection rapide des acides nucléiques produits par le biais de la protéine N,
- le recrutement des éosinophiles par l'action de la virokinine.

Réponse induite

Ces messagers, mis en évidence par cathétérisme des vaisseaux lymphatiques, atteignent les nœuds lymphatiques où leur action sur les lymphocytes T-helper permet de favoriser l'une des deux voies de la réponse induite.

La réaction immunitaire spécifique protectrice fait intervenir une réponse auxiliaire de type Th1, qui se caractérise par la production d'IFN- γ et d'IL-12. Dans ce cas, la réponse s'oriente vers l'activation des lymphocytes T CD8 en T cytotoxiques et la production d'IgG2 par les lymphocytes B.

Toutefois, dans certains cas, en fonction de la modulation de la réponse innée, la réaction auxiliaire peut être orientée vers une voie de type Th2, qui se caractérise par la production d'IL-4 mais surtout d'IL-5 et d'IL-13 avec pour conséquence une activation des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, des mastocytes, résultant en une importante synthèse d'histamine et d'IgE (Estes, Brown, 2002; Openshaw, Tregoning, 2005; Spender *et al.*, 1998; Collins *et al.*, 1999).

Par ailleurs, l'infection par le VRSB s'accompagne d'une réduction de l'index mitotique des lymphocytes dont la cause est le contact direct entre les lymphocytes et la protéine de fusion F (Keles *et al.*, 1998; Sharma, Woldehiwet, 1991; Woldehiwet, Sharma, 1992; Schlender *et al.*, 2002). Ce contact se traduit par un défaut ou un retard dans la transition entre les phases G0/ G1 à S lors de la mitose. Les conséquences directes seraient une chute du nombre de lymphocytes T CD8+ dans l'appareil respiratoire ainsi qu'un faible nombre de lymphocytes T mémoires. Ces lymphocytes CD8+ étant essentiels à la clairance virale (Viuff *et al.*, 2002; Taylor *et al.*, 1995; Valarcher, Taylor, 2007).

L'immunité acquise au cours d'une infection naturelle n'est pas durable, et ne prévient pas des réinfections. Ces dernières sont cependant subcliniques ou modérées car la réponse locale est plus rapide et intense (Van der Poel *et al.*, 1994; Kimman *et al.*, 1987).

La différence de sensibilité des très jeunes veaux (moins d'un mois) par rapport à des veaux plus âgés semble liée à leur moindre capacité à produire des médiateurs pro-inflammatoires. Même si la réplication est plus intense et les lésions pulmonaires plus étendues chez les très jeunes veaux, l'expression clinique est moindre et s'expliquerait par une production réduite de TNF- α (Antonis, 2010).

III.3. Signes cliniques

Le temps d'incubation est estimé entre 2 et 5 jours. L'infection peut être asymptomatique à subclinique dans 30% des cas, n'affectant que l'appareil respiratoire supérieur. Les signes cliniques se résument alors à de la toux du 3^{ème} au 10^{ème} jour et un jetage séromuqueux accompagné d'épiphora. Dans un peu plus de 50% des cas, le virus touche à la fois l'appareil respiratoire supérieur et profond (Verhoeff *et al.*, 1984) et l'infection s'accompagne alors d'une hyperthermie pouvant être marquée à sévère (entre 40 et 42°C), apparaissant 4 à 5 jours après infection, d'une polypnée identifiée entre les 3ème et 9ème jours post-inoculation, d'une dyspnée abdominale, ainsi que des signes moins spécifiques tels qu'anorexie et abattement (Kimman *et al.*, 1987; Bryson *et al.*, 1983). Un syndrome de détresse respiratoire aigu se manifestant par des oreilles et la tête basses, le cou tendu, une respiration à bouche ouverte, la langue sortie, une émulsion de salive, une hypercapnie et une hypoxie sévère peut aussi être observé dans les cas ultimes. De l'emphysème pulmonaire accompagné de craquements ou de sifflements est aussi rapporté. Dans de plus rares cas, un emphysème sous-cutané peu apparaître voire un pneumothorax.

La réinfection 3 mois après une première infection provoque peu à pas de signes cliniques (Tjørnehøj *et al.*, 2003; Lehmkuhl, Gough, 1977).

Les formes cliniques les plus sévères sont observées chez les veaux mais peuvent aussi être observées sur des bovins adultes notamment lorsque la plupart des animaux d'un troupeau atteint sont naïfs, alors que seuls les jeunes sont touchés lorsque la circulation virale est fréquente (Elvander, 1996; Inaba *et al.*, 1973; Verhoeff *et al.*, 1984; Kimman *et al.*, 1988).

III.4. Lésions

III.4.1. Macroscopiques

Les parties crânio-ventrales des lobes pulmonaires sont modérément indurées, de couleur rouge sombre traduisant une atélectasie lobulaire du territoire concerné. À la coupe, la trachée, les bronches et bronchioles laissent apparaître des sécrétions mousseuses à mucopurulentes. Les lésions d'emphysème interlobulaire, lobulaire et sous-pleural sont localisées principalement dans les zones caudo-dorsales des lobes pulmonaires. Ces lésions traduisent une bronchopneumonie interstitielle.

Les nœuds lymphatiques trachéobronchiques et médiastinaux peuvent être hyperplasiques, œdématisés voire hémorragiques (Bryson, 1993).

L'étendue des lésions pulmonaires est significativement inversement corrélée à la capacité des animaux à produire de l'IFN- γ (Hamers *et al.*, 2007).

III.4.2. Histopathologie

Lésions des bronches et bronchioles (Bryson, Platten *et al.*, 1991)

Les lésions microscopiques sont dominées par une pneumonie bronchio-interstitielle exsudative et proliférative (Thomas *et al.*, 1984).

Les lésions de l'escalator muco-ciliaire apparaissent dès lendemain de l'infection et les mécanismes de réparation de ces dernières à partir du 6^{ème} jour. A 10 jours, celles-ci sont en voie de cicatrisation. La réplication et l'excrétion virale sont observables dans toutes les cellules de l'épithélium bronchique, cilié ou non et atteignent un pic entre 4 et 5 jours post-inoculation. Les cellules ciliées manifestent un nombre plus important de microvillosités, des projections cytoplasmiques plus grandes et irrégulières. Ces dernières, obtenues par détournement du cytosquelette de la cellule infectée, sont dirigées vers les faces apicales et latérales des cellules et peuvent relier deux cellules à travers la lumière de bronchioles (Philippou *et al.*, 1996). Les cellules épithéliales présentent une hypertrophie marquée, une hyperplasie modérée à sévère et des syncytia pouvant présenter jusqu'à une dizaine de noyaux.

L'épithélium est à la fois nécrotique et apoptotique, précédé par la desquamation des cellules. Des neutrophiles sont fréquemment associés aux cellules infectées et des images de fusion entre ces cellules sont observables. La proportion de macrophages par rapport aux

neutrophiles augmente et des images de phagocytose sont observables. Au cours de la cicatrisation, la part des cellules ciliées augmente progressivement et palie à mise à nu de la membrane basale.

Certains auteurs n'observent pas *in vitro* d'effets cytopathiques du virus sur les cellules de l'épithélium de l'arbre respiratoire (Liquin Zhang *et al.*, 2002).

Lésions alvéolaires (Bryson, McConnell, *et al.*, 1991)

Les lésions des cellules de l'épithélium alvéolaire apparaissent entre le 4^{ème} et le 8^{ème} jour post-inoculation. L'atteinte des pneumocytes de type I se manifeste par de la nécrose cellulaire tandis que celle des pneumocytes II se traduit par un profil plus étendu avec hypertrophie, hyperplasie et formation de syncytia. Certains pneumocytes II sont caractérisés par des projections nombreuses et irrégulières de la membrane cellulaire traduisant le bourgeonnement des particules virales.

L'hypertrophie, les syncytia ainsi que les bourgeonnements cytoplasmiques des pneumocytes provoquent le rétrécissement de la lumière alvéolaire. L'œdème et l'afflux des neutrophiles, de macrophages et de lymphocytes dans les capillaires et le milieu interstitiel induisent un épaississement du septum alvéolaire (Bryson, 1993). Ces deux phénomènes, accompagnés par l'accumulation de débris cellulaires, de surfactant et de dépôts de fibrine résultent en une obstruction de l'alvéole. Il est noté dans certains cas que le collapsus alvéolaire ne paraît pas justifié au vu de l'exsudat et des débris présents (Viuff *et al.*, 1996). Une modification de la quantité et/ou des propriétés du surfactant est aussi mise en cause.

Les multiples corps d'inclusions intra cytoplasmiques sont une autre caractéristique de l'effet cytopathique du virus. Ils sont visibles dans le cytoplasme des cellules infectées, à proximité des noyaux. Ils sont composés de protéines N de nucléocapside par assemblage spontané des protéines de nucléocapside et de matériel cellulaire, probablement des ARNm cellulaires (Larsen, 2000).

Le processus de cicatrisation en présence d'une inflammation persistante et d'un exsudat fibrineux, passe par une phase de multiplication importante des pneumocytes de type II, une infiltration de fibroblastes et une néo vascularisation. Les fibroblastes se développent de manière peu organisée puis donnent des polypes fibreux intra-alvéolaires et bronchiolaires sur lesquels se développe un épithélium hyperplasique constitué de pneumocytes II (pour certains en cours de différenciation en pneumocytes I). Ce phénomène appelé bronchiolite

oblitérative fibrosante, traduit les travers des mécanismes de cicatrisation et induit à la fois une baisse des surfaces d'échanges disponibles chez des animaux déjà peu avantagés et une diminution de la compliance pulmonaire préjudiciable à une circulation correcte de l'air (Caswell, Williams, 2008).

III.5. Interactions avec d'autres agents pathogènes

Les affections respiratoires virales sont fréquemment initiatrices d'infections bactériennes, certainement largement sous-estimées, dont le développement est facilité par les lésions de la barrière épithéliale, une diminution de l'activité de l'escalator muco-ciliaire couplé à une augmentation de la viscosité des sécrétions (Angen *et al.*, 2009). L'infection expérimentale par le VRSB suivie 6 jours plus tard d'une infection par *Histophilus somni* induit une atteinte à la fois plus sévère et plus durable cliniquement, ainsi que des lésions pulmonaires plus marquées que chez les témoins infectés seulement par l'un ou l'autre des deux pathogènes (Gershwin *et al.*, 2005). La sévérité de la clinique est par ailleurs couplée aux titres en IgE sériques mesurés, et celle-ci ne se rétablit que lorsque la synthèse d'IgG2 débute.

De même, lors d'une coinfection avec *Mannheimia haemolytica*, la propension du VRSB à inhiber la réponse lymphocytaire induit une hyperthermie, des signes cliniques d'atteinte respiratoire, des lésions pulmonaires et une mortalité significativement supérieurs (Woldehiwet, Sharma, 1992).

IV. LA VACCINATION CONTRE LE VRSB

IV.1. Les modèles expérimentaux disponibles

Pendant de nombreuses années, il a été très difficile de reproduire en modèle expérimental bovin la pathogénicité du VRSB observée dans les conditions naturelles.

De nombreux modèles utilisant des doses infectieuses diverses et des voies d'inoculation variées (intranasale, intratrachéale, en nébulisation) n'ont en effet pas permis de recréer la sévérité des signes cliniques et des lésions pulmonaires rencontrées lors d'infections naturelles (Larsen, 2000; Belknap, Ciszewski, Baker, 1995; Gershwin *et al.*, 1998). D'autres paramètres semblent intervenir, tels que la souche virale et son adaptation en cultures cellulaires. Ainsi une même souche, utilisée à la même dose, infecte 4 veaux sur 4, lorsqu'elle

est directement administrée sans passage sur cultures cellulaires bovines, alors qu'elle n'infecte qu'un nombre très réduit après trois passages successifs (Stott, Taylor, 1985). *In fine* des modèles récents ont permis de reproduire plus efficacement la pathologie observée sur le terrain, même si une optimisation est encore possible. Ils utilisent pour la plupart de jeunes veaux séronégatifs, un virus avec très peu de passages en culture cellulaires ou réadapté à l'hôte et deux voies d'inoculation possibles, l'aérosolisation ou l'association intranasal-intratrachéal des veaux (West *et al.*, 1999; Tjørnehøj *et al.*, 2003; Boxus *et al.*, 2007). Une des conséquences est la difficulté, lors de tests d'évaluation de l'efficacité vaccinale, d'obtenir de la clinique suffisamment expressive dans le groupe contrôle permettant de faire une comparaison entre lots vaccinés et non vaccinés. (Hägglund *et al.*, 2004; Kalina *et al.*, 2004; Tjørnehøj *et al.*, 2003). Ainsi la démonstration de l'efficacité vaccinale repose le plus souvent sur une réduction de l'excrétion virale chez les vaccinés plutôt qu'une réelle protection clinique (Meyer, Deplanche, Schelcher, 2008).

IV.2. La problématique de la vaccination contre les VRS

IV.2.1. Vaccination et immunopathologie

Dans les années 60, un vaccin expérimental inactivé au formol et adjuvé à l'aluminium (« lot 100 ») a été testé sur un groupe de très jeunes enfants d'un orphelinat. Il n'y a pas eu de réactions délétères immédiatement après vaccination et les enfants ont fait des réponses sérologiques normales. Toutefois, l'infection par une souche naturelle de VRSH quelque mois plus tard a entraîné une maladie sévère avec mortalité uniquement chez les enfants vaccinés de l'orphelinat (Kim *et al.*, 1969; Kapikian *et al.*, 1969; Chin *et al.*, 1969). Depuis il n'existe pas de vaccin VRSH en santé humaine. Par la suite des travaux ont montré que l'immunopathologie vaccino-induite se traduisait par la production d'IgE et la présence d'éosinophiles à la fois dans le parenchyme pulmonaire et les sécrétions respiratoires, résultant d'une activation préférentielle des cytokines de la voie Th-2 (IL-5, IL-13, IL-10) et de médiateurs d'inflammation responsables de la réponse locale et de la bronchoconstriction (Kalina *et al.*, 2004; Waris *et al.*, 1997; West *et al.*, 1999). Cette immunopathologie vaccino-induite n'a jamais été observée après l'utilisation de vaccins atténués en modèle souris. Des phénomènes d'exacerbation vaccinale ont aussi été décrits pour le VRSB, lors de l'utilisation d'un vaccin inactivé (Schreiber *et al.*, 2000) ou lors de modèle expérimental (Antonis *et al.*, 2003; Gershwin *et al.*, 1998).

Les difficultés du développement vaccinal relèvent donc à la fois du virus et de la réponse de l'hôte. Les défis de la vaccination sont de protéger cliniquement les individus et de prévenir d'une infection naturelle, en stimulant une réponse en anticorps neutralisant spécifiques et une réponse cellulaire auxiliaire de type Th-1 associée à la production de lymphocytes T cytotoxiques.

Aucun vaccin n'est commercialement disponible à l'heure actuelle chez l'homme. La seule alternative préventive disponible est une sérothérapie (Palivizumab, Synagis®) constitué d'IgG₁ monoclonaux humanisés spécifiquement dirigés contre la protéine de fusion. Ce traitement, en raison d'un protocole d'une injection mensuelle pendant les 5 mois les plus à risque, pour un coût d'environ 450€ par injection pour un nourrisson de 3kg, est réservé de fait aux enfants les plus à risques (*Dictionnaire Vidal*, 2014).

Cette catégorie regroupe les enfants :

- nés à 35 semaines d'âge gestationnel ou moins et de moins de 6 mois au début de l'épidémie saisonnière à VRS,
- de moins de 2 ans ayant nécessité un traitement pour dysplasie broncho-pulmonaire au cours des 6 derniers mois,
- de moins de 2 ans atteints d'une cardiopathie congénitale avec retentissement hémodynamique. (Committee on Infectious Diseases 2009; European medicine Agency, 2009)

Selon l'âge du fœtus, il faut aussi composer avec la présence des anticorps maternels, donc adapter le protocole vaccinal alors que la fenêtre la plus sensible se situe pendant la phase de décroissance des anticorps colostraux, et éventuellement entre deux rappels du protocole.

Des cas de résistance liée à une réversion virale ont été décrits *in vivo* et *in vitro* suite à l'utilisation de ces anticorps monoclonaux (Zhao *et al.*, 2006, 2000; Zhu *et al.*, 2011). La même stratégie a été développée expérimentalement avec succès chez les bovins (Thomas *et al.*, 1998).

Les enjeux chez les animaux de rente sont différents, et un risque minime est acceptable.

IV.2.2. Vaccination et variabilité des virus

Bien que la réponse lymphocytaire CD8+ et cytotoxique soit essentielle pour l'élimination du virus suite à une infection aiguë, la réponse humorale, protège des réinfections et est recherchée dans le développement vaccinal. Elle est majoritairement dirigée contre les protéines F et G. Les anticorps sériques jouent un rôle plus particulièrement dans l'infection de l'arbre respiratoire profond tandis que les Ig sécrétées (IgA, IgM et certaines IgG), certes plus transitoires et locales sont impliquées dans la régulation de l'infection de l'arbre respiratoire supérieur (Meyer, Deplanche, Schelcher, 2008).

Par ailleurs la variabilité génomique et antigénique des VRS pourrait avoir des implications sur le développement des vaccins. La variabilité de la séquence nucléotidique de la glycoprotéine G du VRSB est de l'ordre de 15% (Prozzi *et al.*, 1997). Elle est largement inférieure à celle du VRSH qui atteint jusqu'à 45% (Meyer, Deplanche, Schelcher, 2008), mais elle a suffi, sur la base d'anticorps monoclonaux, à classer les souches en sous-groupes A et B (Furze *et al.*, 1994), AB et non-typé. Des anticorps dirigés contre une souche du sous-groupe A ne reconnaissent que partiellement une autre souche du même sous-groupe, de manière plus modérée une souche du sous-groupe AB, et ne reconnaissent pas les souches des sous-groupes B et non-typé (Furze *et al.*, 1997). Les mutations induisant ces différences prennent place dans une région immuno-dominante de la protéine G (domaine 174 à 188 des acides aminés), et peuvent contribuer à l'absence de protection croisée entre les souches vaccinales et de terrain. Toutefois certains auteurs jugent que par rapport au VRSH, la variabilité antigénique du VRSB est trop faible pour donner lieu à une telle dichotomie et penchent pour un seul groupe antigénique contenant plusieurs variants (Elvander *et al.*, 1998; Prozzi *et al.*, 1997; Furze *et al.*, 1997; Schrijver *et al.*, 1997; Larsen *et al.*, 1998).

Concernant la variabilité génétique des VRS, comme tous les virus à ARN brins négatifs elle est principalement due à des mutations liées aux erreurs de copie de l'ARN polymérase ARN dépendante. Il a été démontré que le VRSB évoluait sous forme de quasi-espèces virales avec des fréquences de mutations autour de 10^{-3} substitutions/nucléotide (Deplanche *et al.*, 2007). Ce système permet un échappement rapide à un épitope linéaire comme cela a été montré en thérapie virale avec l'apparition de cas de résistances (autour de 5% des virus) à un anticorps monoclonal anti-F humain commercialisé (palivizumab) (Walsh, Falsey, Sullender, 1998; Sullender, Edwards, 1999). Pour le VRSB une classification en 6

sous-groupes a été proposée sur base des séquences des gènes N, F et G. Cette classification suggère une répartition géographique et une évolution continue des isolats de VRSB liée à la pression vaccinale (Valarcher *et al.*, 2000; Elvander *et al.*, 1998). Qui plus est, les mutations observées au cours de l'évolution du VRSB sont préférentiellement localisées sur les épitopes de G et F.

IV.2.3. Vaccination et âge de la population cible

L'objectif de la vaccination contre le VRSB est de protéger les veaux dès les premiers jours contre le VRSB.

Or, la réponse immunitaire développée par les nouveau-nés est souvent plus faible que chez les adultes. Ceci est en partie dû à l'immaturation de la réponse cellulaire. Les lymphocytes T possèdent une capacité moindre de synthèse d'IL-2 et d'IFN- γ et les macrophages sont moins sensibles à cet interféron (Melvin *et al.*, 1995; Maródi, 2006). Ce défaut semble couplé à une réponse humorale incomplète dont les principales hypothèses sont la non-accessibilité des épitopes par les lymphocytes B, étant masqués par la fixation de ces anticorps et une clairance plus rapide du couple anticorps-antigène par rapport à l'antigène seul (Hägglund *et al.*, 2011; Getahun, Heyman, 2009).

Par ailleurs, si la mère a été infectée par le VRSB elle transmettra ainsi ses anticorps (85% sous forme d'IgG1) au veau via le transfert colostrale (Borghesi *et al.*, 2014; Stelwagen *et al.*, 2009; Mawhinney, Burrows, 2005; Dudek *et al.*, 2014). Globalement on considère que ce transfert pourrait apporter une protection des veaux contre une infection naturelle à VRSB, mais que cette protection n'est que partielle (Hägglund *et al.*, 2004; Meyer, Deplanche, Schelcher, 2008; Valarcher, Taylor, 2007). Après infection, les virus sont détectés en proportions semblables dans le LLBA chez les veaux agammaglobulinémiques et chez les veaux ayant reçu le colostrum. Cependant, les lésions et l'altération des échanges gazeux sont plus importantes lorsque les veaux n'ont pas reçu de colostrum (Belknap *et al.*, 1991). Il n'existe pas de données sur la protection apportée par le colostrum lorsque les mères ont été vaccinées en fin de gestation.

Les résultats de Kimman (1987) montrent que les anticorps anti VRSB d'origine maternelle limitent la réponse humorale naturelle tant locale que systémique après infection des veaux, avec un effet dose entre titre en IgG spécifiques du VRSB et réponse du veau (Kimman *et al.*, 1987).

Toutefois cette interférence ne concernerait pas la réponse cellulaire. Bien que les anticorps d'origine maternelle semblent limiter la réponse immunitaire humorale induite lors d'utilisation de vaccins vivants atténués ou de vaccins inactivés, ces veaux sont ultérieurement protégés contre une inoculation d'épreuve (Patel, Didlick 2004; Vangeel *et al.*, 2007). Cela est probablement lié à l'induction d'une réponse cellulaire lors de la vaccination, qui elle n'est pas modifiée par la présence des anticorps maternels.

Cet effet suppresseur, corrélé à la concentration en anticorps maternels apparaît plus important dans l'arbre respiratoire profond (Hägglund *et al.*, 2011). De fait, les stratégies les plus récentes ont misé sur l'immunisation mucoale avec des virus vivants atténués par voie intranasale. Cette immunisation intra-nasale confère une protection forte et rapide, même en présence d'anticorps colostraux (Kimman, Westenbrink, Straver, 1989).

La même problématique a été soulevée en médecine humaine (Crowe, Firestone, Murphy, 2001).

IV.3. Les vaccins contre les VRS

IV.3.1. Vaccins commercialisés

Le premier vaccin pour bovins est apparu à la fin des années 1970 (Zygraich, 1982), celui-ci est toujours commercialisé à l'heure actuelle.

Au moins 90 spécialités vétérinaires contenant une valence VRSB sont disponibles dans le monde (*Vetvac - A free online database of livestock veterinary vaccines*, 2015), la plupart sont des variantes d'une même souche vaccinale, qui diffèrent soit par les associations avec différentes valences (BoHV-1, BVDV, *Leptospira*, *Mannheimia*,...), soit par la dénomination selon les zones de commercialisation.

Cinq vaccins, listés en annexe 1, sont disponibles en France et chez une partie de nos voisins européens (Allemagne, Royaume-Uni, Irlande, Belgique,...) (*Index des RCP*, 2015). Un vaccin inactivé par voie générale, trois vaccins atténués par voie générale et un vaccin atténué par voie intranasale. Pour le vaccin inactivé, utilisé depuis 10 ans à des millions de dose, il n'existe pas de données de pharmacovigilance faisant état des problèmes d'immunopathologie vaccino-induite. Deux nouvelles spécialités, à virus inactivé, ont obtenu leur autorisation de mise sur le marché le 10 novembre 2015 (annexe 1).

La réponse humorale systémique, lors d'essais comparatifs, est meilleure lorsque les veaux sont vaccinés avec un vaccin vivant modifié par rapport à un vaccin inactivé (Ellis *et*

al., 1995). L'hypothèse avancée pour expliquer ces différences est l'altération des épitopes de la protéine de fusion F lors du processus d'inactivation.

Vaccins inactivés

Malgré les déconvenues des premiers essais vaccinaux humains, la recherche vétérinaire n'a pas délaissé ces vaccins inactivés. Beaucoup d'essais ont été reproduits chez les bovins avec des vaccins inactivés au formol. Ils induisent une réponse en anticorps neutralisants correcte (Gershwin *et al.* 1998; Kalina *et al.* 2004). Toutefois certains essais comparatifs ont montré que les anticorps produits par ces vaccins étaient moins neutralisants que ceux obtenus avec un virus vivant (Ellis, Hassard, Morley, 1995; Kerkhofs *et al.*, 2004).

Leur pouvoir immunopathologique dépend beaucoup du processus d'inactivation et de l'adjuvant utilisé. Par ailleurs lorsqu'ils sont utilisés pour des rappels, les vaccins inactivés au formol n'induisent pas les symptômes observés suite à leur usage en primo-injection (Waris *et al.*, 1997).

Les essais d'efficacité des vaccins inactivés ont montré une réduction des signes cliniques et des titres infectieux suite à une inoculation d'épreuve. Certains ont obtenu une autorisation de mise sur le marché. Cependant, plusieurs d'entre eux ont été retirés pour raisons économiques ou parce que la pharmacovigilance a révélé qu'un des composants de l'adjuvant (polyvinylpyrrolidone (PVP)) de certains lots induisait une sensibilisation envers les excipients de certains antibiotiques, et une réaction anaphylactique (Clark, 1994; O'rourke, 2009; Howard *et al.*, 1987; Larsen, Tegtmeier, Pedersen, 2001). Un vaccin commercial inactivé a dû être retiré du marché pour exacerbation des signes cliniques lors d'infection naturelle à VRSB (Schreiber *et al.*, 2000). Le seul vaccin inactivé disponible à l'heure actuelle est le Bovilis Bovigrip® (MSD- Intervet), mis sur le marché en 2002. Il présente la particularité d'être adjuvé par la saponine (Ellis *et al.*, 2001, 2005). Il a montré son efficacité tant en terme de réduction des signes cliniques que d'excrétion virale. Il est actuellement commercialisé et n'est pas associé à des phénomènes immunopathologiques (Patel, Didlick, 2004; Woolums *et al.*, 2004; Antonis *et al.*, 2003).

Vaccins vivants

Étant donné qu'une infection naturelle confère une immunité forte et n'induit pas de réponse exacerbée lors d'une réinfection ultérieure, les premières recherches se sont concentrées sur les vaccins vivants. Les premiers vaccins ont été mis sur le marché au début des années 80, par voie systémique, par peur de réversion virale, transmission horizontale, et de recombinaison avec une souche sauvage bovine ou humaine. Ils ont été atténués par des passages successifs en cultures cellulaires. Ces vaccins vivants ont montré expérimentalement une protection partielle à complète selon les auteurs suite à une épreuve virulente (Xue *et al.*, 2010; Vangeel *et al.*, 2007; Kerkhofs *et al.*, 2004; Harmeyer *et al.*, 2006). Sur le terrain, la prévalence clinique de maladie, les performances zootechniques de jeunes animaux à l'engraissement ou en début de lactation mettent en évidence une amélioration limitée liée à la vaccination (Theurer, Larson, White, 2015; Schunicht *et al.*, 2003; Ferguson, Galligan, Cortese, 1997; Hunsaker, Tripp, Smith, 2007)

Une potentialisation des signes cliniques a été suggérée par une suite à l'utilisation d'un vaccin vivant commercial (Risposal RS®) alors que le virus sauvage circulait dans l'élevage (Kimman *et al.*, 1989). Cependant les données de cette publication étaient trop rares pour confirmer cette hypothèse.

Un vaccin utilisable par voie mucoale a été commercialisé en 2006. L'immunisation intra-nasale avec du VRSB atténué confère, expérimentalement une protection clinique et virologique partielle à complète, mais rapide dès 10 jours, y compris en présence d'anticorps colostraux (Vangeel *et al.*, 2007). La vaccination intranasale induit cependant une persistance de la souche vaccinale jusqu'à 20 jours dans les voies respiratoires supérieures du veau, sujette à une possible réversion virale. Certains essais rapportent une transmission horizontale de la souche vaccinale (Vangeel *et al.*, 2007; Timsit *et al.*, 2009).

IV.3.2. Vaccins à l'étude

Les vaccins à virus inactivés entiers administrés par voie parentérale sont considérés comme faiblement inducteurs d'une réponse mucoale par la production d'IgA et d'une réponse lymphocytaire cytotoxique. De plus le risque existe, via l'inactivation, de dégrader les épitopes immunogènes et d'induire une réponse exacerbée lors d'une infection ultérieure.

D'un autre côté, les vaccins vivants atténués induisent une réponse immunitaire similaire à celle observée lors d'infection naturelle. Lorsqu'ils sont administrés par voie intranasale ils interfèrent moins avec l'immunité maternelle.

Il est possible de générer de tels virus par passages cellulaires successifs, mais cette technique d'atténuation ne permet pas, la plupart du temps, de conserver une immunogénéicité suffisante (Kimman *et al.*,1987).

Dans les deux cas, l'excrétion virale persiste et peut favoriser l'apparition de mutants liés à la pression de vaccination.

Pour pallier à ces problèmes, les avancées récentes mettent en jeu des vaccins recombinants ou vectorisés issus d'ADNc, qui offrent à la fois, le caractère vivant atténué, la stabilité génétique et le faible risque de réversion.

Vaccins recombinants

Avec le développement de la technique dite de génétique inverse, il a été possible de construire des virus modifiés génétiquement. Ainsi plusieurs virus recombinants, délétés d'un gène ou mutés, ont été produits. Le but est double, il permet à la fois de comprendre le mode d'action de chaque protéine sur l'hôte et d'évaluer les propriétés immunogènes de chacune d'elle pour les tester sous forme de vaccin.

Les principaux épitopes sont localisés, pour le RSV, sur les protéines N, M, NS2, M2-1, F et G. Expérimentalement, les protéines M2, N et surtout F sont les principales cibles d'une réponse lymphocytaire de type Th1 avec intervention de lymphocytes cytotoxiques (Taylor *et al.*, 1997; Gaddum *et al.*,2003).

Des virus recombinants rBRSV Δ G, dont la protéine G est absente de la surface du virion apparait fortement atténué lors d'une administration intranasale. Ce virus permet pourtant la production d'anticorps neutralisants mais dont le titre est de 4 à 32 fois inférieur à celui provoqué par le virus dont il est issu (Schmidt *et al.*, 2002). De fait, malgré une réduction significative du titre viral à la fois dans le nasopharynx et dans le parenchyme pulmonaire, la protection est inférieure à celle conférée par la souche parente. Les virus recombinants Δ G semblent trop atténués pour induire une réponse protectrice complète.

La glycoprotéine G, peut activer une réponse en lymphocytes T cytotoxiques que chez les bovins. En modèle souris cette protéine serait cependant plutôt associée à une réponse

lymphocytaire de type Th-2 et potentiellement associée à une immunopathologie viro-induite (Fogg *et al.*, 2001; Antonis *et al.*, 2006; Openshaw, Clarke, Record, 1992).

Le virus recombinant exprimant seulement la protéine Gm semble par son innocuité et sa stimulation antigénique être un candidat potentiel. La réplication s'effectue quasi exclusivement dans l'arbre respiratoire supérieur. La protection conférée par ce virus est bonne et la réponse, tant cellulaire qu'umorale identique à une infection naturelle (Valarcher, Taylor, 2007). Il faut toutefois qu'il intègre soit des épitopes fortement conservés et/ou communs aux différents sous-types viraux. Cependant, la proximité avec le virus sauvage étant proche, les réversions sont possibles et n'ont pas été étudiées (Meyer, Deplanche, Schelcher 2008).

La protéine de fusion, lorsqu'elle est exprimée seule sur virus recombinants induit une réponse Th-1 avec intervention de lymphocytes T cytotoxiques.

La modification de la séquence de clivage FCS-2 ou de pep27, ne modifie pas la réplication virale dans l'appareil respiratoire et provoque une réponse inflammatoire mineure, faisant de ces virus des candidats potentiels pour d'éventuels vaccins L'inoculation intratrachéale et intranasale à des veaux d'un virus recombinant dont la séquence de clivage FCS-2 a été modifiée, induit une production d'anticorps neutralisants, l'activation d'une réponse lymphocytaire spécifique et une immunité protectrice 6 semaines après instillation.

Des virus recombinants dont la séquence de pep27 a été remplacée par les séquences codant pour l'IL2, l'IL4 ou encore l'IFN- γ ont été produits (König *et al.*, 2004). Ils n'ont été testés que sur le VRSH, produisant un virus atténué chez la souris, mais dont la production d'anticorps et la réponse cellulaire n'est pas plus importante qu'une infection naturelle (Bukreyev *et al.*, 1999, 2000). Dans la même approche, la délétion de la séquence de pep27, n'affecte pas la réplication et n'induit pas d'inflammation et l'absence de virokinine pourrait s'avérer intéressant pour la réponse immunitaire innée de l'hôte. Ce vaccin est cependant trop peu immunogène, la virokinine semblant être nécessaire à une réponse correcte (Valarcher *et al.*, 2006).

Des essais de virus recombinants dont les gènes des protéines NS1 et/ou NS2 ont été délétés montrent que de faibles titres viraux sont détectés au niveau du nasopharynx pendant 1 à 2 jours, mais aucun virus n'est détecté une semaine après infection intranasale et intratrachéale au niveau pulmonaire. Aucune lésion macro et microscopique n'a été par

ailleurs observée. La réponse à cet essai vaccinal, plus marquée chez le mutant rBRSV Δ NS2, résulte en une production d'anticorps spécifiques d'IFN- γ , et l'induction d'une réponse T CD4+ protectrice contre une épreuve virulente avec une souche de terrain et s'affranchit des effets suppresseurs de ces protéines sur les interférons de type I. La capacité supérieure du mutant Δ NS2 est probablement due à une induction plus forte de la production d'interféron α et β .

Cependant, bien que ce virus soit immunogène et atténué, il n'a pas été testé en présence d'anticorps d'origine maternelle (Valarcher *et al.*, 2003, 2001).

La transposition des gènes G et F des positions 7 et 8 en position 3 et 4 permet d'exprimer ces protéines de façon plus importante dû au gradient de transcription de l'extrémité 3' vers 5' (**II.2.2.**). Cette technique aboutit à la formation d'un virus vivant atténué protecteur vis-à-vis d'une infection (Valarcher, Taylor, 2007; Kreml *et al.*, 2002). Il serait possible, dans cette optique, d'augmenter la liaison du complexe polymérase avec le génome pour favoriser la transcription de gènes précis en modifiant la séquence de certains promoteurs et/ou de contenir la réplication.

La protéine M2 induit une réponse lymphocytaire cytotoxique exacerbée lorsqu'elle est la cible de la réponse immunitaire mais uniquement pour le VRSH et en modèle souris.

Des mutants délétés de la protéine de SH présentent un profil de réplication atténué au niveau pulmonaire mais inchangé au niveau nasopharyngé chez le veau. Un vaccin expérimental BRSV délété du gène SH et utilisé par voie intranasale chez des veaux a fait preuve de son efficacité clinique et virologique contre une inoculation d'épreuve sévère (Blodörn *et al.*, 2014).

De toutes ces études il ressort que les principales protéines immunogènes du VRS sont la glycoprotéine F puis les protéines N et G.

Vaccins ADN

D'un point de vue général, les vaccins ADN sont efficaces pour induire une réponse cellulaire T CD8+. Leur principaux avantages résident dans leur capacité théorique à être utilisée chez les nouveau-nés, leur facilité d'usage, la synthèse endogène d'antigène, la possibilité d'adjoindre des séquences codant pour des molécules de classes I du CMH, forçant

la réponse cellulaire et l'abstraction des effets inhibiteurs des anticorps colostraux (Jie Zhang *et al.*, 2002; Li *et al.*, 1998).

La plupart des études ont été menées en modèle murin. Les vaccins recombinants à ADN codants pour les protéines F ou N ont montré leur capacité à orienter la réponse immunitaire de type Th1-CD8+. Cependant Taylor et coll., ont mis en évidence que ce type de vaccination nécessitait un nombre plus important d'injections pour finalement une moindre réponse humorale, et donc plus de temps pour la mise en place de l'immunité (Taylor *et al.*, 2005). Certains de ces vaccins pourraient être plus efficaces s'ils sont utilisés en primo injection suivi d'un rappel avec un vaccin inactivé ou un vaccin sous-unité basé sur la protéine F (Hamers, Juillard, Fischer, 2007; Martinez *et al.*, 1999; Boxus *et al.*, 2007).

D'autres essais ont utilisé des vaccins recombinants à ADN basés sur un plasmide codant pour la protéine N de nucléocapside. Les résultats mettent en évidence que la protéine N devient une cible des lymphocytes CD8+ (Riffault *et al.*, 2010). Les vaccins ADN basés sur la protéine N de nucléocapside diminuent l'excrétion virale et les lésions pulmonaires sans exacerbation des symptômes chez des veaux après épreuve virulente. La protection clinique n'est que partielle. La réduction des signes cliniques est meilleure lorsque ce vaccin est basé sur la protéine de fusion F (Letellier *et al.*, 2008).

IV.3.3. Intérêt des adjuvants pour les vaccins inactivés

Dans le cadre de la vaccination contre le VRS, l'objectif des adjuvants est de stimuler la réponse immunitaire tout en l'orientant vers une voie protectrice de type Th1.

Saponines

La saponine est un dérivé tri-terpénique extrait le plus souvent de *Quillaja saponaria* Molina, un arbre endémique du continent sud-américain dont l'écorce est riche en saponines. Le Quil-A est un mélange hétérogène de saponines présentant des toxicités différentes, acceptable en vaccinologie vétérinaire, mais non en humaine. L'obtention par purification du composé QS-21 permet de réduire la toxicité, notamment l'hémolyse et la nécrose locale, tout en conservant les propriétés immunogènes de stimulation à la fois des voies cellulaires et humorales (activation des lymphocytes T cytotoxiques, production d'IgG2) et favorisant la prise en charge d'antigènes par les cellules présentatrices d'antigènes (Hu *et al.*, 2015). La

production d'anticorps est multipliée par 100 lorsque la saponine est l'adjuvant par rapport à l'antigène seul (Kensil *et al.*, 1991). Il est en outre l'adjuvant de nombreux essais cliniques vaccinaux chez l'homme contre le VIH, la leishmaniose viscérale, les cancers du sein, du poumon, de la prostate,...(Hu *et al.*, 2015). Cet adjuvant est d'ailleurs utilisé dans un vaccin commercial (Bovilis Bovigrip®, inactivé au formaldéhyde) et montre de meilleurs résultats que l'oxyde d'aluminium (Ellis *et al.*, 2005; Stott *et al.*, 1984; Hancock *et al.*, 1995).

Les complexes immunostimulants

Les complexes immunostimulants (ISCOMs) sont des adjuvants puissants, mis au point au début des années 1980, basés sur l'association stœchiométrique de saponine (Quil-A), cholestérol, phospholipides et protéine antigénique (Morein *et al.*, 1984). Ces complexes présentent une toxicité moindre par rapport au Quil-A ou au QS-21 seuls (Hu *et al.*, 2015). Ils ont montré leur efficacité dans l'activation des lymphocytes T CD8+ ainsi que la réponse mucoale IgA par action sélective via l'IL12 et non sur l'IL4 (Sjölander *et al.*, 1998; Hu *et al.*, 2001). Leur efficacité a été démontrée en présence d'anticorps d'origine maternelle chez des veaux de 3 à 8 semaines et de 7 à 15 semaines (Hägglund *et al.*, 2011, 2004), par épreuve virulente intranasale après deux injections en comparaison avec un vaccin inactivé commercial et un témoin non vacciné. Les perturbations cliniques sont mineures à nulles et significativement moindres avec le vaccin ISCOM qu'avec le vaccin commercial ou le témoin. De plus la réponse IgA est plus rapide et intense, la production d'IgG est significativement meilleure et l'excrétion virale est quasi nulle par PCR et culture virale. Ces résultats sont qualitativement comparable à la réponse immunitaire à une infection sauvage (Kimman *et al.*, 1987).

Les oligodesoxynucléotides (ODN)

Les CpG ODNs sont des brins d'ADN monocaténaire non méthylés composés d'une cytosine et d'une guanine liées par une fonction phosphodiester (CpG) auquel sont adjoints deux purines en 5' et deux pyrimidines en 3'. Ce motif permet la liaison aux récepteurs de type TLR des cellules dendritiques, des macrophages, des lymphocytes et des natural-killer, induisant une production de diverses interleukines (IL-1, IL-6, IL-10, IL-12), de TNF- α et d'IFN- γ (Filion *et al.*, 2003; Mapletoft *et al.*, 2006). Cet adjuvant permet une réponse immunitaire fortement orientée Th-1 caractérisée par de forts titres en IFN- γ et une production d'IgG2 spécifiques. Son efficacité et sa sécurité ont été démontrées chez la souris et de jeunes veaux (Ioannou *et al.*, 2002, 2003). L'utilisation de cet adjuvant dans un vaccin inactivé au

formol, après épreuve virulente développe cette réponse cellulaire importante, réduit la production d'IL-5 et la multiplication virale dans le poumon (Mapletoft *et al.*, 2009; Oumouna *et al.*, 2005; Mapletoft *et al.*, 2006). De plus, aucun signe clinique exacerbé n'a été observé malgré l'usage d'un vaccin inactivé au formol par voie intranasale ou sous-cutanée, chez la souris comme chez le veau dans ces trois essais. Prince (Prince *et al.*, 2003) rapporte en revanche que l'emploi de cet adjuvant combiné à la protéine F par voie nasale chez le sigmodon, entraîne une réaction vaccino-induite suite à l'épreuve virulente malgré une réponse humorale correcte.

CONCLUSION

Les parallèles entre le VRSH et le VRSB, permettent, par leur proximité épidémiologique et physiopathologique, d'appréhender les mécanismes à la fois viraux et de la réponse de l'hôte lors de l'infection. Les études sur le VRSH contribuent aux VRSB par l'apport de détails précis pour la compréhension des mécanismes de réaction immunitaire spécifiques et les moyens de contourner une réponse de l'hôte débiliteuse. Le VRSB a pendant près de 40 ans offert un modèle animal plus proche dans l'expression clinique que les espèces de laboratoire semi-permissives, hormis le chimpanzé chez qui l'inoculation d'épreuve est réalisée, pour des raisons éthiques, avec des souches atténuées. Depuis quelques années, l'usage du modèle ovin, permissif à la fois pour le VRSH et le VRSB s'est développé (Levast *et al.*, 2013). L'agneau présente l'avantage d'avoir un système respiratoire cellulièrement et mécaniquement plus proche du nourrisson que du veau, un poids à la naissance du même ordre de grandeur et plus de facilité pour l'expérimentation. Les connaissances sur ces deux virus avancent en parallèle et servent alternativement et réciproquement l'une des deux espèces. Certes il existe des vaccins dans l'espèce bovine depuis de nombreuses années alors qu'aucun n'est disponible commercialement chez l'homme, mais l'efficacité des spécialités mises sur le marché est pour l'heure incomplète. Elle est à mettre en relation avec les logiques économiques et éthiques acceptables dans chaque espèce.

De nombreux vaccins ou associations vaccin/adjuvant prometteurs sont à l'étude pour offrir une protection clinique complète et sûre, sans risque de réversion virale, une absence d'interférence avec les anticorps d'origine maternelle et une immunité durable.

En attendant la commercialisation de ces vaccins, des pistes existent pour tenter d'optimiser l'utilisation des vaccins actuels. L'une d'entre elles, consiste à protéger les veaux dès la naissance par l'immunité maternelle, en immunisant les mères en fin de gestation et

sous réserve d'un transfert colostrale correct au veau. Cette hypothèse, est spécifique de l'espèce bovine car la placentation épithéliochoriale ne permet pas le passage des immunoglobulines circulantes contrairement à la placentation hémochoriale humaine. Des essais cliniques de phase II sont néanmoins en cours de déploiement par la firme GlaxoSmithkline aux États-Unis (n° NCT02360475), en Australie et en Europe (EudraCT number : 2014-002688-14) pour tester l'innocuité d'un vaccin expérimental dirigé contre le VRS dont l'indication serait la protection des nouveau-nés par transfert d'immunité in utéro.

SECONDE PARTIE : ETUDE EXPÉRIMENTALE

I. CADRE GENERAL ET OBJECTIFS

La vaccination contre le VRSB repose actuellement sur l'immunisation des veaux. L'utilisation du seul vaccin inactivé trivalent disponible (Bovilis Bovigrip, MSD Santé Animale), dirigé contre le VRSB, le bPI3 et *M. haemolytica*, se fait par deux injections à 3-4 semaines d'intervalle, avec une primo-injection à partir de 15 jours d'âge. Les veaux ne sont donc protégés au plus tôt que vers 6 semaines d'âge. Pour les vaccins atténués, un vaccin utilisable par voie intranasale (Rispoval® intranasal, Zoetis) possède une prescription d'immunisation à partir de 9 jours pour une protection entre 15 et 20 jours. Il existe donc une fenêtre de forte sensibilité au virus entre la naissance et les trois premières semaines, où il n'y a pas de possibilité de protection vaccinale. Toutefois si les mères ont été infectées par le VRSB, les anticorps anti VRSB seront présents dans le colostrum et assureront une protection partielle au veau (Kimman *et al.*, 1987). La situation dépend bien sûr de la prévalence sérologique du VRSB dans l'élevage.

Pour les élevages de faible prévalence désirant protéger les veaux dès la naissance, la stratégie pourrait alors être de vacciner les mères en fin de gestation afin de fournir une protection à l'ensemble des veaux via le transfert colostrale.

Cette stratégie est d'ailleurs celle utilisée pour protéger les veaux d'une partie des agents étiologiques des entérites néonatales depuis plus de 30 ans. Plus récemment une étude terrain sur la vaccination de vaches en fin de gestation avec le vaccin inactivé Bovilis Bovigrip® a été associée à des titres sériques en IgG spécifiques du VRSB (ELISA) significativement supérieurs (pendant au moins 12 semaines) chez les veaux recevant du colostrum des vaches vaccinées (Dudek *et al.*, 2014). De même une étude expérimentale a montré une efficacité partielle de la vaccination de vaches en fin de gestation avec le vaccin inactivé Bovilis Bovigrip®, contre une inoculation d'épreuve à *M. haemolytica* chez les veaux ayant reçu le colostrum des vaches vaccinées (Makoschey *et al.*, 2012).

L'objectif de ce travail de thèse était d'évaluer la protection de jeunes veaux contre une infection par le VRSB via la vaccination des mères en fin de gestation et le transfert de l'immunité maternelle.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Vaccination des mères, récupération des colostrums et distribution aux veaux

II.1.1. Vaccination et suivi des vaches

Soixante vaches de race Prim'holstein et Normande, d'un élevage expérimental (INRA-Domaine du Pin, 61 EXMES), ont été testées par ELISA (LsiVRSB Elisa kit, Life Technologies) et par séroneutralisation. L'ELISA utilisé dans cette étude permet d'attribuer une note qualitative en 5 classes (négatif (-), faiblement positif (+), titre moyen (++) , élevé (+++) et très élevé (++++)). Parmi ces vaches, 32 présentant des titres en anticorps VRSB nuls à faibles ont été retenues. Ces vaches sélectionnées étaient entre leur 2^{ème} et 4^{ème} lactation. Les animaux ont été répartis en deux groupes de 16 animaux de manière à avoir une répartition équivalente entre vaches séronégatives et faiblement positives dans chaque groupe. Les animaux du groupe « vacciné » ont été immunisés par deux injections à 4 semaines d'intervalle avec un lot commercialisé de Bovilis Bovigrip® (lot n°A075A01 (02762002)), suivant le protocole du fabricant : à chaque immunisation, injection de 5mL d'un flacon ouvert depuis moins d'une heure, par voie sous-cutanée au niveau de l'encolure. La seconde injection se situait un mois avant la date présumée du vêlage. Les animaux du groupe « non-vacciné » n'avaient rien reçu.

Les 32 vaches étaient en parallèle suivies en anticorps VRSB par ELISA indirect (Lsi Vet Bovine RSV, Life technologies) et par séroneutralisation aux deux dates d'injection (7 et 8 mois de gestation) puis au vêlage. Ceci permettait de suivre l'absence de séroconversion des vaches non-vaccinées et la séroconversion des vaches vaccinées. Par ailleurs, la détection directe de virus par PCR (RT-qPCR, Taqvet BRSV, Lissieu, Life technologies) sur écouvillons nasaux a été réalisée chaque semaine pendant les deux derniers mois de gestation.

II.1.2. Collecte et conservation des colostrums

Les colostrums de première et deuxième traite de chaque vache ont été collectés, les quantités de colostrum étant comprises entre 4 et 10 litres. La teneur totale en immunoglobulines a été mesurée. Les anticorps spécifiques dirigés contre le VRSB ont été détectés par ELISA et titrés par séroneutralisation.

La réponse en anticorps neutralisants a été analysée sur les prélèvements de petit lait par test de neutralisation en microplaque à quantité de virus constant vis-à-vis de la souche VRSB 3761. Brièvement, le colostrum a été centrifugé à 2500 tours/min pendant 30 minutes à +8°C. La couche superficielle de graisse a été dégagée pour récupérer le petit-lait. Des dilutions (facteur 2, allant des dilutions $\frac{1}{4}$ à $\frac{1}{4096}$) des petit-laits ont été incubées 1 heure à 37°C en présence du VRSB, de manière à avoir au final entre 150 à 200 TCID₅₀ (100 µL) par puit de plaques à 96 puits. Les sérums sont ensuite déposés sur cellules MDBK confluentes à 95%, en plaques 96 puits, pendant 2 heures à 37°C. Le milieu est ensuite enlevé, trois lavages en milieu MEM sont réalisés et les cellules sont ensuite incubées en milieu MEM base avec 5% de HS (Horse sérum). Les plaques sont mises à incuber pendant 4-5 jours à 37°C en étuve à 5% de CO₂. La présence de virus est révélée par détection de l'effet cytopathique. Les titres ont été évalués comme l'inverse de la dilution de sérum protégeant 50% des puits de cultures cellulaires (cellules MDBK, ATCCC CCL-22). Ils sont exprimés en ED₅₀ selon la méthode de Spearman-Kärber.

La réponse en anticorps ELISA a été analysée sur le petit-lait selon les instructions du kit LsiVRSB Elisa kit (Life Technologies). Ce kit n'a pas été validé pour tester les anticorps anti VRSB sur le colostrum.

Les colostrums ont été identifiés et conservés individuellement à -20°C.

II.2. Distribution des colostrums et suivi du transfert colostrale

Deux mois après la récolte des colostrums, 28 veaux mâles, de race Prim'holstein et Normande, nés en décembre 2013, dans le même élevage (station d'élevage INRA-Domaine du Pin), ont été nourris avec les colostrums préalablement conservés. Le colostrum d'une vache a servi à nourrir un veau. Pour cela, chaque veau était séparé le plus rapidement possible de sa mère et recevait le colostrum alloué (préalablement décongelé au bain-marie à 45°C) dans les 6 heures après la naissance, à raison de 10% du poids vif estimé, au biberon ou à la sonde s'il ne tétait pas de lui-même.

Quatorze veaux ont été nourris avec le colostrum de vaches vaccinées et quatorze autres avec celui des vaches non vaccinés. Par la suite tous les veaux ont été nourris de manière classique avec un aliment d'allaitement en deux repas par jour.

L'évaluation du transfert d'immunité passive a été réalisée par le suivi des IgG VRSB sériques par séroneutralisation et par ELISA, le jour de la naissance avant la prise colostrale puis à 1, 4, 7, 14 et 21 jours d'âge et enfin le jour de l'inoculation (**Figure 3**).

Ils reçoivent le lendemain de l'arrivée une injection unique de marbofloxacin (Forcyl®, Vétoquinol) à 8 mg/kg par voie intramusculaire.

		Animaux concernés	Temps depuis la naissance en jours(x j)														
			0	1		4		7						14			
suivi du transfert colostral	Veaux présents	effectif par groupe	14														
	ELISA	tous															
	Séroneutralisation																

Figure 3 : Récapitulatif des prélèvements entre la naissance et l'inoculation d'épreuve

II.3. Préparation de l'inoculum viral

II.3.1. Souche

La souche choisie est une souche de terrain VRSB 3761, isolée en 2003, issue d'un écouvillon nasal d'un animal présentant des signes cliniques respiratoires sévères (Meyer, Deplanche, Schelcher, 2008). Elle a subi 5 passages en culture cellulaire de cornets nasaux bovins (cellules TB, ATCC N° CRL 1390) et conservée à -80°C.

II.3.2. Réadaptation à l'hôte

La souche sélectionnée a été inoculée à des veaux agammaglobulinémique pour permettre de réadapter la souche à l'hôte. Pour cela deux veaux privés de colostrum à la naissance et nourris avec un aliment lactoreplaceur (Bonilait protéines, 2L matin et soir à 130g/L de buvée) ont été inoculés à l'âge de deux jours par voie intranasale et intratrachéale avec 10⁶ UFP de la souche BRSV 3761. Ils ont été euthanasiés 5 jours après inoculation. Du lavage bronchoalvéolaire a été récupéré qui a servi d'inoculum pour l'infection d'un

deuxième groupe de veaux selon le même protocole. À la fin, le LBA d'un veau a été récupéré et conservé à -80°C pour servir d'inoculum. Ce LBA inoculum a été testé comme indemne des pathogènes recherchés : herpesvirus bovin 1 (BoHV-1), adenovirus bovin 3, virus parainfluenza 3 (PI3V), virus de la diarrhée virale bovine (BVDV), coronavirus bovin (BoCV), *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma bovis*, effectuées par les laboratoires UMR 1225-IHAP et le LVD 35.

II.4. Infection expérimentale

Les 28 veaux ont été transportés jusqu'à une animalerie niveau 1 de l'ENV Toulouse, 6 jours avant inoculation. Les deux lots de 14 veaux ont été répartis aléatoirement dans deux cases adjacentes d'un bâtiment à ventilation statique, en aire paillée intégrale, à raison de 2 m² par animal. Les veaux étaient abreuvés au seau 2 fois par jour à heure fixe avec un aliment lactoreplaceur (Bonilait® Protéines) dosé à 130g/L de buvée à raison de 2.5 à 3.5L par repas. Un aliment solide premier âge était mis à disposition à volonté et des abreuvoirs étaient accessibles.

L'élevage naisseur possède la certification « indemne en IBR », les veaux ont tous été testés négatif par contrôle sérologique officiel à l'introduction sur le site d'expérimentation (Laboratoire vétérinaire départemental de Haute-Garonne, Toulouse). Les veaux ont tous été contrôlés comme non infectés par le virus de la diarrhée virale bovine (BVDV) par RT-qPCR (kit Taqvet BVDV, Life Technologies) sur un prélèvement de sang sur tube EDTA à la naissance et une semaine avant inoculation. Les veaux étaient par ailleurs tous restés séronégatifs au virus PI3 pendant toute la durée de l'expérimentation.

II.4.1. Administration de l'inoculum

Les veaux ont été inoculés à $22 \pm 3,5$ jours à raison de 2.10^5 TCID₅₀ par animal, par voie intratrachéale (10 mL) et intranasale (2 mL) dans le même temps. Les veaux ont été repartis pour avoir une homogénéité d'âge entre les groupes, l'ordre d'inoculation des veaux était aléatoire.

La préparation du site d'administration intratrachéale comporte une tonte large et rase sur le cou de chaque animal pour effectuer à la fois l'inoculation et les prises de sang à la

veine jugulaire, un rasage et une désinfection cutanée à la povidone iodée (Vétédine® savon et solution, Vétoquinol) d'une fenêtre de 10x10 cm centrée sur la trachée à mi-distance de la tête et de l'entrée du thorax.

Le veau vigile était maintenu en position de « chien assis », la tête en extension. L'inoculation était faite par l'intermédiaire d'un cathéter intratrachéal de 2.1x80mm (Intraflon® II, Vygon) implanté dans la trachée. Le bon positionnement de ce dernier était vérifié par injection d'air au moment de son placement ainsi que par la légère toux provoquée lors de l'injection.

L'administration intranasale du même inoculum dans chaque narine est effectuée par diffusion de microgouttelettes, via un embout stérilisé, utilisé sur le terrain pour l'administration de vaccin vivant par voie intranasale (Risposal®, Zoetis).

L'inoculum est conservé dans des seringues stériles (une par veau) dans de la glace entre la préparation et l'administration. Un titrage effectué post-inoculation sur un échantillon non administré de chaque inoculum est réalisé.

II.4.2. Suivi clinique

Le suivi clinique est effectué deux fois par jour au moment de la buvée, de J-3 jusqu'à l'euthanasie. Tous les paramètres sont évalués à chaque fois excepté l'auscultation pulmonaire faite uniquement le matin, les valeurs sont reportées sur les feuilles d'examen clinique présentées en annexe 2.

L'observation des signes cliniques est effectuée par le même opérateur et suivant la même séquence, présenté dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Moyens d'observation et de gradation des signes cliniques

Signe clinique	Critères de notation	Note	Coefficient	Moment d'observation	Technique	
Température rectale (°C)	< 39	0	2	pendant la buvée	thermomètre digital rapide, précision 0.1°C	
	39-39.9	1				
	40-40.9	2				
	≥41	3				
Fréquence respiratoire (mouvements par minute)	<30	0	2	30 à 45 minutes, après la buvée, veaux au repos, décubitus sternal	mesure sur un intervalle de temps de 30 secondes, puis ramené à la minute	
	30-39	1				
	40-59	2				
	60-79	3				
	≥80	4				
Jetage	absent	0	2	à l'arrivée dans le bâtiment, avant toute opération	observation directe	
	séromuqueux	1				
	purulent	2				
Toux	absente	0	1	à tout moment de présence dans le bâtiment		observation directe
	légère	1				
	sonore	2				
Refus alimentaire	absent	0	2	au moment de la buvée	observation directe	
	partiel	1				
	total	2				
Comportement	normal	0	2	à tout moment		observation directe
	triste	1				
	abattu	2				
Dyspnée abdominale (inspection)	absente	0	1		observation directe	
	présente	1				
Auscultation : dyspnée	0	0	3	uniquement le matin, avant la buvée		
	+	1				
	++	2				
	+++	3				
	++++	4				

Chacun des paramètres observés comporte plusieurs classes et une note est attribuée à chacune d'elle. Pour réaliser le score clinique, des coefficients sont appliqués à la note de chaque signe clinique.

Pour chaque examen clinique du matin, la somme du produit de chaque note par son coefficient donne le score clinique individuel (SCI) pour le veau étudié.

$$SCI_{\text{veau } i, \text{ jour}} = \sum_{\text{signe clinique}} \text{note}_{\text{signe clinique}} \times \text{coefficient}_{\text{signe clinique}}$$

La gamme de score individuel s'étend donc en théorie de 0 à 41.

Pour un jour donné, la moyenne des scores individuels du matin obtenus par les veaux du groupe considéré donne la valeur du score clinique moyen (SCM) par groupe et par jour.

$$SCM_{groupe,jour} = \frac{\sum_i SCI_{veau\ i,groupe,jour}}{\text{nombre d'animaux}_{groupe,jour}}$$

Le score clinique accumulé (ACS) par animal se définit par le calcul de l'aire sous la courbe par la méthode des trapèzes pour chaque veau présent pendant l'ensemble de la phase expérimentale soit 9 veaux par groupe.

Le score clinique cumulé (SCC) par animal se définit comme la somme des scores cliniques journaliers. Celui-ci a été utilisé pour établir un classement de la sévérité de l'atteinte clinique des veaux en 5 classes (**Tableau 4**) dont les intervalles tendent à traduire une observation clinique visuelle sur le terrain.

Tableau 4 : Classement des scores cliniques cumulés en fonction des manifestations cliniques visuelles

Score clinique cumulé	Manifestation clinique visuelle
0-10	Non perceptible
10-30	Atteinte clinique faible, détectable par un observateur expérimenté
30-70	Atteinte clinique modérée, détectable par tout observateur
70-100	Atteinte clinique marquée
>100	Veau en détresse respiratoire sévère

Pour chaque critère il a été calculé une moyenne avec écart-type en ne considérant que les 9 veaux par groupe qui ont été suivis tout au long de l'expérimentation. Le délai d'apparition des signes cliniques (hors température), le pic de signes cliniques et leur durée ont aussi été renseignés. Ils sont définis respectivement par le jour à partir duquel le score clinique individuel est supérieur à 2, le jour pour lequel le score clinique est maximal, et le jour à partir duquel il redescend en dessous de 2.

II.4.3. Suivi lésionnel

Mode d'euthanasie et technique de dissection

Les euthanasies sont réalisées en deux sessions, 5 veaux de chaque groupe ont été euthanasiés à J7, les 9 autres à J16 (*Figure 4*). L'euthanasie a été effectuée sous anesthésie, au fur et à mesure des autopsies, par une injection de 5 mg/kg de kétamine (Imalgène®) en intramusculaire suivie 5 à 10 minutes plus tard, de 15 mg/kg de pentobarbital sodique en intraveineuse dans la veine jugulaire avec suivi du rythme cardiaque.

Le veau est ensuite placé en décubitus latéral sur une table, la tête vers le bas pour faciliter l'écoulement du sang et éviter les contaminations sanguine ou digestive de l'appareil respiratoire, puis saigné par section des jugulaires en préservant l'intégrité de la trachée. Le prélèvement des poumons se fait par ouverture d'un volet costal en 4 étapes successives avec changement de gants et de matériel entre chaque étape et de tenue entre chaque veau :

- la peau est incisée et réclinée en suivant le cercle de l'hypocondre puis le sternum jusqu'au milieu du cou. Le membre thoracique est récliné dans le même temps.
- le tissu conjonctif sous cutané et les muscles du membre thoracique sont disséqués pour nettoyer la zone des éventuels poils issus du premier plan.
- une ponction des muscles intercostaux du 10^{ème} espace intercostal supprime le vide pleural puis l'incision est agrandie suivant la 10^{ème} côte en direction du sternum et au niveau des articulations costo-chondrales jusqu'à la première côte permettant de récliner le volet costal.
- le bloc pulmonaire est isolé des autres organes thoraciques par dilacération du tissu conjonctif. L'œsophage est séparé de la trachée et gardé intact pour se prémunir d'une contamination digestive. La trachée est isolée dans sa portion cervicale puis sectionnée lorsque le bloc est prélevé.

Lésions macroscopiques

Les lésions pulmonaires macroscopiques sont évaluées par examen visuel et par palpation de chaque lobe pulmonaire. Toute modification macroscopique était notée. Après la réalisation des LBA, l'analyse macroscopique a été poursuivie sur des sections des poumons en parties crâniale, intermédiaire et caudale. Les résultats sont exprimés en pourcentage de consolidation des lobes crâniens et intermédiaires.

Histopathologie

Des échantillons de tissu ont été prélevés, à cheval sur du tissu lésionnel et sain :

- nœud lymphatique trachéobronchique,
- nœud lymphatique médiastinal,
- lobe crânial droit,
- lobe moyen droit,
- lobe caudal droit,
- lobe crânial gauche,
- lobe caudal gauche,
- trachée.

Ces prélèvements ont ensuite été soit directement conservés à -80°C pour la quantification virale soit placés dans du formol à 10% pour l'histopathologie. Pour l'histopathologie, les échantillons de poumon fixés ont été inclus en paraffine, coupés en sections de 3 à 5µm d'épaisseur et colorés à l'hémalun-éosine.

L'observation des coupes de chacun de lobes est faite par un histopathologiste expérimenté en aveugle. La sévérité de l'atteinte tissulaire et de l'inflammation est notée normale (0), minime (1), léger (2), modéré (3), marqué (4) ou sévère (5). Pour chaque veau un score histopathologique pulmonaire a été calculé comme la somme des scores attribuables aux lobes crâniens et intermédiaires. Un score histopathologique moyen par groupe (avec écart-type) est calculé, basé sur la moyenne des notes des lobes pour chaque veau.

II.4.4. Suivi sérologique

Les échantillons sanguins sont collectés sur tubes secs (rouge) de 2x9 mL pour la récupération des sérums et sur tubes EDTA (violet) de 4 mL pour le sang total (Vacutainer®, Becton Dickinson) avec une aiguille à prélèvement multiple stérile (0.8x40 mm, Becton Dickinson) à usage unique. Les prélèvements sont effectués au niveau des veines jugulaires, alternativement à droite et à gauche.

Les sérums, prélevés à J0 puis tous les 3 jours jusqu'à J15, sont centrifugés après formation du caillot sanguin, puis aliquotés dans des eppendorfs et conservés à -20°C jusqu'à analyse.

La réponse en anticorps neutralisants a été analysée sur les sérums par test de neutralisation en microplaque à quantité de virus constant vis-à-vis de la souche VRSB 3761 et par ELISA en utilisant les mêmes méthodes que celles utilisées pour analyser les colostrums (cf. II.1.2.).

		Animaux concernés	Temps par rapport à l'inoculation (Jx) en jours													
			-3	-1	0	1	3	6	9	12	15	16				
Evaluation clinique et lésionnelle	Veaux présents	effectif par groupe	14							9						
	Suivi clinique	tous animaux présents														
Titre viral par RT-qPCR	Autopsie	animaux par groupe												5	9	
	Tissus pulmonaire													5	9	
Réponse cellulaire	LBA	tous animaux présents	4			4			4	5		4				9
	ENP															
Réponse en anticorps	PCR															
	ELISA															
	Séroneutralisation															

Figure 4 : Récapitulatif des prélèvements et effectifs des animaux pendant l'épreuve virulente

II.4.5. Suivi virologique

Le suivi virologique a été réalisé sur les prélèvements de LBA et d'ENP ainsi que sur les tissus pulmonaires récoltés à J7 et J15-16 (**Figure 4**).

Lavage broncho-alvéolaire ante-mortem

Quatre veaux par groupes, choisis de manière aléatoire, ont été prélevés par LBA à J0, J3, J6 et J10 (**Figure 4**). Les veaux étaient anesthésiés avec un mélange kétamine (Imalgène®)/ diazépam (Valium®) en proportion 4:2 en volume, injecté dans la veine jugulaire. Dès que l'anesthésie faisait effet, ils étaient placés en décubitus latéral gauche, tête en extension sur une table. Un endoscope optique (Olympus, modèle GIE) est utilisé. Il est introduit par voie orale dans la trachée après passage de l'épiglotte. Il est prolongé dans l'arbre aéroporteur de manière à passer dans la bronche droite et descendre jusqu'à la 2^{ème} bifurcation bronchique. Deux seringues de 50mL de sérum physiologique stérile sont alors injectées successivement par l'endoscope et aussitôt ré-aspirées, puis placées dans de la glace pilée jusqu'au traitement. Entre 45 et 60 mL sont habituellement récoltés.

Le veau est replacé immédiatement en décubitus sternal et gardé en observation jusqu'à ce qu'il soit capable de se déplacer pour rejoindre sa case d'origine.

L'endoscope est abondamment rincé intérieur et extérieur entre deux LBA d'une même série avec du sérum physiologique stérile. À la fin de chaque série, il est nettoyé avec 5L de sérum physiologique stérile.

Lavage broncho alvéolaire post-mortem

Lors du prélèvement de l'appareil pulmonaire à l'autopsie, un lavage broncho-alvéolaire était aussitôt effectué avec 500 mL de milieu MEM complété à 100 µL d'enrofloxacin à 20 µg/mL, 2 mL de gentamycine à 200 µg/mL et 5 mL de fungizone à 250 µg/mL et conservé à -80°C avant analyse. Entre 200 et 300 mL sont récoltés. Une partie de ce liquide est utilisé pour recherche virale par RT-qPCR (Taqvet BRSV, Lissieu, Life technologies).

Écouvillon nasal profond

Deux écouvillons stériles sont réalisés sur chaque veau présent à J-2, J0 puis tous les deux jours jusqu'à J16. Le prélèvement était effectué jusqu'à la rosée sanguine et l'écouvillon placé dans des tubes contenant :

- 1mL de PBS destiné à un test rapide EIA (kit Speed ReSpiVB® BVT, La Seyne-sur-Mer, France),
- 1mL tampon RLT (Qiagen) destiné à une RT-qPCR (Taqvet BRSV, Lissieu, Life technologies).

Tissu pulmonaire

Les mêmes prélèvements tissulaires que ceux réalisés pour l'histopathologie ont été analysés pour la détection du VRSB.

Quantification des charges virales

Le VRSB a été quantifié par RT-qPCR selon les instructions du kit (Taqvet BRSV, Lissieu, Life technologies).

- Extraction de l'ARN

L'extraction d'ARN à partir des LBA, EN et tissu (50 mg) a été réalisée au moyen du kit RNeasy Mini Kit (Qiagen). Deux échantillons de LBA et de poumon VRSB positifs d'une expérience préalable constituait le contrôle positif d'extraction pour les tissus.

- Détection par RT-qPCR

Le VRSB a été détecté par RT-qPCR en temps réel au moyen du kit LSI Taqvet BRSV (Lissieu, Life technologies) selon les recommandations du fabricant et à l'aide du thermocycleur LightCycler480ND.

Le contrôle positif externe de la PCR était un échantillon de VRSB3761 utilisé pour l'inoculation des veaux. Un contrôle positif interne était fourni par le kit. Le contrôle négatif de la PCR était de l'eau. Par ailleurs, les témoins positif et négatif d'extraction étaient également amplifiés.

La quantification a été réalisée par rapport à une gamme étalon obtenue en réalisant plusieurs dilutions (facteur 10) d'un contrôle interne positif (TaqMan® VRSB ControlsND du laboratoire Applied Biosystems) correspondant à 10^6 copies d'ARN de VRSB.

Les résultats ont été analysés en utilisant le logiciel (release 1.5.1) de l'appareil de PCR quantitative (Rocher LightCycler 480). Les charges virales sont exprimées en nombre de copies (\log_{10}) par mL pour les sangs et en nombre de copies (\log_{10}) par 100 mg de tissus.

Les analyses des écouvillons nasaux et lavages broncho alvéolaires permettent de calculer un titre viral moyen par groupe à chaque prélèvement, défini comme étant la moyenne arithmétique des résultats pour le groupe considéré, ainsi qu'un titre viral cumulé moyen, sur l'ensemble de la durée d'étude, définit comme la moyenne des aires sous la courbe obtenues pour chaque veau.

II.5. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées au moyen du logiciel GraphPad software (La Jolla, USA).

Pour les analyses cinétiques par groupe (RT-qPCR veaux, scores cliniques..) une analyse de variance à deux paramètres avec mesures répétées (two-way ANOVA) a été utilisée. Le test a montré un résultat significatif ($p < 0.001$) pour les effets jours, traitements et interactions. Par conséquent une correction de Bonferroni (Bonferroni test between contrasts) était utilisée pour comparer le paramètre entre les groupes sur chaque jour.

Pour les données sans cinétique (ACS, charge virale accumulée...), une ANOVA à un paramètre (one-way ANOVA) était utilisée. Quand l'effet « paramètre testé » était significatif

une correction de Bonferonni était appliquée, en considérant l'ensemble des groupes. Parallèlement certaines données de probabilité ont été confirmées en réalisant des analyses deux groupes par deux en utilisant un T-test (Mann-Whitney U test, GraphPad).

III. Résultats

III.1. Evaluation de la réponse en anticorps des vaches vaccinées

III.1.1. Sélection des vaches

Parmi les 60 vaches initialement testées, les 32 vaches ayant des statuts en anticorps ELISA-VRSB nuls ou faibles ont été retenues et classées en deux groupes, chacun contenant 6 animaux séronégatifs (-), 6 vaches présentant une croix de séropositivité et 6 positives (++) (sur une échelle allant jusqu'à +++) avant vaccination. Le statut a été confirmé par séroneutralisation, juste avant la première injection de vaccin pour les vaches concernées, soit à 7 mois de gestation. Les titres sont compris entre 0 et 28 ED₅₀/mL de sérum selon la méthode de Spearman-Kärber.

Les titres en anticorps par ELISA sont restés stables pour les vaches non-vaccinées jusqu'au vêlage (Tableau 5). Pour les vaches vaccinées, un mois après la première vaccination, soit juste avant le rappel, 1 vache initialement séronégative présentait un statut (++) (une vache + et deux vaches ++ avant vaccination) et toutes les autres étaient +++. Au vêlage, soit un mois après le rappel, toutes les vaches étaient (+++) à (++++) sauf une vache (++) qui était (+++) au jour du rappel vaccinal.

Les données de séroneutralisation montrent, elles, une faible augmentation des titres en anticorps neutralisants chez les vaches vaccinées (0 à 66 ED₅₀/mL) après la première injection de vaccin. Ces titres augmentent significativement après la seconde injection de vaccin, avec des valeurs de 7 à 9.2 Log₂ ED₅₀/mL de sérum au vêlage.

Tableau 5 : Effectif des vaches et veaux selon le titre en anticorps VRSB par ELISA
(ELISA bovine RSV, Life Technologies) sur matrice sérum et colostrum

ELISA	animaux	Vaches			Veaux	
	matrice	sérum			colostrum	sérum
	stade	avant vaccination	avant le rappel	au vêlage		1 jour
vacciné	(-)	6	0	0	0	0
	(+)	6	0	0	0	0
	(++)	4	1	1	4	4
	(+++)	0	3	2	2	5
	(++++)	0	12	13	8	5
non vacciné	(-)	6	6	6	11	11
	(+)	6	6	6	5	3
	(++)	4	4	4	0	0
	(+++)	0	0	0	0	0
effectif		32	32	32	32	28

III.1.2. Analyse du colostrum

Les résultats des ELISA sur les colostrums sont montrés en Tableau 5. Ils suggèrent une décroissance des anticorps ELISA dans la mesure où seulement 8 colostrums sur 16 sont +++++. Toutefois le kit utilisé n'était pas validé pour la matrice « colostrum ». Par ailleurs les résultats ne sont que semi quantitatifs par pallier. Cette tendance est aussi observée pour le groupe contrôle avec 12 des 16 colostrums négatifs en anticorps ELISA anti VRSB.

La séroneutralisation montre que tous les colostrums du groupe vacciné possèdent des anticorps neutralisants avec des titres compris entre 6.1 et 11.7 log₂ ED₅₀/mL de colostrum, et une moyenne de 9.4 ± 0.8 log₂ ED₅₀/mL de colostrum (*Figure 5*). La moyenne du titre en anticorps neutralisants des colostrums de vaches non vaccinées est de 1.8 ± 2.4 log₂ ED₅₀/mL de colostrum. Onze colostrums étaient négatifs et 5 positifs avec des valeurs respectives de 3.8, 4.2, 4.7, 7.3 and 8.6 log₂ ED₅₀/mL colostrum.

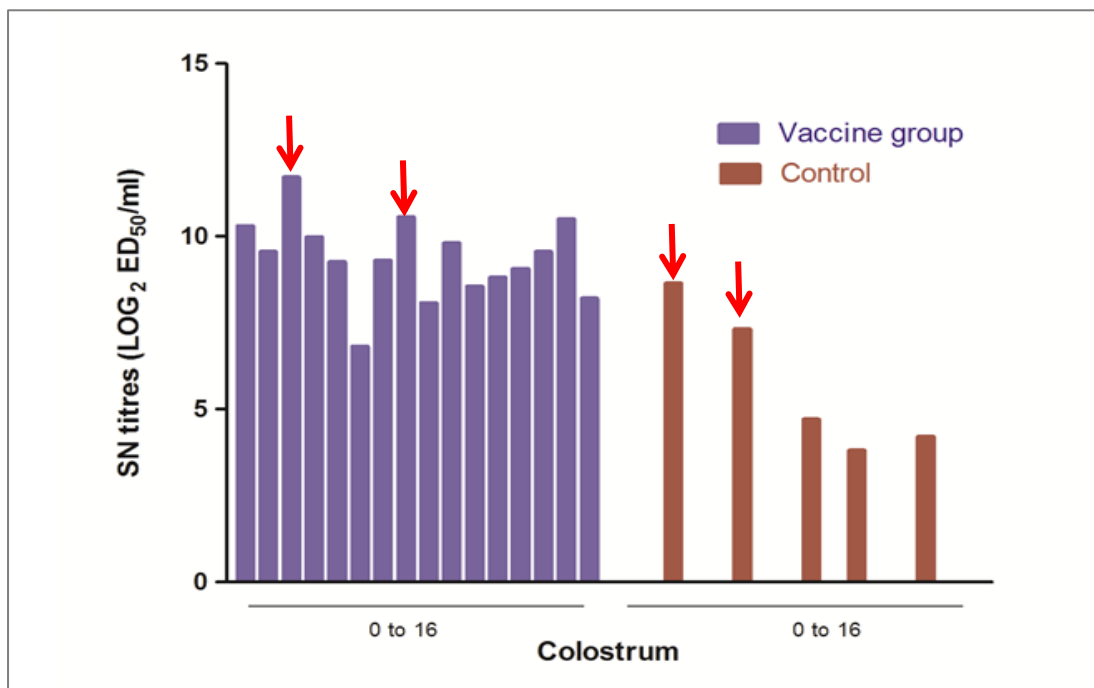


Figure 5 : Titre séroneutralisant des colostrums de chaque groupe après récolte
les flèches rouges indiquent les colostrums n'ayant pas été distribués aux veaux.

Il existe une corrélation positive entre les titres neutralisants et les titre ELISA pour un même colostrum, excepté pour un colostrum négatif par ELISA et positif en séroneutralisation (3.8 log₂ ED₅₀/mL de colostrum). Sur les 32 colostrums récoltés, 28 d'entre eux ont été retenus pour être distribués aux veaux. Les deux colostrums les plus positifs en séroneutralisation de chaque groupe ont été écartés (**Figure 5**).

III.1.3. Titre en anticorps des veaux avant épreuve

Le statut ELISA VRSB, montre chez les veaux du groupe vacciné une séroconversion moyenne (++) à très élevée (++++) (**Tableau 5**). Ces valeurs sont constantes jusqu'à l'épreuve virulente. Pour le groupe non vacciné, les résultats indiquent que 11 veaux restent séronégatifs (-) et 3 sont faiblement positifs (+).

L'activité séroneutralisante des anticorps est comprise entre 7.1 et 9.8 log₂ ED₅₀/mL de sérum pour le groupe vacciné contre 0 à 3.8 log₂ ED₅₀/mL de sérum pour les veaux ayant reçu du colostrum de vaches non vaccinées. Ils sont eux aussi constants entre le premier jour de vie et l'épreuve virulente.

Après épreuve virulente, la Figure 6 souligne que la réponse en anticorps neutralisants des veaux du groupe non vacciné augmente rapidement à partir de J6 pour atteindre un niveau similaire à celle des veaux du groupe vacciné à J15. Cette augmentation s'accompagne d'une

réduction de la variabilité des titres entre veaux. Les veaux du groupe vacciné n'ont pas montré d'augmentation notable de l'activité séroneutralisante au cours de l'expérimentation.

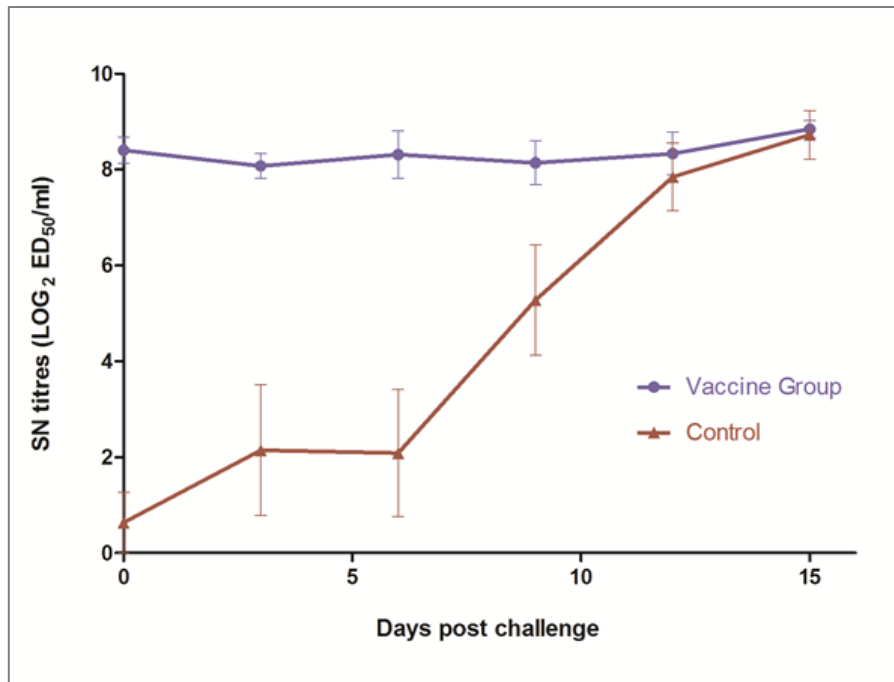


Figure 6 : *Activité séroneutralisante des anticorps des veaux après inoculation d'une souche virulente de VRSB*

III.2. Protection clinique des veaux conférée par le colostrum

Après épreuve virulente, tous les veaux du groupe non-vacciné ont montré des signes cliniques d'infection de l'arbre respiratoire (**Tableau 6**) :

- nuls à minimes pour 2 veaux (14%) n'ayant manifesté qu'une hyperthermie légère associée à un jetage muqueux et une toux peu fréquente
- légers à modérés pour 5 veaux (36%), caractérisés par un hyperthermie modérée, un jetage nasal muqueux, de la toux, une élévation de la fréquence respiratoire entre 35 et 65 mouvements par minute, une dyspnée légère associée à des bruits respiratoires renforcés sans répercussion sur l'appétit ou l'état général.
- modérés à sévères pour 7 veaux (50%) se traduisant, entre autre, par une fréquence respiratoire supérieure à 65 mouvements par minute, une dyspnée sévère accompagnée de bruits respiratoires surajoutés (sifflements et crépitements) ainsi qu'une perte d'appétit et un abattement pour les plus atteints.

Au sein du groupe vacciné, 5 veaux n'ont pas présenté de signes cliniques, 8 avaient une clinique légère à modérée et un seul manifestait une forme plus sévère de l'atteinte de l'arbre respiratoire.

Aucun animal des deux groupes n'a présenté de syndrome de détresse respiratoire.

Tableau 6 : Sévérité des signes cliniques par groupe des veaux

Groupe	Signes cliniques			Total
	nuls à minimales	légers à modérés	modérés à sévères	
non vacciné	2	5	7	14
vacciné	5	8	1	14
Total	7	13	8	28

Le délai d'apparition des premiers signes cliniques, le pic et la durée des signes cliniques ont été évalués pour chaque groupe (**Tableau 7**). La période d'incubation et le pic des signes cliniques sont similaires entre les deux groupes. Bien que la durée de la clinique soit légèrement inférieure chez les animaux du groupe vacciné, la différence n'est pas significative (test non-paramétrique de Mann-Whitney U-test).

Tableau 7 : Délai d'apparition en jours depuis l'infection des signes cliniques, du pic et de leur durée.

Ont été pris en compte les scores cliniques supérieurs à 2, sur base des observations cliniques avant infection.

Groupe	Manifestation clinique (n=14)	Pic (n=9)	Durée (n=9)
Vacciné	3.4 ± 1.6	9.2 ± 2.2	7.8 ± 4.7
Non vacciné	3.8 ± 1.4	8.8 ± 1.7	10 ± 3

Les scores cliniques moyens et accumulés (ACS) pour chaque groupe sont présentés en Figure 7 a et b. Des différences significatives ($p < 0.05$ ou $p < 0.001$) ont été observées pour les deux groupes entre J7 à J11 pour les scores cliniques moyens, ainsi que sur l'ensemble de la période d'étude pour le score accumulé.

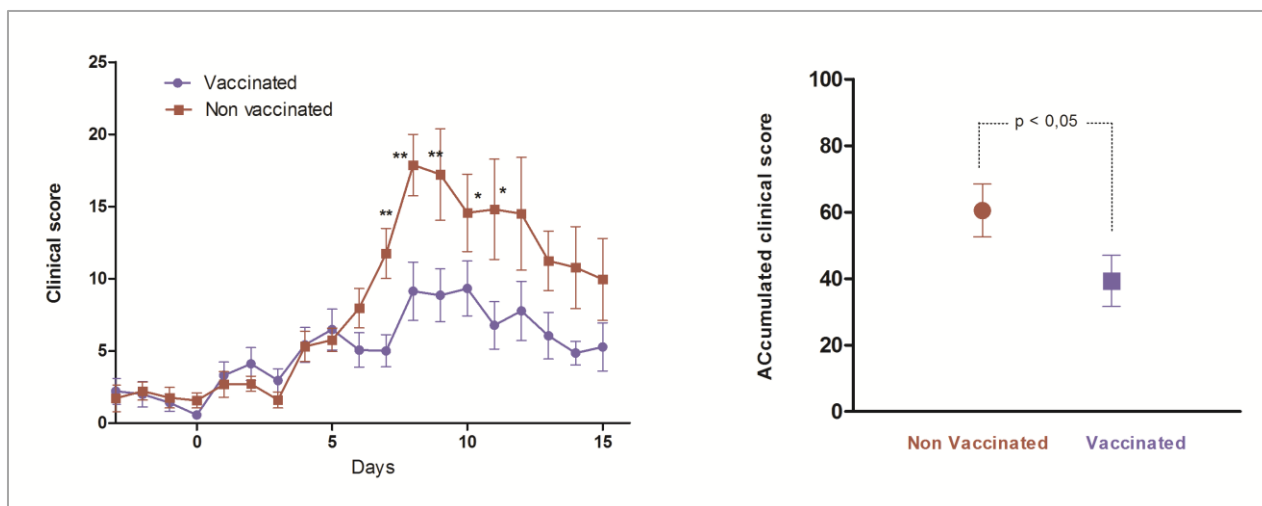


Figure 7 : Score clinique moyen (a) et accumulé (b) des veaux recevant du colostrum de vaches vaccinées ou non.

* = $p < 0.05$; ** = $p < 0.001$

En parallèle nous avons essayé d'exprimer des scores cliniques cumulés (CCS) sur toute la période observée qui reflèteraient ce qui est observé sur le terrain, en déterminant arbitrairement des classes d'expression clinique. Ainsi l'intervalle 0-10 correspondrait à des signes cliniques minimes indétectables sur le terrain, les intervalles 10-30, 30-70 et 70-100 traduiraient respectivement des signes minimes détectables sur le terrain par un observateur expérimenté, des formes modérée et sévère décrites précédemment. Enfin un CCS >100 ferait état d'un syndrome de détresse respiratoire aigu. Les résultats, reportés dans le Tableau 8 suggèrent que la vaccination des mères empêche l'apparition des formes cliniques sévères chez le veau.

Tableau 8 : Répartition des scores cliniques cumulés des 9 veaux par groupe présents sur toute la durée d'étude.

Score clinique cumulé	Groupe vacciné	Groupe non vacciné
0-10	1	0
10-30	3	1
30-70	5	3
70-100	0	5
> 100	0	0
Total	9	9

III.3. Protection des veaux contre les lésions respiratoires

III.3.1. Lésions macroscopiques

Aucune lésion macroscopique ou histologique n'a été constatée sur les lobes caudaux des veaux autopsiés à J7 et à J16. Ces lobes pulmonaires n'ont donc pas été considérés dans la suite des analyses.

À l'examen macroscopique, les lésions observées étaient typiques d'une bronchopneumonie interstitielle, avec une augmentation modérée de la densification des lobes crâniaux et accessoires, une couleur rouge prune des lobes atteints et, à la coupe, une augmentation modérée de la lobulation avec un œdème interstitiel, un aspect luisant de la coupe et du mucopus à la pression des bronches. Ces lésions étaient d'extension limitée à diffuse et de caractère aigu. Aucune lésion évocatrice d'une infection bactérienne n'était observable. L'étendue de la densification et de la coloration rouge prune des lobes atteints a été notée pour chaque veau. La consolidation variait entre 5% et 70% selon les veaux et selon le jour de l'euthanasie (**Figure 8** et **Image 1**: *Vue d'ensemble d'un bloc pulmonaire à J16 d'un veau du groupe « non vacciné »(a) et détail de l'atteinte lobulaire d'un lobe apical droit à J16 d'un veau du groupe « vacciné »(b).***Image 1**). À J7, 3 des 5 veaux de chaque groupe présentaient des lésions macroscopiques. À J16, respectivement 3 et 6 des 9 veaux des groupes vacciné et témoin avaient des lésions de type pneumonie interstitielle. Les pourcentages moyens d'extension à J7 étaient de 19% et 16% pour les groupes contrôle et vacciné alors qu'ils étaient de 19% et 34% à J16 (**Figure 8**: *Pourcentage de consolidation des lobes crâniaux et accessoires des groupes vaccinés et non vaccinés à J7 et J16 (a) et effectif de veaux présentant des lésions macroscopiques (b).*).

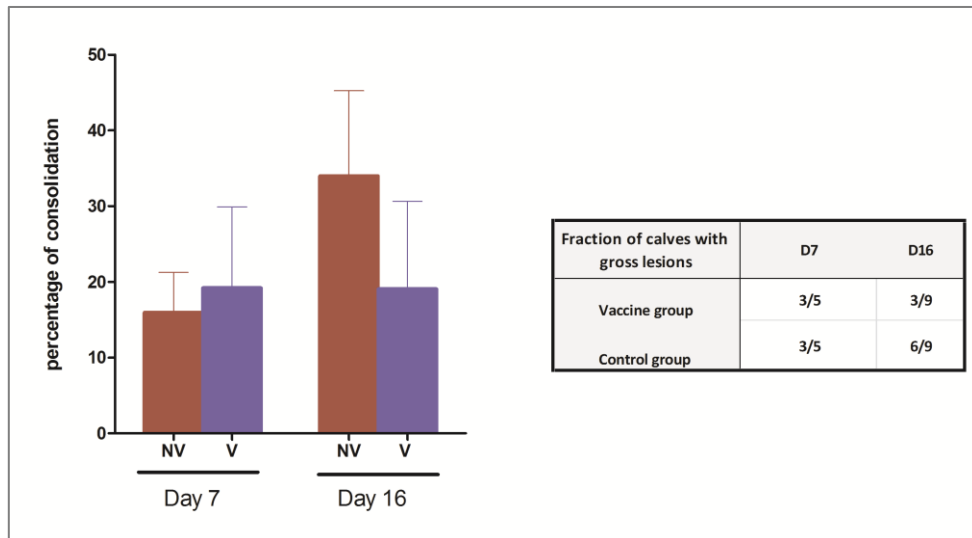


Figure 8 : Pourcentage de consolidation des lobes crâniens et accessoires des groupes vaccinés et non vaccinés à J7 et J16 (a) et effectif de veaux présentant des lésions macroscopiques (b).

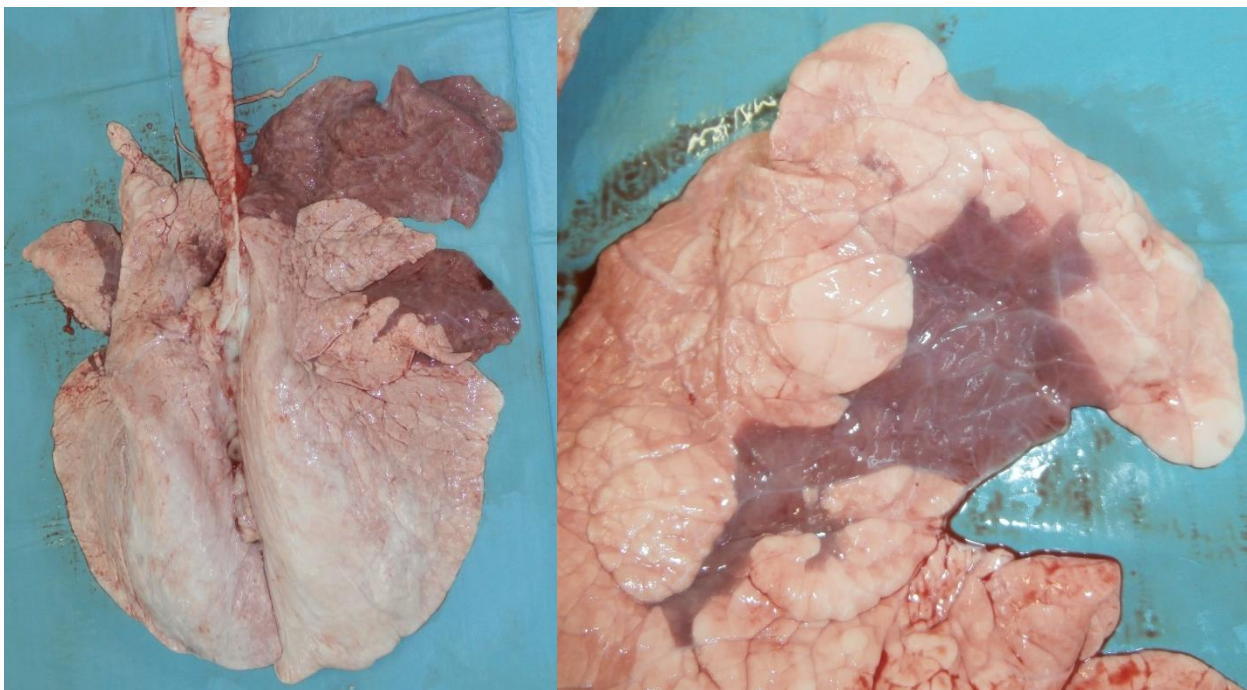


Image 1 : Vue d'ensemble d'un bloc pulmonaire à J16 d'un veau du groupe « non vacciné »(a) et détail de l'atteinte lobulaire d'un lobe apical droit à J16 d'un veau du groupe « vacciné »(b).

Sur la photographie de gauche, on note une atteinte sévère du lobe crânien droit, modérée du lobe intermédiaire et légère du lobe crânien gauche. À droite, on remarque une atteinte légère du lobe crânien droit et une délimitation nette des lobules atteints

III.3.2. Lésions tissulaires

À l'examen histopathologique, la plupart des veaux de chaque groupe (4/5) présentaient des lésions de pneumonie interstitielle à J7 dans un ou plusieurs lobes pulmonaires (crâniens et accessoire). Les principales lésions observées étaient des lésions de bronchopneumonie interstitielle aiguë caractérisées par une bronchiolite nécrosante, la présence de syncytia au sein de l'épithélium bronchiolaire, une alvéolite proliférative avec infiltration du septum inter-alvéolaire principalement par des lymphocytes, macrophages et neutrophiles. À J16, des lésions histopathologiques étaient présentes chez 8 des 9 veaux du groupe non vacciné et seulement 4 des 9 veaux du groupe vacciné. Les lésions étaient les mêmes que celles observées à J7 pour la plupart des veaux. Cependant 4 veaux présentaient des lésions de bronchopneumonie interstitielle mais de caractère subaigu avec une hyperplasie de l'épithélium bronchique, une prolifération des pneumocytes de type II, une infiltration lymphoplasmocytaire des alvéoles et bronches ainsi qu'une alvéolite macrophagique.

Concernant les moyennes des scores histopathologiques (le score individuel étant somme des notes attribuées pour les lobes crâniens droit et gauche et le lobe accessoire pour chaque veau), on n'observait pas de différence significative à J7 entre les deux groupes (*Figure 9*). À J16 les différences étaient plus importantes entre groupes vacciné (score moyen de 2,5) et contrôle (score moyen de 6,7) mais la différence n'était statistiquement pas significative.

En Figure 9 b sont représentés les pourcentages de consolidation pulmonaire (macroscopique) par rapport au nombre moyen de lobes présentant des lésions microscopiques. Les rapports ne diffèrent pas à J7 alors qu'à J16, il est bien plus élevé pour le groupe contrôle. De même, compte tenu du nombre d'animaux testés et de la grande variabilité individuelle, les différences ne sont pas significatives.

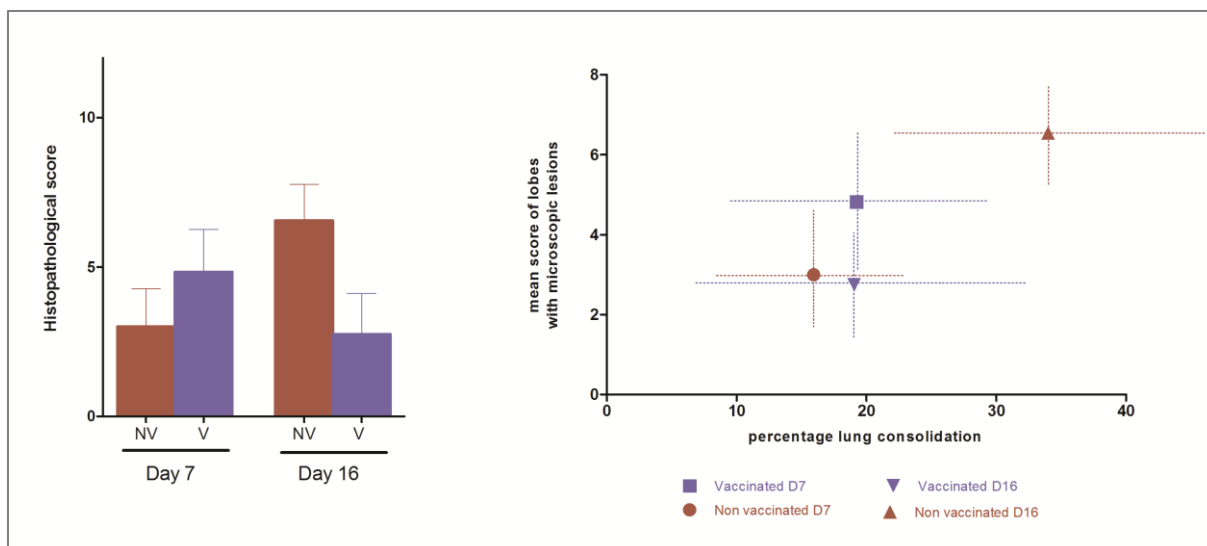


Figure 9 : Moyenne des scores histopathologiques par groupe et par session d'euthanasie (a) et corrélation entre le pourcentage de consolidation des lobes crâniens (b)

III.4. Protection virologique

III.4.1. Réplication virale dans les sécrétions nasales

La mise en évidence d'ARN du VRSB par RT-qPCR dans les sécrétions nasales (**Figure 10**) montre un pic d'excrétion virale à J6 à 3.2 ± 0.5 et 3.3 ± 0.4 \log_{10} copies d'ARN/mL de sécrétion nasale pour le groupe vacciné et contrôle respectivement. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence tant pour le titre viral moyen que pour les titres viraux accumulés. La durée d'excrétion est de 7.9 ± 2.1 jours et 9 ± 2 jours pour les groupes vaccinés et contrôle respectivement, elle peut être mise en lien avec la durée d'expression clinique évaluée à 7.8 ± 4.7 et 10 ± 3 jours respectivement.

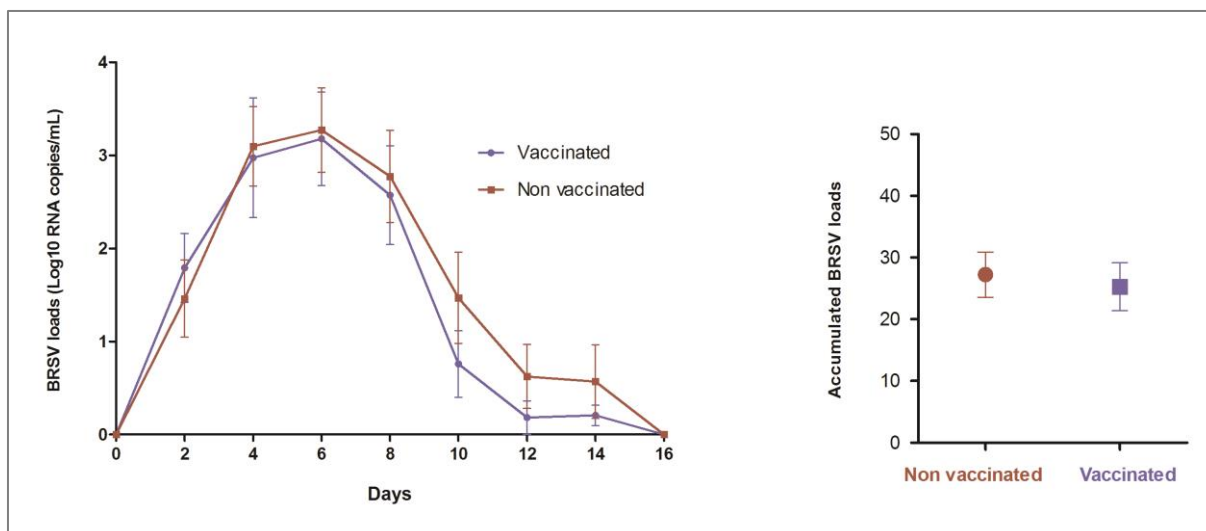


Figure 10 : Charges virales moyennes en ARN de VRSB obtenues par RT-qPCR sur écouvillon nasal profond et mesurées tous les deux jours (n=9) (a) et charge virale accumulée (n=9) (b)

III.4.2. Réplication virale dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire

De l'ARN viral spécifique été recherché chez 4 veaux par groupe au cours des lavages broncho alvéolaires à J0, J3, J6, J10 et J16 (**Figure 4**).

Le VRSB a été détecté en plus grande quantité chez les veaux du groupe non vacciné à J6, J10 et J16, mais de manière significative uniquement à J6 (**Figure 11**).

Pour le groupe contrôle, on note une augmentation des charges virales jusqu'à J6 avec un pic moyen important de 4,3 log₁₀ RNA copies/mL de LBA. À l'inverse pour le groupe vacciné, les charges sont similaires, et même légèrement supérieures au groupe contrôle à J3 mais ensuite elles diminuent progressivement jusqu'à J16.

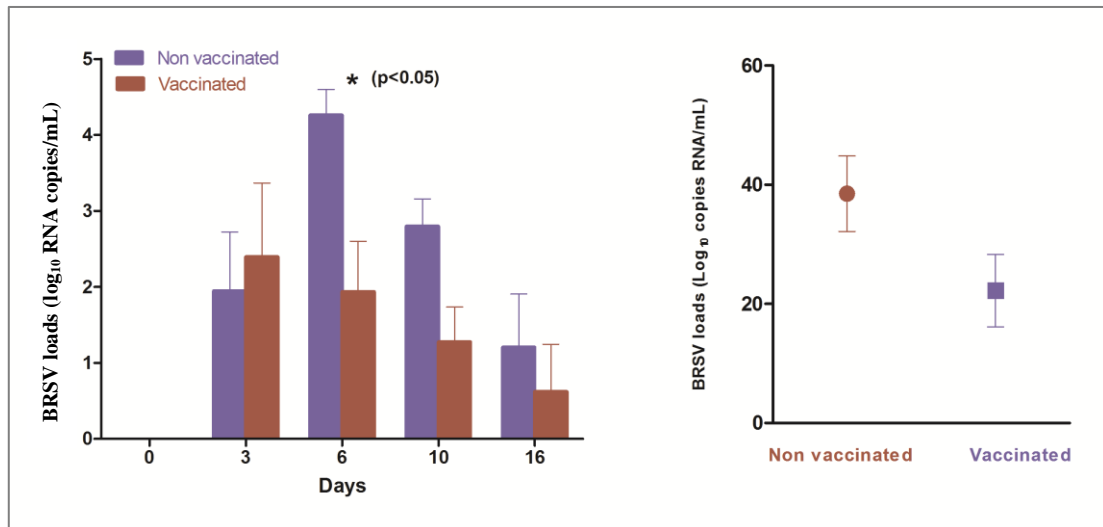


Figure 11 : Charge virale moyenne en ARN de VRSB obtenues par RT-qPCR sur le LLBA (n=4)(a) et charge virale accumulée (n=4) (b).

III.4.3. Réplication virale dans le parenchyme pulmonaire

La réplication du VRSB, évaluée par RT-qPCR sur les échantillons prélevés lors de l'autopsie, montre que tous les veaux sont au moins positifs pour l'un des tissus, ce qui est en accord avec les résultats des lavages broncho alvéolaires pratiqués à l'autopsie. La charge virale était comprise, pour les 10 veaux autopsiés à J7 entre 3.7 et 5.5 log₁₀ copies d'ARN/100mg de tissu. Elle est divisée par un facteur d'environ 100 à J16 (1.1 à 3.6 log₁₀ copies d'ARN/100mg de tissu) pour les 18 veaux restants (**Figure 12**). Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes pour les deux dates considérées.

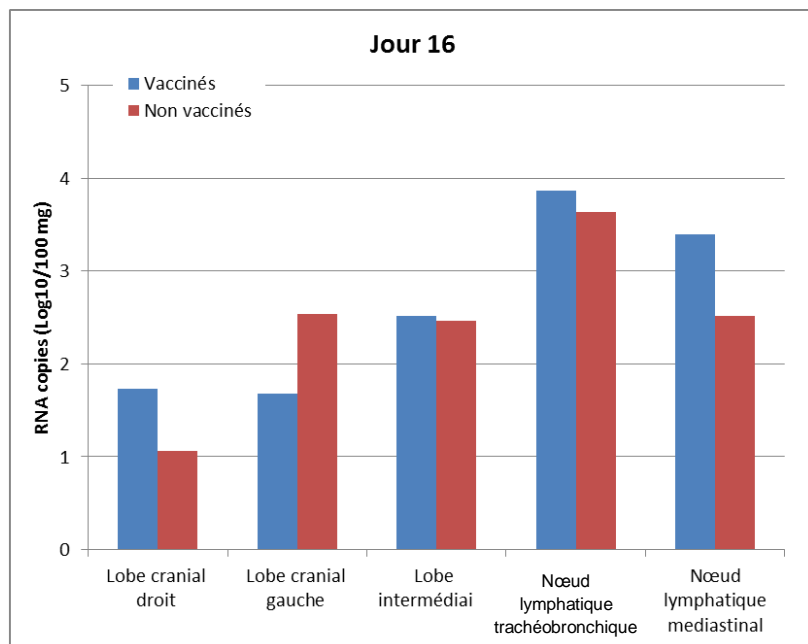
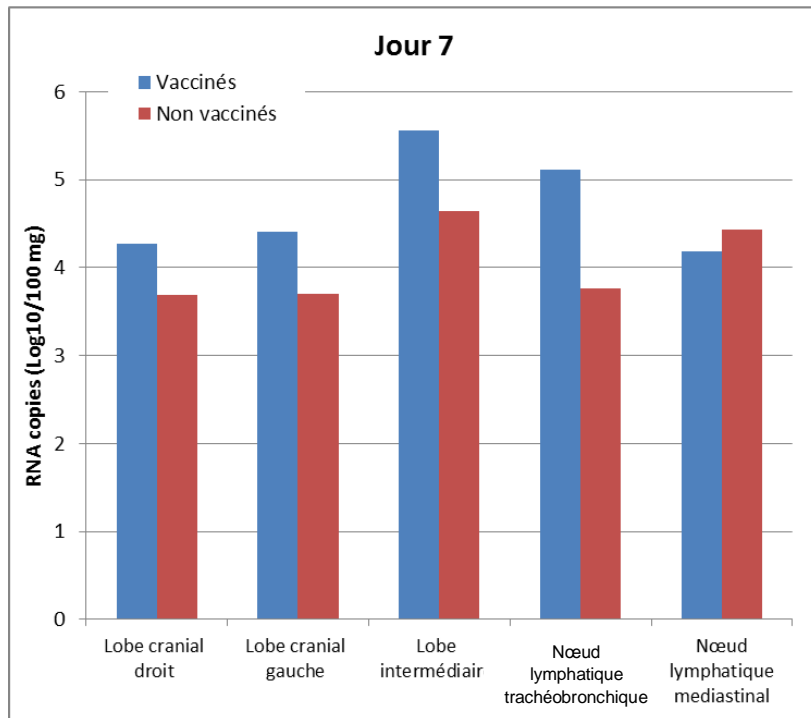


Figure 12 : Charges virales moyennes en nombre de copies (log₁₀/100 mg de tissu) dans les différents prélèvements tissulaires à J7(a) et J16 (b) post-infection.

IV. Discussion

L'objectif de ce travail était d'évaluer la protection de jeunes veaux contre une infection par le VRSB via la vaccination des mères en fin de gestation et le transfert de l'immunité maternelle. Les principaux résultats obtenus ont montré que la vaccination au Bovilis Bovigrip® de vaches, séronégatives ou faiblement séropositives, en fin de gestation induit une forte réponse humorale spécifique dès la première injection pour les anticorps ELISA et après la seconde injection pour les anticorps neutralisant le VRSB. À condition d'assurer une prise colostrale correcte, la vaccination confère aux veaux une protection significative contre les formes cliniques, et notamment les formes sévères, après épreuve virulente à 3 semaines d'âge. Par contre, la présence des anticorps colostraux anti-VRSB n'empêche pas la multiplication du virus d'épreuve dans les cavités nasales et donc les contaminations entre individus infectés et sains.

Dans le modèle étudié, l'infection expérimentale avec la souche VRSB 3761 a permis d'induire des troubles respiratoires notamment chez les veaux du groupe témoin, permettant de mettre en évidence une protection clinique significative. Les formes cliniques observées au sein du groupe contrôle étaient représentatives de celles observées sur le terrain pour la grande majorité des veaux. En ce sens, le modèle d'infection utilisé est validé. Toutefois, notre technique d'infection n'a pas permis de produire de syndrome de détresse respiratoire, alors que cette forme clinique est observée sur le terrain. Plusieurs raisons peuvent expliquer ce phénomène :

- la première étant liée à la souche et ses conditions de conservation,
- la seconde à la technique d'inoculation,
- la dernière à l'hôte.

La charge virale inoculée était de 2.10^5 TCID₅₀, elle est conforme à celle des inocula rapportée dans la littérature (Belknap, Ciszewski, Baker, 1995; Gershwin, 2008; Hägglund *et al.*, 2004, 2011). La souche utilisée, issue de prélèvements de terrain, a été passée en cultures cellulaires, ce qui a pu l'atténuer. Même si elle a subi avant inoculation deux passages sur veaux agammaglobulinémiques, il est possible qu'elle n'ait pas retrouvé la virulence qu'elle possédait initialement. Ceci est très fréquent dans les expérimentations utilisant le VRSB. La technique d'inoculation virale choisie est une inoculation mixte intranasale et intratrachéale.

Elle semble donner des résultats légèrement inférieurs aux inoculations générées par aérosols à l'aide d'un nébuliseur soit au travers d'un masque, soit dans une enceinte confinée. Ceci se vérifie d'autant plus si cette opération est répétée sur plusieurs jours (Gershwin, 2008). Cependant, les essais utilisant la technique d'aérosolisation testent fréquemment un nombre d'animaux inférieur à celui utilisé dans notre étude (Theurer, Larson, White 2015), probablement pour des raisons liées à la durée de l'inoculation et au nombre de nébuliseurs disponibles. Enfin, l'hôte pourrait aussi jouer un rôle. Dans notre étude nous avons utilisé les veaux d'un même élevage expérimental de l'INRA et possédant un fond génétique commun, ce qui n'est pas forcément le cas sur le terrain. Des différences de sensibilité entre races, voire individus sont fréquemment suggérés pour le VRSB (Glass *et al.*, 2012; O'Neill *et al.*, 2006), bien qu'il n'existe pas de données publiées, comme pour le cas du VRSH (Rämet, Korppi, Hallman, 2011).

La démonstration de la protection clinique dépend aussi de la méthode pour noter les signes cliniques, qui n'est pas standardisée entre les différentes équipes de recherche. Certaines méthodes n'accordent d'importance à l'ensemble des signes que lorsqu'une température seuil est atteinte (Antonis *et al.*, 2003). D'autres mettent au même niveau tous les signes avec 1 point par élévation de température de 1°C et un point pour tout autre évènement clinique (tachypnée, toux, dyspnée, jetage,...) (Mawhinney, Burrows, 2005). Les méthodes les plus répandues dans la littérature sont similaires à celle utilisée ici, elles prennent en compte la température, selon 3 ou 4 grades au-dessus de 39-39.5°C, la fréquence respiratoire en 4 ou 5 classes au-dessus de 30 ou 40 mouvements par minute, le comportement, et éventuellement le refus alimentaire, la dyspnée et la toux (West *et al.*, 1999; Ellis, Gow, Goji, 2010; Vignes, 2002). L'application de coefficients à ces notes est en revanche une méthode moins répandue. Nous l'avons utilisé pour privilégier les signes cliniques que nous observons le plus fréquemment lors d'infections naturelles à VRSB. Certains de ces signes sont objectifs et observables sans biais (température, refus alimentaire, comportement), d'autres dépendent fortement du temps d'observation accordé (la toux, la fréquence respiratoire) ou du moment d'observation. Le jetage apparaît comme le signe dont l'observation est la plus variable. Des veaux présentant du jetage, sans atteinte de l'état général, nettoient fréquemment leur mufle, masquant ainsi l'information, la période la plus propice à l'observation du jetage est donc tôt le matin. En bilan, les signes d'auscultation pulmonaire et la fréquence respiratoire sont ainsi représentés à hauteur de 50% de la note finale. En utilisant les données des examens cliniques

sans appliquer de coefficients entre les signes observés, les mêmes différences statistiques ont été établies (données non présentées).

Dans notre étude, l'épreuve virulente est effectuée à 3 semaines d'âge. Elle se justifie par la demi-vie des IgG colostrales de 21 jours (Hurley, Theil, 2011; Murphy *et al.*, 2014). On considère ainsi qu'après 21 jours on a une décroissance progressive des anticorps colostraux dans le sang et donc une baisse de l'effet protecteur. L'objectif étant ici de protéger les veaux lors des premiers jours de vie, la date d'inoculation répondait à cette question. Trois semaines serait aussi l'âge charnière entre l'immunité passive et l'immunité vaccinale, en considérant une baisse progressive de l'interférence entre les anticorps colostraux et l'immunité vaccinale des jeunes. Toutefois, en l'absence de démonstration expérimentale, il est actuellement impossible de savoir si la vaccination des mères réduit, via le transfert colostrale, la capacité de réponse immunitaire des veaux à la vaccination contre le VRSB. D'autre part, si on considère que les anticorps d'origine maternelle offrent une protection partielle, il convient donc de favoriser l'immunité cellulaire le plus rapidement possible. Le Bovilis Bovigrip®, utilisé à 2 semaines d'âge, permet d'après son AMM la mise en place d'une immunité cellulaire protectrice. Toutefois cela a été réalisé chez des veaux dépourvus d'anticorps colostraux.

En inoculant à 3 semaines d'âge, nous avons montré que les anticorps colostraux protégeaient significativement contre les formes cliniques. On pourrait ainsi imaginer une protection meilleure à 15 jours d'âge, le taux d'anticorps colostraux étant théoriquement plus important. Toutefois, dans notre étude, il n'a pas été noté de modification dans les titres en anticorps neutralisants entre la prise colostrale et le jour de l'inoculation.

Si on regarde le groupe vacciné, on s'aperçoit que les veaux ont manifestés des formes cliniques minimales à modérées et donc que la protection n'est que partielle. Toutefois sur le terrain, cela apporte un avantage indéniable en termes de morbidité (voire mortalité), de traitements et probablement de pertes économiques. Les explications d'une protection partielle sont d'abord la variabilité individuelle de réponse de l'infection à VRSB. Cette variabilité est fréquemment observée sur le terrain, et se retrouve donc dans nos expériences. Elle explique notre choix d'utiliser 14 veaux alors que la plupart des études réalisées portent sur 5 à 8 veaux par groupe. La protection partielle pourrait aussi être liée à la quantité d'anticorps colostraux présents chez les veaux lors de l'inoculation. Pour cela il faudra vérifier individuellement si les veaux les mieux protégés étaient ceux qui avaient des titres en

anticorps neutralisants les plus importants. On note toutefois une faible dispersion des valeurs des anticorps neutralisants dès le premier jour de vie quand on regarde les valeurs moyennes par groupe. Enfin, la réponse cellulaire de l'hôte n'a pas encore été évaluée, elle peut être une piste d'explication supplémentaire. Il est prévu de réaliser sur les LBA une étude de la réponse transcriptomique d'une cinquantaine de gènes bovins impliqués dans la réponse inflammatoire et la réponse cellulaire adaptative, par RT-qPCR.

Si la protection clinique n'est que partielle, il n'a pas été observé de formes graves chez les veaux ayant ingéré le colostrum des vaches vaccinées. Les formes sévères résultent d'une atteinte des bronchioles et des alvéoles pulmonaires (appareil respiratoire profond). Les anticorps colostraux sont des IgG sériques qui se retrouvent dans l'appareil respiratoire profond, les principales immunoglobulines retrouvées dans les cavités nasales étant des IgA. Cela expliquerait qu'elles puissent en partie neutraliser le virus, comme cela est montré par les RT-qPCR des LBA (baisse des titres dès J3 chez les veaux du groupe vacciné), et ainsi limiter la maladie.

À l'inverse des LBA, il n'a pas été observé de différences entre les titres viraux dans les cavités nasales. Cela s'explique par l'absence d'IgG colostrales dans l'appareil respiratoire supérieur, comme cela avait été montré par Kimman (Kimman *et al.*, 1988). D'un point de vue épidémiologique, le but de la vaccination est de protéger les individus sensibles et de diminuer la pression virale en limitant le nombre d'individus excréteurs. La protection des animaux sensibles a été montrée, en revanche, nous n'avons pas mis en évidence de réduction d'excrétion virale alors que le veau est une source importante de dissémination. Même si la protection épidémiologique ou virologique n'est pas forcément recherchée pour le VRSB, la possibilité qu'ont les veaux atteints de contaminer des veaux sains est un risque supplémentaire, notamment si les veaux naïfs possèdent eux-mêmes peu d'anticorps colostraux. Il est à noter que, même s'il est admis que la transmission virale s'effectue par aérosol, la cinétique de dissémination virale inter- et intra-troupeau ainsi que les mécanismes de persistance du virus d'une saison à l'autre ne sont toujours pas connus. Quand on se place à l'unité épidémiologique troupeau, il a été montré sur le terrain que vacciner les vaches avec Bovilis Bovigrip® diminue la prévalence des affections respiratoires chez les veaux au cours de l'année suivante (Assié, communication Journées Nationales des GTV, Nantes 2014). Une des hypothèses était la protection clinique et virologique des veaux par les anticorps VRSB. Notre étude montre bien que la vaccination peut réduire la prévalence de la maladie, mais que

la prévalence des infections n'est pas réduite. Toutefois la vaccination des mères stimule en premier leurs réponses immunitaires humorale et cellulaire. Même si les mères présentent peu de signes cliniques, on ne connaît pas leur capacité à être infectées et à maintenir une circulation à bas bruit du virus. La vaccination des mères pourrait alors permettre de réduire cette circulation avec un effet indirect sur les troubles respiratoires des veaux. Dans cette optique, le relais vaccinal des jeunes après quelques semaines, par la mise en place d'une immunité humorale et cellulaire, pourrait aussi permettre une réduction de la circulation virale au sein du troupeau.

En termes de stratégie vaccinale, la persistance des titres en anticorps colostraux, par ELISA, chez des veaux ayant reçu du colostrum de vaches immunisées avec le même vaccin a été évaluée à environ 10 semaines (Dudek *et al.*, 2014). De plus il a été démontré que des veaux présentant des titres en anticorps ELISA d'origine maternelle spécifiques VRSB moyens à élevés, et vaccinés avec Bovilis Bovigrip® à 1 semaine d'âge, étaient protégés vis-à-vis d'une épreuve virulente 3 semaines plus tard (Mawhinney, Burrows, 2005). Ces résultats ont été confirmés par Van der Sluijs chez des veaux vaccinés à 2 semaines d'âge (van der Sluijs, Kuhn, Makoschey, 2010), dont les titres en anticorps colostraux (séroneutralisation et ELISA) étaient proches à la fois de ceux observés dans notre étude et de ceux de Mawhinney.

Ces résultats soulèvent la question d'établir un protocole vaccinal incluant la vaccination des vaches en fin de gestation, puis de prendre le relais par voie parentérale sur les veaux avec un protocole classique. Les veaux sont en partie protégés par les anticorps colostraux le temps que le protocole soit achevé. D'un autre côté, si les veaux présentent des titres en anticorps colostraux élevés au moment de leur vaccination, ceux-ci pourraient être préjudiciables à la mise en place d'une immunité humorale. Il serait alors nécessaire de retarder la mise en place du protocole chez les veaux. Par ailleurs introduire la vaccination des vaches en fin de gestation pourrait perturber les schémas de vaccination déjà bien établis pour lutter contre les entérites néonatales. Sur le terrain, depuis une trentaine d'années, des vaccins dirigés contre une partie des agents responsables des entérites néonatales (rotavirus, coronavirus, *Escherichia coli* K99, CS31A,...) sont largement utilisés, avec succès, en élevage. Étant donné la précocité des affections diarrhéiques, il n'est pas possible d'immuniser convenablement et économiquement les veaux par une autre méthode que la vaccination des mères. D'autant plus que les anticorps dirigés contre ces agents pathogènes

agissent à la fois par voie systémique après absorption pendant la phase colostrale et par voie locale par leur présence pendant les quelques jours de transition entre colostrum et lait. Il paraît indispensable de s'assurer qu'il n'y pas d'antagonisme à mettre en place pendant le tarissement, à la fois une vaccination dirigée contre certains agents responsables d'entérites néonatales et une vaccination dirigée contre une partie des agents d'affections respiratoires. Aucun vaccin ne combine à ce jour de valences dirigées contre les agents étiologiques de ces affections.

CONCLUSION

En élevage, protéger les animaux du VRSB s'appuie à la fois sur les pratiques et conditions d'élevages (bâtiments et ventilation, conduite en lots homogènes, alimentation,...) pour réduire la pression infectieuse mais aussi sur les protocoles de vaccination. Les stratégies de vaccination contre le VRS en élevage bovin relèvent à la fois de l'efficacité intrinsèque des vaccins ainsi que du choix des protocoles pour assurer une couverture précoce ou la renforcer pendant les phases les plus à risque. À l'heure actuelle, étant donné les particularités du VRSB, aucun vaccin n'est apte à offrir une protection complète pendant une durée relativement longue.

La plupart du temps, l'objectif reste donc une protection la plus précoce possible, et, compte tenu de la problématique de la vaccination des jeunes, un rappel si les animaux se trouvent toujours pendant la période à risque automno-hivernale.

Dans ce cadre, la vaccination des vaches pendant la fin de gestation pourrait permettre de réduire la circulation à bas bruit dans le troupeau tout en protégeant cliniquement les veaux dans les premières semaines de vie. On ne peut la considérer comme la solution à la prévention des infections à VRSB, mais elle représente plutôt un arsenal de lutte supplémentaire à considérer avec les protocoles de vaccination conventionnels.

La priorité de la plupart des unités de recherche reste toujours à l'heure actuelle, tant en médecine humaine que vétérinaire, la mise au point d'un vaccin permettant le développement d'une immunité précoce, forte et durable chez des sujets jeunes. Cependant, plusieurs axes de recherches complémentaires sont envisageables pour prolonger la présente étude.

L'étude de la réponse inflammatoire de l'hôte est une voie d'approfondissement pour évaluer l'effet des anticorps colostraux sur la réponse cellulaire de l'hôte. D'autre part, il conviendrait d'étudier les interactions entre le Bovilis Bovigrip® et les vaccins dirigés contre les agents d'entérites néonatales, voire le développement d'un vaccin combinant les différentes valences. Il semble de plus nécessaire d'objectiver si à la campagne suivante, la réponse des vaches est suffisante avec une seule injection de rappel ou si la reprise d'un protocole complet est nécessaire. Enfin, dans un contexte de réduction de l'usage des antibiotiques en santé animale, d'un agrandissement des structures d'élevages, combiné à la baisse de main d'œuvre, et de gestion des affections d'un point de vue collectif, une

évaluation du bénéfice économique apporté par cette stratégie vaccinale est nécessaire. Elle permettrait de proposer, en clientèle, en fonction de la prévalence du VRSB (et des troubles respiratoires d'une manière plus générale) et du système naisseur, un plan de vaccination économiquement viable et adapté au contexte de l'élevage considéré.

BIBLIOGRAPHIE

ANDERSON, K., KING, A. M., LERCH, R. A. et WERTZ, G. W., 1992. Polylactosaminoglycan modification of the respiratory syncytial virus small hydrophobic (SH) protein: a conserved feature among human and bovine respiratory syncytial viruses. *Virology*. novembre 1992. Vol. 191, n° 1, pp. 417-430.

ANGEN, Øystein, THOMSEN, John, LARSEN, Lars Erik, LARSEN, Jesper, KOKOTOVIC, Branko, HEEGAARD, Peter M.H. et ENEMARK, Jörg M.D., 2009. Respiratory disease in calves: Microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. *Veterinary Microbiology*. mai 2009. Vol. 137, n° 1-2, pp. 165-171.

ANTONIS, A, CLAASSEN, E, HENSEN, E, GROOT, R, GROOTMIJNES, J, SCHRIJVER, R et VANDERMOST, R, 2006. Kinetics of antiviral CD8 T cell responses during primary and post-vaccination secondary bovine respiratory syncytial virus infection. *Vaccine*. 6 mars 2006. Vol. 24, n° 10, pp. 1551-1561.

ANTONIS, Adriaan F. G., SCHRIJVER, Remco S., DAUS, Franz, STEVERINK, Paul J. G. M., STOCKHOFE, Norbert, HENSEN, Evert J., LANGEDIJK, Johannes P. M. et VAN DER MOST, Robbert G., 2003. Vaccine-Induced Immunopathology during Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection: Exploring the Parameters of Pathogenesis. *Journal of Virology*. novembre 2003. Vol. 77, n° 22, pp. 12067-12073.

ANTONIS, A. F. G., 2010. *Bovine respiratory syncytial virus : immunopathology and vaccine evaluation*. The Netherlands : Utrecht University.

ATREYA, Prabha L., PEEPLES, Mark E. et COLLINS, Peter L., 1998. The NS1 Protein of Human Respiratory Syncytial Virus Is a Potent Inhibitor of Minigenome Transcription and RNA Replication. *Journal of Virology*. février 1998. Vol. 72, n° 2, pp. 1452-1461.

BEGOÑA RUIZ-ARGÜELLO, M., GONZÁLEZ-REYES, Luis, CALDER, Leslie J., PALOMO, Concepción, MARTÍN, Diana, SAÍZ, María J., GARCÍA-BARRENO, Blanca, SKEHEL, John J. et MELERO, José A., 2002. Effect of Proteolytic Processing at Two Distinct Sites on Shape and Aggregation of an Anchorless Fusion Protein of Human Respiratory Syncytial Virus and Fate of the Intervening Segment. *Virology*. juillet 2002. Vol. 298, n° 2, pp. 317-326.

BÉLANGER, François, BERTHIAUME, Laurent, ALAIN, Robert, LUSSIER, Gilles et TRUDEL, Michel, 1988. Electron Microscopic Evidence for Bridges between Bovine Respiratory Syncytial Virus Particles. *Journal of General Virology*. 1 juin 1988. Vol. 69, n° 6, pp. 1421-1424.

BELKNAP, E. B., BAKER, J. C., PATTERSON, J. S., WALKER, R. D., HAINES, D. M. et CLARK, E. G., 1991. The role of passive immunity in bovine respiratory syncytial virus-infected calves. *The Journal of Infectious Diseases*. mars 1991. Vol. 163, n° 3, pp. 470-476.

BELKNAP, Ellen B., CISZEWSKI, Daniel K. et BAKER, John C., 1995. Experimental Respiratory Syncytial Virus Infection in Calves and Lambs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1 avril 1995. Vol. 7, n° 2, pp. 285-298.

BERMINGHAM, A. et COLLINS, P. L., 1999. The M2-2 protein of human respiratory syncytial virus is a regulatory factor involved in the balance between RNA replication and transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 28 septembre 1999. Vol. 96, n° 20, pp. 11259-11264.

BIDOKHTI, Mehdi R.M., TRÁVÉN, Madeleine, FALL, Nils, EMANUELSON, Ulf et ALENIUS, Stefan, 2009. Reduced likelihood of bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus infection on organic compared to conventional dairy farms. *The Veterinary Journal*. décembre 2009. Vol. 182, n° 3, pp. 436-440.

BLODÖRN, Krister, HÄGGLUND, Sara, FIX, Jenna, DUBUQUOY, Catherine, MAKABI-PANZU, Bobby, THOM, Michelle, KARLSSON, Per, ROQUE, Jean-Louis, KARLSTAM, Erika, PRINGLE, John, ELÉOUËT, Jean-François, RIFFAULT, Sabine, TAYLOR, Geraldine et VALARCHER, Jean François, 2014. Vaccine Safety and Efficacy Evaluation of a Recombinant Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) with Deletion of the SH Gene and Subunit Vaccines Based On Recombinant Human RSV Proteins: N-nanorings, P and M2-1, in Calves with Maternal Antibodies. *PLoS ONE*. 19 juin 2014. Vol. 9, n° 6, pp. e100392. DOI 10.1371/journal.pone.0100392.

BØNNELYKKE, Klaus, VISSING, Nadja Hawwa, SEVELSTED, Astrid, JOHNSTON, Sebastian L. et BISGAARD, Hans, 2015. Association between respiratory infections in early life and later asthma is independent of virus type. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. juillet 2015. Vol. 136, n° 1, pp. 81-86.e4.

BORGHESI, Jéssica, MARIO, Lara Carolina, RODRIGUES, Marcio Nogueira, FAVARON, Phelipe Oliveira et MIGLINO, Maria Angelica, 2014. Immunoglobulin Transport during Gestation in Domestic Animals and Humans—A Review. *Open Journal of Animal Sciences*. 2014. Vol. 04, n° 05, pp. 323-336.

BOSSERT, B. et CONZELMANN, K.-K., 2002. Respiratory syncytial virus (RSV) non- structural (NS) proteins as host range determinants: a chimeric bovine RSV with NS genes from human RSV is attenuated in interferon-competent bovine cells. *Journal of Virology*. mai 2002. Vol. 77, n° 9, pp. 4287-93.

BOSSERT, Birgit, MAROZIN, Sabrina et CONZELMANN, Karl-Klaus, 2003. Nonstructural Proteins NS1 and NS2 of Bovine Respiratory Syncytial Virus Block Activation of Interferon Regulatory Factor 3. *Journal of Virology*. août 2003. Vol. 77, n° 16, pp. 8661-8668.

BOXUS, M., TIGNON, M., ROELS, S., TOUSSAINT, J.-F., WALRAVENS, K., BENOIT, M.-A., COPPE, P., LETESSON, J.-J., LETELLIER, C. et KERKHOF, P., 2007. DNA Immunization with Plasmids Encoding Fusion and Nucleocapsid Proteins of Bovine Respiratory Syncytial Virus Induces a Strong Cell-Mediated Immunity and Protects Calves against Challenge. *Journal of Virology*. 1 juillet 2007. Vol. 81, n° 13, pp. 6879-6889.

BRYSON, D. G., MCCONNELL, S., MCALISKEY, M. et MCNULTY, M. S., 1991. Ultrastructural features of alveolar lesions in induced respiratory syncytial virus pneumonia of calves. *Veterinary Pathology*. juillet 1991. Vol. 28, n° 4, pp. 286-292.

BRYSON, D. G., PLATTEN, M. F., MCCONNELL, S. et MCNULTY, M. S., 1991. Ultrastructural features of lesions in bronchiolar epithelium in induced respiratory syncytial virus pneumonia of calves. *Veterinary Pathology*. juillet 1991. Vol. 28, n° 4, pp. 293-299.

BRYSON, D. G., 1993. Necropsy findings associated with BRSV pneumonia. *Veterinary medicine*. 1993. Vol. 88, n° 9, pp. 894.

BUCHHOLZ, U. J., FINKE, S. et CONZELMANN, K. K., 1999. Generation of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) from cDNA: BRSV NS2 is not essential for virus replication in tissue culture, and the human RSV leader region acts as a functional BRSV genome promoter. *Journal of Virology*. janvier 1999. Vol. 73, n° 1, pp. 251-259.

BUCHHOLZ, Ursula J., GRANZOW, Harald, SCHULDT, Kathrin, WHITEHEAD, Stephen S., MURPHY, Brian R. et COLLINS, Peter L., 2000. Chimeric bovine respiratory syncytial virus with glycoprotein gene substitutions from human respiratory syncytial virus (HRSV): effects on host range and evaluation as a live-attenuated HRSV vaccine. *Journal of virology*. 2000. Vol. 74, n° 3, pp. 1187-1199.

BUKREYEV, Alexander, WHITEHEAD, Stephen S., BUKREYEVA, Natalya, MURPHY, Brian R. et COLLINS, Peter L., 1999. Interferon γ expressed by a recombinant respiratory syncytial virus attenuates virus replication in mice without compromising immunogenicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2 mars 1999. Vol. 96, n° 5, pp. 2367-2372.

BUKREYEV, Alexander, WHITEHEAD, Stephen S., PRUSSIN, Calman, MURPHY, Brian R. et COLLINS, Peter L., 2000. Effect of Coexpression of Interleukin-2 by Recombinant Respiratory Syncytial Virus on Virus Replication, Immunogenicity, and Production of Other Cytokines. *Journal of Virology*. août 2000. Vol. 74, n° 15, pp. 7151-7157.

BUKREYEV, A., YANG, L., FRICKE, J., CHENG, L., WARD, J. M., MURPHY, B. R. et COLLINS, P. L., 2008. The Secreted Form of Respiratory Syncytial Virus G Glycoprotein Helps the Virus Evade Antibody-Mediated Restriction of Replication by Acting as an Antigen Decoy and through Effects on Fc Receptor-Bearing Leukocytes. *Journal of Virology*. 15 décembre 2008. Vol. 82, n° 24, pp. 12191-12204.

CASTAGNÉ, Nathalie, BARBIER, Alexandra, BERNARD, Julie, REZAEI, Human, HUET, Jean-Claude, HENRY, Céline, DA COSTA, Bruno et ELÉOUËT, Jean-François, 2004. Biochemical characterization of the respiratory syncytial virus P-P and P-N protein complexes and localization of the P protein oligomerization domain. *The Journal of General Virology*. juin 2004. Vol. 85, n° Pt 6, pp. 1643-1653.

CASWELL, J.L. et WILLIAMS, K.J., 2008. Respiratory system. In : *Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals: Fifth edition*. Edinburgh, Scotland : Saunders. pp. 597-598.

CHANOCK, Robert M., PARROTT, Robert H., VARGOSKO, Andrew J., KAPIKIAN, Albert Z., KNIGHT, Vernon et JOHNSON, Karl M., 1962. IV. Respiratory Syncytial Virus. *American Journal of Public Health and the Nations Health*. 1962. Vol. 52, n° 6, pp. 918-925.

CHIN, James, MAGOFFIN, Robert L., SHEARER, Lois Ann, SCHIEBLE, Jack H. et LENNETTE, Edwin H., 1969. Field Evaluation of a Respiratory Syncytial Virus Vaccine and a Trivalent Parainfluenza Virus Vaccine in a Pediatric Population. *American Journal of Epidemiology*. 1 avril 1969. Vol. 89, n° 4, pp. 449-463.

CLARK, B. M., 1994. Torvac RSV withdrawal. *The Veterinary Record*. 17 décembre 1994. Vol. 135, n° 25, pp. 606-607.

COLLINS, Peter L. et MELERO, José A., 2011. Progress in understanding and controlling respiratory syncytial virus: Still crazy after all these years. *Virus Research*. décembre 2011. Vol. 162, n° 1-2, pp. 80-99.

COLLINS, Peters L., HUANG, J.T. et WERTZ, Gail W., 1984. Identification of a tenth mRNA of respiratory syncytial virus and assignment of polypeptides to the 10 viral genes. *Journal of Virology*. 1984. Vol. 49, pp. 572-578.

COLLINS, P. L., HILL, M. G., CRISTINA, J. et GROSFELD, H., 1996. Transcription elongation factor of respiratory syncytial virus, a nonsegmented negative-strand RNA virus. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America. 9 janvier 1996. Vol. 93, n° 1, pp. 81-85.

COLLINS, P. L., OLMSTED, R. A., SPRIGGS, M. K., JOHNSON, P. R. et BUCKLER-WHITE, A. J., 1987. Gene overlap and site-specific attenuation of transcription of the viral polymerase L gene of human respiratory syncytial virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. août 1987. Vol. 84, n° 15, pp. 5134-5138.

COLLINS, Robert A., HOWARD, Christopher J., DUGGAN, Sara E. et WERLING, Dirk, 1999. Bovine interleukin-12 and modulation of IFN γ production. *Veterinary immunology and immunopathology*. 1999. Vol. 68, n° 2, pp. 193-207.

COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2009. Modified Recommendations for Use of Palivizumab for Prevention of Respiratory Syncytial Virus Infections. *Pediatrics*. 1 décembre 2009. Vol. 124, n° 6, pp. 1694-1701.

COMPANS, R. W., HARTER, D. H. et CHOPPIN, P. W., 1967. Studies on pneumonia virus of mice (PVM) in cell culture. II. Structure and morphogenesis of the virus particle. *The Journal of Experimental Medicine*. 1 août 1967. Vol. 126, n° 2, pp. 267-276.

CROWE, J. E., FIRESTONE, C.-Y. et MURPHY, B. R., 2001. Passively Acquired Antibodies Suppress Humoral But Not Cell-Mediated Immunity in Mice Immunized with Live Attenuated Respiratory Syncytial Virus Vaccines. *The Journal of Immunology*. 1 octobre 2001. Vol. 167, n° 7, pp. 3910-3918.

CURRAN, J., MARQ, J. B. et KOLAKOFSKY, D., 1995. An N-terminal domain of the Sendai paramyxovirus P protein acts as a chaperone for the NP protein during the nascent chain assembly step of genome replication. *Journal of Virology*. février 1995. Vol. 69, n° 2, pp. 849-855.

DAKHAMA, A., BRAMLEY, A. M., CHAN, N. G., MCKAY, K. O., SCHELLENBERG, R. R. et HEGELE, R. G., 1999. Effect of respiratory syncytial virus on subsequent allergic sensitization to ovalbumin in guinea-pigs. *The European Respiratory Journal*. mai 1999. Vol. 13, n° 5, pp. 976-982.

DEPLANCHE, Martine, LEMAIRE, Mylène, MIRANDETTE, Carole, BONNET, Marion, SCHELCHER, François et MEYER, Gilles, 2007. In vivo evidence for quasispecies distributions in the bovine respiratory syncytial virus genome. *Journal of General Virology*. 2007. Vol. 88, n° 4, pp. 1260-1265.

DOGGETT, Jennifer E., TAYLOR-ROBINSON, D. et GALLOP, R. G. C., 1968. A study of an inhibitor in bovine serum active against respiratory syncytial virus. *Archiv für die gesamte Virusforschung*. 1968. Vol. 23, n° 1-2, pp. 126-137.

DUDEK, Katarzyna, BEDNAREK, Dariusz, AYLING, Roger D. et SZACAWA, Ewelina, 2014. Stimulation and analysis of the immune response in calves from vaccinated pregnant cows. *Research in Veterinary Science*. août 2014. Vol. 97, n° 1, pp. 32-37.

EASTON, A. J., DOMACHOWSKIE, J. B. et ROSENBERG, H. F., 2004. Animal Pneumoviruses: Molecular Genetics and Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*. 1 avril 2004. Vol. 17, n° 2, pp. 390-412.

ELLIS, J. A., HASSARD, L. E. et MORLEY, P. S., 1995. Bovine respiratory syncytial virus-specific immune responses in calves after inoculation with commercially available vaccines. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 février 1995. Vol. 206, n° 3, pp. 354-361.

ELLIS, J. A., WEST, K., KONOBY, C., LEARD, T., GALLO, G., CONLON, J. et FITZGERALD, N., 2001. Efficacy of an inactivated respiratory syncytial virus vaccine in calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. juin 2001. Vol. 218, n° 12, pp. 1973-1980.

ELLIS, John A., GOW, Sheryl P. et GOJI, Noriko, 2010. Response to experimentally induced infection with bovine respiratory syncytial virus following intranasal vaccination of seropositive and seronegative calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2010. Vol. 236, n° 9, pp. 991-999.

ELLIS, John A., WEST, Keith H., WALDNER, Cheryl et RHODES, Carrie, 2005. Efficacy of a saponin-adjuvanted inactivated respiratory syncytial virus vaccine in calves. *The Canadian Veterinary Journal*. 2005. Vol. 46, n° 2, pp. 155.

ELVANDER, M., VILCEK, S., BAULE, C., UTTENTHAL, A., BALLAGI-PORD, A. et BEL, S., 1998. Genetic and antigenic analysis of the G attachment protein of bovine respiratory syncytial virus strains. *Journal of general virology*. 1998. Vol. 79, n° 12, pp. 2939-2946.

ESTES, D. Mark et BROWN, Wendy C., 2002. Type 1 and type 2 responses in regulation of Ig isotype expression in cattle. *Veterinary immunology and immunopathology*. 2002. Vol. 90, n° 1, pp. 1-10.

EUROPEAN MEDICINE AGENCY, 2009. *Résumé des caractéristiques du produit Synagis(r) (Palivizumab)* [en ligne]. 2009. [Consulté le 11 août 2015]. Disponible à l'adresse : http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000257/WC500056908.pdf

EVANS, Johanna E, CANE, Patricia A et PRINGLE, Craig R, 1996. Expression and characterisation of the NS1 and NS2 proteins of respiratory syncytial virus. *Virus Research*. août 1996. Vol. 43, n° 2, pp. 155-161.

FEARNS, Rachel, PEEPLES, Mark E. et COLLINS, Peter L., 1997. Increased Expression of the N Protein of Respiratory Syncytial Virus Stimulates Minigenome Replication but Does Not Alter the Balance between the Synthesis of mRNA and Antigenome. *Virology*. 15 septembre 1997. Vol. 236, n° 1, pp. 188-201.

FEARNS, Rachel, PEEPLES, Mark E. et COLLINS, Peter L., 2002. Mapping the transcription and replication promoters of respiratory syncytial virus. *Journal of Virology*. février 2002. Vol. 76, n° 4, pp. 1663-1672.

FEARNS, R. et COLLINS, P. L., 1999a. Model for polymerase access to the overlapped L gene of respiratory syncytial virus. *Journal of Virology*. janvier 1999. Vol. 73, n° 1, pp. 388-397.

FEARNS, R. et COLLINS, P. L., 1999b. Role of the M2-1 transcription antitermination protein of respiratory syncytial virus in sequential transcription. *Journal of Virology*. juillet 1999. Vol. 73, n° 7, pp. 5852-5864.

FELDMAN, S. A., CRIM, R. L., AUDET, S. A. et BEELER, J. A., 2001. Human respiratory syncytial virus surface glycoproteins F, G and SH form an oligomeric complex. *Archives of virology*. 2001. Vol. 146, n° 12, pp. 2369-2383.

FERGUSON, J. D., GALLIGAN, D. T. et CORTESE, V., 1997. Milk production and reproductive performance in dairy cows given bovine respiratory syncytial virus vaccine prior to parturition. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 juin 1997. Vol. 210, n° 12, pp. 1779-1783.

- FILION, Mario C., SAHA, Nathalie, GUEDDI, Mohamed et PHILLIPS, Nigel C., 2003. Development of short non-CpG phosphodiester oligonucleotides as immune stimulatory agents. *Vaccine*. février 2003. Vol. 21, n° 9–10, pp. 983-989.
- FOGG, Mark H., PARSONS, Keith R., THOMAS, Lewis H. et TAYLOR, Geraldine, 2001. Identification of CD4+ T cell epitopes on the fusion (F) and attachment (G) proteins of bovine respiratory syncytial virus (BRSV). *Vaccine*. avril 2001. Vol. 19, n° 23–24, pp. 3226-3240.
- FUENTES, S., TRAN, K. C., LUTHRA, P., TENG, M. N. et HE, B., 2007. Function of the Respiratory Syncytial Virus Small Hydrophobic Protein. *Journal of Virology*. 1 août 2007. Vol. 81, n° 15, pp. 8361-8366.
- FURZE, J. M., ROBERTS, S. R., WERTZ, G. W. et TAYLOR, G., 1997. Antigenically Distinct G Glycoproteins of BRSV Strains Share a High Degree of Genetic Homogeneity. *Virology*. avril 1997. Vol. 231, n° 1, pp. 48-58.
- FURZE, J., WERTZ, G., LERCH, R. et TAYLOR, G., 1994. Antigenic heterogeneity of the attachment protein of bovine respiratory syncytial virus. *The Journal of General Virology*. février 1994. Vol. 75 (Pt 2), pp. 363-370.
- GADDUM, Ruth M, COOK, Roy S, FURZE, Julie M, ELLIS, Shirley A et TAYLOR, Geraldine, 2003. Recognition of bovine respiratory syncytial virus proteins by bovine CD8+ T lymphocytes. *Immunology*. février 2003. Vol. 108, n° 2, pp. 220-229.
- GARCÍA, J., GARCÍA-BARRENO, B., VIVO, A. et MELERO, J. A., 1993. Cytoplasmic inclusions of respiratory syncytial virus-infected cells: formation of inclusion bodies in transfected cells that coexpress the nucleoprotein, the phosphoprotein, and the 22K protein. *Virology*. juillet 1993. Vol. 195, n° 1, pp. 243-247.
- GERSHWIN, Laurel J., ANDERSON, Mark L., WANG, Chunbo, BERGHAUS, Londa J., KENNY, Thomas P. et GUNTHER, Robert A., 2011. Assessment of IgE response and cytokine gene expression in pulmonary efferent lymph collected after ovalbumin inhalation during experimental infection of calves with bovine respiratory syncytial virus. *American Journal of Veterinary Research*. 1 janvier 2011. Vol. 72, n° 1, pp. 134-145.
- GERSHWIN, Laurel J., BERGHAUS, Londa J., ARNOLD, Karen, ANDERSON, Mark L. et CORBEIL, Lynette B., 2005. Immune mechanisms of pathogenetic synergy in concurrent bovine pulmonary infection with *Haemophilus somnus* and bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. août 2005. Vol. 107, n° 1-2, pp. 119-130.
- GERSHWIN, Laurel J., SCHELEGLE, Edward S., GUNTHER, Robert A., ANDERSON, Mark L., WOOLUMS, Amelia R., LAROCHELLE, Danielle R., BOYLE, Gabrielle A., FRIEBERTSHAUSER, Kathleen E. et SINGER, Randall S., 1998. A bovine model of vaccine enhanced respiratory syncytial virus pathophysiology. *Vaccine*. juillet 1998. Vol. 16, n° 11–12, pp. 1225-1236.
- GERSHWIN, Laurel J., 2008. Bovine respiratory syncytial virus infection: immunopathogenic mechanisms. *Animal Health Research Reviews*. 24 janvier 2008. Vol. 8, n° 02, pp. 207-213.
- GERSHWIN, Laurel J., 2012. Immunology of bovine respiratory syncytial virus infection of cattle. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. mai 2012. Vol. 35, n° 3, pp. 253-257.
- GETAHUN, A. et HEYMAN, B., 2009. Studies on the Mechanism by Which Antigen-Specific IgG Suppresses Primary Antibody Responses: Evidence for Epitope Masking and Decreased Localization

of Antigen in the Spleen. *Scandinavian Journal of Immunology*. septembre 2009. Vol. 70, n° 3, pp. 277-287.

GHILDYAL, R., BAULCH-BROWN, C., MILLS, J. et MEANGER, J., 2003. The matrix protein of Human respiratory syncytial virus localises to the nucleus of infected cells and inhibits transcription. *Archives of Virology*. juillet 2003. Vol. 148, n° 7, pp. 1419-1429.

GLASS, Elizabeth J., BAXTER, Rebecca, LEACH, Richard J. et JANN, Oliver C., 2012. Genes controlling vaccine responses and disease resistance to respiratory viral pathogens in cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. juillet 2012. Vol. 148, n° 1-2, pp. 90-99.

GONZALEZ, Maria Eugenia et CARRASCO, Luis, 2003. Viroporins. *FEBS Letters*. septembre 2003. Vol. 552, n° 1, pp. 28-34.

GONZÁLEZ-REYES, Luis, RUIZ-ARGÜELLO, M. Begoña, GARCÍA-BARRENO, Blanca, CALDER, Leslie, LÓPEZ, Juan A., ALBAR, Juan P., SKEHEL, John J., WILEY, Don C. et MELERO, José A., 2001. Cleavage of the human respiratory syncytial virus fusion protein at two distinct sites is required for activation of membrane fusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 14 août 2001. Vol. 98, n° 17, pp. 9859-9864.

GRELL, Susanne N., RIBER, Ulla, TJØRNEHØJ, Kirsten, LARSEN, Lars E. et HEEGAARD, Peter M.H., 2005. Age-dependent differences in cytokine and antibody responses after experimental RSV infection in a bovine model. *Vaccine*. mai 2005. Vol. 23, n° 26, pp. 3412-3423.

HÄGGLUND, Sara, HU, Ke-Fei, LARSEN, Lars Erik, HAKHVERDYAN, Mikhayil, VALARCHER, Jean-François, TAYLOR, Geraldine, MOREIN, Bror, BELÁK, Sándor et ALENIOUS, Stefan, 2004. Bovine respiratory syncytial virus ISCOMs—protection in the presence of maternal antibodies. *Vaccine*. décembre 2004. Vol. 23, n° 5, pp. 646-655.

HÄGGLUND, Sara, HU, Kefei, VARGMAR, Karin, PORÉ, Lesly, OLOFSON, Ann-Sophie, BLODÖRN, Krister, ANDERSON, Jenna, AHOOGHALANDARI, Parvin, PRINGLE, John, TAYLOR, Geraldine et VALARCHER, Jean-François, 2011. Bovine respiratory syncytial virus ISCOMs—Immunity, protection and safety in young conventional calves. *Vaccine*. novembre 2011. Vol. 29, n° 47, pp. 8719-8730.

HÄGGLUND, Sara, 2005. *Epidemiology, detection and prevention of respiratory virus infections in Swedish cattle*. Sweden : Uppsala.

HAMERS, C., JUILLARD, V. et FISCHER, L., 2007. DNA Vaccination against Pseudorabies Virus and Bovine Respiratory Syncytial Virus Infections of Young Animals in the Face of Maternally Derived Immunity. *Journal of Comparative Pathology*. juillet 2007. Vol. 137, Supplement 1, pp. S35-S41.

HANCOCK, Gerald E., SPEELMAN, Dan J., FRENCHICK, Patrick J., MINEO-KUHN, Michelle M., BAGGS, Raymond B. et HAHN, Denise J., 1995. Formulation of the purified fusion protein of respiratory syncytial virus with the saponin QS-21 induces protective immune responses in Balbc mice that are similar to those generated by experimental infection. *Vaccine*. 1995. Vol. 13, n° 4, pp. 391-400.

HARCOURT, J., ALVAREZ, R., JONES, L. P., HENDERSON, C., ANDERSON, L. J. et TRIPP, R. A., 2006. Respiratory Syncytial Virus G Protein and G Protein CX3C Motif Adversely Affect CX3CR1+ T Cell Responses. *The Journal of Immunology*. 1 février 2006. Vol. 176, n° 3, pp. 1600-1608.

- HARDY, R. W. et WERTZ, G. W., 1998. The product of the respiratory syncytial virus M2 gene ORF1 enhances readthrough of intergenic junctions during viral transcription. *Journal of Virology*. janvier 1998. Vol. 72, n° 1, pp. 520-526.
- HARMON, Shawn B., MEGAW, A. George et WERTZ, Gail W., 2001. RNA Sequences Involved in Transcriptional Termination of Respiratory Syncytial Virus. *Journal of Virology*. janvier 2001. Vol. 75, n° 1, pp. 36-44.
- HENDERSON, Gary, MURRAY, Jillian et YEO, Robert P., 2002. Sorting of the Respiratory Syncytial Virus Matrix Protein into Detergent-Resistant Structures Is Dependent on Cell-Surface Expression of the Glycoproteins. *Virology*. 1 septembre 2002. Vol. 300, n° 2, pp. 244-254.
- HENDRICKS, D. A., BARADARAN, K., MCINTOSH, K. et PATTERSON, J. L., 1987. Appearance of a soluble form of the G protein of respiratory syncytial virus in fluids of infected cells. *The Journal of General Virology*. juin 1987. Vol. 68 (Pt 6), pp. 1705-1714.
- HENDRICKS, D A, MCINTOSH, K et PATTERSON, J L, 1988. Further characterization of the soluble form of the G glycoprotein of respiratory syncytial virus. *Journal of Virology*. juillet 1988. Vol. 62, n° 7, pp. 2228-2233.
- HILL, Kevin L., HUNSAKER, Breck D., TOWNSEND, Hugh G. et GRIEBEL, Philip J., 2012. Mucosal immune response in newborn Holstein calves that had maternally derived antibodies and were vaccinated with an intranasal multivalent modified-live virus vaccine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2012. Vol. 240, n° 10, pp. 1231-1240.
- HOWARD, C J, STOTT, E. J., THOMAS, L H, GOURLAY et TAYLOR, G., 1987. Protection against respiratory disease in calves induced by vaccines containing respiratory syncytial virus, parainfluenza type 3 virus, Mycoplasma bovis and M dispar. *The Veterinary record*. octobre 1987. Vol. 121, n° 16, pp. 372-376.
- HUANG, Yung T., COLLINS, Peter L. et WERTZ, Gail W., 1985. Characterization of the 10 proteins of human respiratory syncytial virus: Identification of a fourth envelope-associated protein. *Virus Research*. mars 1985. Vol. 2, n° 2, pp. 157-173.
- HU, Jing, QIU, Liying, WANG, Xiaoli, ZOU, Xiaopeng, LU, Mengji et YIN, Jian, 2015. Carbohydrate-based vaccine adjuvants – discovery and development. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 3 octobre 2015. Vol. 10, n° 10, pp. 1133-1144.
- HU, Ke-Fei, LÖVGREN-BENGTSSON, Karin et MOREIN, Bror, 2001. Immunostimulating complexes (ISCOMs) for nasal vaccination. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 23 septembre 2001. Vol. 51, n° 1-3, pp. 149-159.
- HUNSAKER, B. D., TRIPP, S. P. et SMITH, R. A., 2007. Vaccine field efficacy: a review of field efficacy reported for vaccine antigens used in beef cattle and dairy practice, 1996 to present. In : *Proceedings of the Fortieth Annual Conference, American Association of Bovine Practitioners, Vancouver, British Columbia, Canada, 20-22 September, 2007*. American Association of Bovine Practitioners. 2007. pp. 26-32.
- HURLEY, Walter L. et THEIL, Peter K., 2011. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. *Nutrients*. 14 avril 2011. Vol. 3, n° 4, pp. 442-474.
- INABA, Yuji, TANAKA, Yoshio, OMORI, Tuneyoshi et MATUMOTO, Minoru, 1973. Physicochemical properties of bovine respiratory syncytial virus. *Japanese journal of microbiology*. 1973. Vol. 17, n° 3, pp. 211-216.

INABA, Yuji, TANAKA, Yoshio, SATO, Kunihiko, OMORI, Tuneyoshi et MATUMOTO, Minoru, 1972. Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Japanese Journal of Microbiology*. mai 1972. Vol. 16, n° 5, pp. 373-383.

Index des RCP, 2015. [en ligne]. [Consulté le 16 novembre 2015]. Disponible à l'adresse : <http://www.ircp.anmv.anses.fr/>

IOANNOU, X. P., GRIEBEL, P., HECKER, R., BABIUK, L. A. et HURK, S. van Drunen Littel-van den, 2002. The Immunogenicity and Protective Efficacy of Bovine Herpesvirus 1 Glycoprotein D plus Emulsigen Are Increased by Formulation with CpG Oligodeoxynucleotides. *Journal of Virology*. 15 septembre 2002. Vol. 76, n° 18, pp. 9002-9010.

IOANNOU, X.p., GRIEBEL, P., MENA, A., GOMIS, S.m., GODSON, D.I., MUTWIRI, G., HECKER, R., BABIUK, L.a et VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK, S., 2003. Safety of CpG Oligodeoxynucleotides in Veterinary Species. *Antisense and Nucleic Acid Drug Development*. juin 2003. Vol. 13, n° 3, pp. 157-167.

JACOBS, J. W. et EDINGTON, N., 1971. Isolation of respiratory syncytial virus from cattle in Britain. *The Veterinary Record*. 26 juin 1971. Vol. 88, n° 26, pp. 694.

JANSSEN, Riny, BONT, Louis, SIEZEN, Christine L. E., HODEMAEKERS, Hennie M., ERMERS, Marieke J., DOORNBOS, Gerda, SLOT, Ruben van 't, WIJMENGA, Ciska, GOEMAN, Jelle J., KIMPEN, Jan L. L., VAN HOUWELINGEN, Hans C., KIMMAN, Tjeerd G. et HOEBEE, Barbara, 2007. Genetic Susceptibility to Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis Is Predominantly Associated with Innate Immune Genes. *The Journal of Infectious Diseases*. 15 septembre 2007. Vol. 196, n° 6, pp. 826-834.

JIN, Hong, ZHOU, Helen, CHENG, Xing, TANG, Roderick, MUNOZ, Mary et NGUYEN, Nghia, 2000. Recombinant Respiratory Syncytial Viruses with Deletions in the NS1, NS2, SH, and M2-2 Genes Are Attenuated in Vitro and in Vivo. *Virology*. juillet 2000. Vol. 273, n° 1, pp. 210-218.

JOHNSON, T. R. et GRAHAM, B. S., 1999. Secreted respiratory syncytial virus G glycoprotein induces interleukin-5 (IL-5), IL-13, and eosinophilia by an IL-4-independent mechanism. *Journal of Virology*. octobre 1999. Vol. 73, n° 10, pp. 8485-8495.

JOHNSON, T. R., JOHNSON, J. E., ROBERTS, S. R., WERTZ, G. W., PARKER, R. A. et GRAHAM, B. S., 1998. Priming with secreted glycoprotein G of respiratory syncytial virus (RSV) augments interleukin-5 production and tissue eosinophilia after RSV challenge. *Journal of Virology*. avril 1998. Vol. 72, n° 4, pp. 2871-2880.

JOOS, Guy F, DE SWERT, Katelijne O et PAUWELS, Romain A, 2001. Airway inflammation and tachykinins: prospects for the development of tachykinin receptor antagonists. *European Journal of Pharmacology*. 19 octobre 2001. Vol. 429, n° 1-3, pp. 239-250.

KALINA, Warren V., WOOLUMS, Amelia R., BERGHAUS, Roy D. et GERSHWIN, Laurel J., 2004. Formalin-inactivated bovine RSV vaccine enhances a Th2 mediated immune response in infected cattle. *Vaccine*. mars 2004. Vol. 22, n° 11-12, pp. 1465-1474.

KAPIKIAN, A. Z., MITCHELL, R. H., CHANOCK, R. M., SHVEDOFF, R. A. et STEWART, C. E., 1969. An epidemiologic study of altered clinical reactivity to respiratory syncytial (RS) virus infection in children previously vaccinated with an inactivated RS virus vaccine. *American Journal of Epidemiology*. avril 1969. Vol. 89, n° 4, pp. 405-421.

- KARGER, Axel, SCHMIDT, Ulrike et BUCHHOLZ, Ursula J., 2001. Recombinant bovine respiratory syncytial virus with deletions of the G or SH genes: G and F proteins bind heparin. *Journal of General Virology*. 1 mars 2001. Vol. 82, n° 3, pp. 631-640.
- KELES, I., WOLDEHIWET, Z. et MURRAY, R. D., 1998. In-vitro studies on mechanisms of immunosuppression associated with bovine respiratory syncytial virus. *Journal of Comparative Pathology*. mai 1998. Vol. 118, n° 4, pp. 337-345.
- KENSIL, C. R., PATEL, U., LENNICK, M. et MARCIANI, D., 1991. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. *The Journal of Immunology*. 15 janvier 1991. Vol. 146, n° 2, pp. 431-437.
- KERKHOFS, P., TIGNON, M., PETRY, H., MAWHINNEY, I. et SUSTRONCK, B., 2004. Immune responses to bovine respiratory syncytial virus (BRSV) following use of an inactivated BRSV-PI3-Mannheimia haemolytica vaccine and a modified live BRSV-BVDV vaccine. *The Veterinary Journal*. mars 2004. Vol. 167, n° 2, pp. 208-210.
- KIM, H. W., CANCHOLA, J. G., BRANDT, C. D., PYLES, G., CHANOCK, R. M., JENSEN, K. et PARROTT, R. H., 1969. Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine. *American Journal of Epidemiology*. avril 1969. Vol. 89, n° 4, pp. 422-434.
- KIMMAN, T. G., SOL, J., WESTENBRINK, F. et STRAYER, P. J., 1989. A severe outbreak of respiratory tract disease associated with bovine respiratory syncytial virus probably enhanced by vaccination with modified live vaccine. *Veterinary Quarterly*. octobre 1989. Vol. 11, n° 4, pp. 250-253.
- KIMMAN, T. G., WESTENBRINK, F., SCHREUDER, B. E. et STRAYER, P. J., 1987. Local and systemic antibody response to bovine respiratory syncytial virus infection and reinfection in calves with and without maternal antibodies. *Journal of clinical microbiology*. 1987. Vol. 25, n° 6, pp. 1097-1106.
- KIMMAN, T. G., WESTENBRINK, F. et STRAYER, P. J., 1989. Priming for local and systemic antibody memory responses to bovine respiratory syncytial virus: Effect of amount of virus, virus replication, route of administration and maternal antibodies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1 septembre 1989. Vol. 22, n° 2, pp. 145-160.
- KIMMAN, T. G., ZIMMER, G., WESTENBRINK, F., MARS, M. H et VAN LEEUWEN, E., 1988. Epidemiological study of bovine respiratory syncytial virus infections in calves: influence of maternal antibodies on the outcome of disease. *The Veterinary record*. juillet 1988. Vol. 123, n° 4, pp. 104-109.
- KING, Andrew M. Q., ADAMS, Michael J., CARSTENS, Eric B. et LEFKOWITZ, Elliot J. (éd.), 2012. Order - Mononegavirales. In : *Virus Taxonomy*. San Diego : Elsevier. pp. 653-657 et 672-685.
- KÖNIG, Patricia, GIESOW, Katrin, SCHULDT, Kathrin, BUCHHOLZ, Ursula J. et KEIL, Günther M., 2004. A novel protein expression strategy using recombinant bovine respiratory syncytial virus (BRSV): modifications of the peptide sequence between the two furin cleavage sites of the BRSV fusion protein yield secreted proteins, but affect processing and function of the BRSV fusion protein. *The Journal of General Virology*. juillet 2004. Vol. 85, n° Pt 7, pp. 1815-1824.
- KREMPL, Christine, MURPHY, Brian R. et COLLINS, Peter L., 2002. Recombinant Respiratory Syncytial Virus with the G and F Genes Shifted to the Promoter-Proximal Positions. *Journal of Virology*. 1 décembre 2002. Vol. 76, n° 23, pp. 11931-11942.

KUO, L., FEARNES, R. et COLLINS, P. L., 1996. The structurally diverse intergenic regions of respiratory syncytial virus do not modulate sequential transcription by a dicistronic minigenome. *Journal of Virology*. septembre 1996. Vol. 70, n° 9, pp. 6143-6150.

KUO, L., FEARNES, R. et COLLINS, P. L., 1997. Analysis of the gene start and gene end signals of human respiratory syncytial virus: quasi-templated initiation at position 1 of the encoded mRNA. *Journal of Virology*. juillet 1997. Vol. 71, n° 7, pp. 4944-4953.

KUO, L., GROSFELD, H., CRISTINA, J., HILL, M. G. et COLLINS, P. L., 1996. Effects of mutations in the gene-start and gene-end sequence motifs on transcription of monocistronic and dicistronic minigenomes of respiratory syncytial virus. *Journal of Virology*. octobre 1996. Vol. 70, n° 10, pp. 6892-6901.

KURT-JONES, E. A., POPOVA, L., KWINN, L., HAYNES, L. M., JONES, L. P., TRIPP, R. A., WALSH, E. E., FREEMAN, M. W., GOLENBOCK, D. T., ANDERSON, L. J. et FINBERG, R. W., 2000. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nature Immunology*. novembre 2000. Vol. 1, n° 5, pp. 398-401.

LAGENTE, V., BOICHOT, E., EMONDS-ALT, X. et ADVENIER, Ch., 1998. Intérêt des antagonistes des récepteurs des tachykinines dans la prévention de l'hyperréactivité bronchique, la toux et l'inflammation des voies aériennes. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. décembre 1998. Vol. 38, n° 10, pp. 963-971.

LARSEN, Lars Erik, TEGTMEIER, C. et PEDERSEN, E., 2001. Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) pneumonia in beef calf herds despite vaccination. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2001. Vol. 42, n° 1, pp. 113.

LARSEN, Lars Erik, UTTENTHAL, Aase, ARCTANDER, Peter, TJØRNEHØJ, Kirsten, VIUFF, B., RØNTVED, C., RØNSHOLT, L., ALEXANDERSEN, Søren et BLIXENKRONE-MØLLER, Merete, 1998. Serological and genetic characterisation of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) indicates that Danish isolates belong to the intermediate subgroup: no evidence of a selective effect on the variability of G protein nucleotide sequence by prior cell culture adaption and passages in cell culture or calves. *Veterinary microbiology*. 1998. Vol. 62, n° 4, pp. 265-279.

LARSEN, L. E., 2000. Bovine respiratory syncytial virus (BRSV): a review. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2000. Vol. 41, n° 1, pp. 1-24.

LEKEUX, P., AMORY, H., DESMECHT, D., GUSTIN, P., LINDEN, A. et ROLLIN, F., 1994. Oxygen transport chain in double-muscled blue belgian cattle. *British Veterinary Journal*. septembre 1994. Vol. 150, n° 5, pp. 463-471.

LETELLIER, C., BOXUS, M., ROSAR, L., TOUSSAINT, J.-F., WALRAVENS, K., ROELS, S., MEYER, G., LETESSON, J. J. et KERKHOFS, P., 2008. Vaccination of calves using the BRSV nucleocapsid protein in a DNA prime-protein boost strategy stimulates cell-mediated immunity and protects the lungs against BRSV replication and pathology. *Vaccine*. 2 septembre 2008. Vol. 26, n° 37, pp. 4840-4848.

LEVAST, Benoît, SCHULZ, Sandra, HURK, Sylvia van Drunen Littel-van den et GERDTS, Volker, 2013. Animal models for neonatal diseases in humans. *Vaccine*. mai 2013. Vol. 31, n° 21, pp. 2489-2499.

LEVINE, S., KLAIBER-FRANCO, R. et PARADISO, P. R., 1987. Demonstration that Glycoprotein G Is the Attachment Protein of Respiratory Syncytial Virus. *Journal of General Virology*. 1 septembre 1987. Vol. 68, n° 9, pp. 2521-2524.

LI, Xiaomao, SAMBHARA, Suryaprakash, LI, Cindy Xin, EWASYSHYN, Mary, PARRINGTON, Mark, CATERINI, Judy, JAMES, Olive, CATES, George, DU, Run-Pan et KLEIN, Michel, 1998. Protection against Respiratory Syncytial Virus Infection by DNA Immunization. *The Journal of Experimental Medicine*. 17 août 1998. Vol. 188, n° 4, pp. 681-688.

LO, Mindy S., BRAZAS, Robert M. et HOLTZMAN, Michael J., 2005. Respiratory Syncytial Virus Nonstructural Proteins NS1 and NS2 Mediate Inhibition of Stat2 Expression and Alpha/Beta Interferon Responsiveness. *Journal of Virology*. juillet 2005. Vol. 79, n° 14, pp. 9315-9319.

MAKOSCHEY, B., RAMAGE, C., REDDICK, D., FRASER, S. et DONACHIE, W., 2012. Colostrum from cattle immunized with a vaccine based on iron regulated proteins of *Mannheimia haemolytica* confers partial protection. *Vaccine*. 20 janvier 2012. Vol. 30, n° 5, pp. 969-973.

MALLIPEDDI, Sanjay K., LUPIANI, Blanca et SAMAL, Siba K., 1996. Mapping the domains on the phosphoprotein of bovine respiratory syncytial virus required for N-P interaction using a two-hybrid system. *Journal of General Virology*. 1 mai 1996. Vol. 77, n° 5, pp. 1019-1023.

MAPLETOFT, John W., OUMOUNA, Mustapha, TOWNSEND, Hugh G., GOMIS, Susantha, BABIUK, Lorne A. et VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK, Sylvia, 2006. Formulation with CpG oligodeoxynucleotides increases cellular immunity and protection induced by vaccination of calves with formalin-inactivated bovine respiratory syncytial virus. *Virology*. 30 septembre 2006. Vol. 353, n° 2, pp. 316-323.

MAPLETOFT, J. W., LATIMER, L., BABIUK, L. A. et VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK, S., 2009. Intranasal Immunization of Mice with a Bovine Respiratory Syncytial Virus Vaccine Induces Superior Immunity and Protection Compared to Those by Subcutaneous Delivery or Combinations of Intranasal and Subcutaneous Prime-Boost Strategies. *Clinical and Vaccine Immunology*. 28 octobre 2009. Vol. 17, n° 1, pp. 23-35.

MARÓDI, László, 2006. Innate cellular immune responses in newborns. *Clinical Immunology*. février 2006. Vol. 118, n° 2-3, pp. 137-144.

MARS, M. H., BRUSCHKE, C. J. M. et VAN OIRSCHOT, J. T., 1999. Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Veterinary microbiology*. 1999. Vol. 66, n° 3, pp. 197-207.

MARTINEZ, X., LI, X., KOVARIK, J., KLEIN, M., LAMBERT, P. H. et SIEGRIST, C. A., 1999. Combining DNA and protein vaccines for early life immunization against respiratory syncytial virus in mice. *European Journal of Immunology*. octobre 1999. Vol. 29, n° 10, pp. 3390-3400.

MAWHINNEY, I. C. et BURROWS, M. R., 2005. Protection against bovine respiratory syncytial virus challenge following a single dose of vaccine in young calves with maternal antibody. *Veterinary Record*. 29 janvier 2005. Vol. 156, n° 5, pp. 139-143.

MCNAMARA, Paul S. et SMYTH, Rosalind L., 2002. The pathogenesis of respiratory syncytial virus disease in childhood. *British Medical Bulletin*. 1 mars 2002. Vol. 61, n° 1, pp. 13-28.

MELVIN, Ann J., MCGURN, Mary E., BORT, Susan J., GIBSON, Christine et LEWIS, David B., 1995. Hypomethylation of the interferon- γ gene correlates with its expression by primary T-lineage cells. *European Journal of Immunology*. février 1995. Vol. 25, n° 2, pp. 426-430.

MEYER, Gilles, DEPLANCHE, Martine et SCHELCHER, François, 2008. Human and bovine respiratory syncytial virus vaccine research and development. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. mars 2008. Vol. 31, n° 2-3, pp. 191-225.

MOREIN, B., SUNDQUIST, B., HÖGLUND, S., DALSGAARD, K. et OSTERHAUS, A., 1984. Iscom, a novel structure for antigenic presentation of membrane proteins from enveloped viruses. *Nature*. 29 avril 1984. Vol. 308, n° 5958, pp. 457-460.

MORRIS, J. A., BLOUNT, R. E. et SAVAGE, R. E., 1956. Recovery of Cytopathogenic Agent from Chimpanzees with Goryza. *Experimental Biology and Medicine*. 1 juillet 1956. Vol. 92, n° 3, pp. 544-549.

MURPHY, Jacob M., HAGEY, Jill V. et CHIGERWE, Munashe, 2014. Comparison of serum immunoglobulin G half-life in dairy calves fed colostrum, colostrum replacer or administered with intravenous bovine plasma. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. avril 2014. Vol. 158, n° 3-4, pp. 233-237.

NAIR, Harish, NOKES, D James, GESSNER, Bradford D, DHERANI, Mukesh, MADHI, Shabir A, SINGLETON, Rosalyn J, O'BRIEN, Katherine L, ROCA, Anna, WRIGHT, Peter F, BRUCE, Nigel, CHANDRAN, Aruna, THEODORATOU, Evropi, SUTANTO, Agustinus, SEDYANINGSIH, Endang R, NGAMA, Mwanajuma, MUNYWOKI, Patrick K, KARTASASMITA, Cissy, SIMÕES, Eric AF, RUDAN, Igor, WEBER, Martin W et CAMPBELL, Harry, 2010. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*. mai 2010. Vol. 375, n° 9725, pp. 1545-1555.

O'NEILL, R.G., WOOLLIAMS, J.A., GLASS, E.J., WILLIAMS, J.L. et FITZPATRICK, J.L., 2006. Quantitative evaluation of genetic and environmental parameters determining antibody response induced by vaccination against bovine respiratory syncytial virus. *Vaccine*. mai 2006. Vol. 24, n° 18, pp. 4007-4016.

OPENSHAW, Peter J. M. et TREGONING, John S., 2005. Immune Responses and Disease Enhancement during Respiratory Syncytial Virus Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 1 juillet 2005. Vol. 18, n° 3, pp. 541-555.

OPENSHAW, P. J., CLARKE, S. L. et RECORD, F. M., 1992. Pulmonary eosinophilic response to respiratory syncytial virus infection in mice sensitized to the major surface glycoprotein G. *International Immunology*. avril 1992. Vol. 4, n° 4, pp. 493-500.

O'ROURKE, D., 2009. Practical Veterinary Pharmacovigilance. In : *Veterinary Pharmacovigilance: Adverse Reactions to Veterinary Medicinal Products*. Blackwell Publishing Ltd. pp. 287-295.

OUMOUNA, M., MAPLETOFT, J. W., KARVONEN, B. C., BABIUK, L. A. et VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK, S., 2005. Formulation with CpG Oligodeoxynucleotides Prevents Induction of Pulmonary Immunopathology following Priming with Formalin-Inactivated or Commercial Killed Bovine Respiratory Syncytial Virus Vaccine. *Journal of Virology*. février 2005. Vol. 79, n° 4, pp. 2024-2032.

PACCAUD, M. F. et JACQUIER, Cl, 1970. A Respiratory syncytial virus of bovine origin. *Archiv für die gesamte Virusforschung*. décembre 1970. Vol. 30, n° 4, pp. 327-342.

PATEL, Jay R. et DIDLICK, Susan A., 2004. Evaluation of efficacy of an inactivated vaccine against bovine respiratory syncytial virus in calves with maternal antibodies. *American Journal of Veterinary Research*. avril 2004. Vol. 65, n° 4, pp. 417-421.

PEEPLS, Mark E. et LEVINE, S., 1997. Respiratory syncytial virus polypeptides: Their location in the virion. *Virology*. 1997. Vol. 95, pp. 137-145.

PHILIPPOU, S., STRECKERT, H.-J., OTTO, P., REINHOLD, P., ELSCHNER, M., WERCHAU, H. et MORGENROTH, K., 1996. Morphological studies of the respiratory syncytial virus induced bronchiolitis in experimentally infected calves. *Pathology-Research and Practice*. 1996. Vol. 192, n° 10, pp. 1045–1056.

PIAZZA, F M, JOHNSON, S A, DARNELL, M E, PORTER, D D, HEMMING, V G et PRINCE, G A, 1993. Bovine respiratory syncytial virus protects cotton rats against human respiratory syncytial virus infection. *Journal of Virology*. mars 1993. Vol. 67, n° 3, pp. 1503-1510.

POLACK, Fernando P., IRUSTA, Pablo M., HOFFMAN, Scott J., SCHIATTI, M. Paula, MELENDI, Guillermina A., DELGADO, M. Florencia, LAHAM, Federico R., THUMAR, Bhagvanji, HENDRY, R. Michael, MELERO, Jose A., KARRON, Ruth A., COLLINS, Peter L. et KLEEBERGER, Steven R., 2005. The cysteine-rich region of respiratory syncytial virus attachment protein inhibits innate immunity elicited by the virus and endotoxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 21 juin 2005. Vol. 102, n° 25, pp. 8996-9001.

PRINCE, G A, REDINGTON, M, PIAZZA, F M et HEMMING, V G, 1990. Bovine respiratory syncytial virus provides protection against human respiratory virus infection in cotton rats and primates. In : *B. Meignier, B. Murphy, and P. Ogra : Animal models of respiratory syncytial virus infections*. Fondation Marcel Mérieux. Lyon, France. pp. 133-135.

PRINCE, Gregory A., MOND, James J., PORTER, David D., YIM, Kevin C., LAN, Steve J. et KLINMAN, Dennis M., 2003. Immunoprotective Activity and Safety of a Respiratory Syncytial Virus Vaccine: Mucosal Delivery of Fusion Glycoprotein with a CpG Oligodeoxynucleotide Adjuvant. *Journal of Virology*. 15 décembre 2003. Vol. 77, n° 24, pp. 13156-13160.

PRINGLE, Craig R. et EASTON, Andrew J., 1997. Monopartite Negative Strand RNA Genomes. *Seminars in Virology*. février 1997. Vol. 8, n° 1, pp. 49-57.

PROZZI, Deborah, WALRAVENS, Karl, LANGEDIJK, J. P., DAUS, Franz, KRAMPS, Johannes A. et LETESSON, Jean-Jacques, 1997. Antigenic and molecular analyses of the variability of bovine respiratory syncytial virus G glycoprotein. *Journal of general virology*. 1997. Vol. 78, n° 2, pp. 359–366.

RÄMET, Mika, KORPPI, Matti et HALLMAN, Mikko, 2011. Pattern recognition receptors and genetic risk for rsv infection: value for clinical decision-making? *Pediatric Pulmonology*. février 2011. Vol. 46, n° 2, pp. 101-110.

RIFFAULT, Sabine, MEYER, Gilles, DEPLANCHE, Martine, DUBUQUOY, Catherine, DURAND, Guillaume, SOULESTIN, Marion, CASTAGNÉ, Nathalie, BERNARD, Julie, BERNARDET, Philippe et DUBOSCLARD, Virginie, 2010. A new subunit vaccine based on nucleoprotein nanoparticles confers partial clinical and virological protection in calves against bovine respiratory syncytial virus. *Vaccine*. 2010. Vol. 28, n° 21, pp. 3722–3734.

ROBERTS, S. R., COMPANS, R. W. et WERTZ, G. W., 1995. Respiratory syncytial virus matures at the apical surfaces of polarized epithelial cells. *Journal of Virology*. avril 1995. Vol. 69, n° 4, pp. 2667-2673.

ROBERTS, S. R., LICHTENSTEIN, D., BALL, L. A. et WERTZ, G. W., 1994. The membrane-associated and secreted forms of the respiratory syncytial virus attachment glycoprotein G are synthesized from alternative initiation codons. *Journal of Virology*. juillet 1994. Vol. 68, n° 7, pp. 4538-4546.

- ROSENQUIST, Bruce D., 1974. Isolation of Respiratory Syncytial Virus from Calves with Acute Respiratory Disease. *Journal of Infectious Diseases*. 1 août 1974. Vol. 130, n° 2, pp. 177-182.
- SACCO, R. E., MCGILL, J. L., PILLATZKI, A. E., PALMER, M. V. et ACKERMANN, M. R., 2014. Respiratory Syncytial Virus Infection in Cattle. *Veterinary Pathology*. 1 mars 2014. Vol. 51, n° 2, pp. 427-436.
- SARMIENTO-SILVA, Rosa, NAKAMURA-LOPEZ, Yuko et VAUGHAN, Gilberto, 2012. Epidemiology, Molecular Epidemiology and Evolution of Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Viruses*. 30 novembre 2012. Vol. 4, n° 12, pp. 3452-3467.
- SCHLENDER, J., BOSSERT, B., BUCHHOLZ, U. J. et CONZELMANN, K.-K., 2000. Bovine respiratory syncytial virus nonstructural proteins NS1 and NS2 cooperatively antagonize alpha/beta interferon-induced antiviral response. *Journal of Virology*. septembre 2000. Vol. 74, n° 18, pp. 8234-42.
- SCHLENDER, J., WALLISER, G., FRICKE, J. et CONZELMANN, K.-K., 2002. Respiratory syncytial virus fusion protein mediates inhibition of mitogen-induced T-cell proliferation by contact. - PubMed - NCBI. *Journal of Virology*. fev 2002. Vol. 76, n° 3, pp. 1163-71.
- SCHMIDT, U., BEYER, J., POLSTER, U., GERSHWIN, L. J. et BUCHHOLZ, U. J., 2002. Mucosal Immunization with Live Recombinant Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) and Recombinant BRSV Lacking the Envelope Glycoprotein G Protects against Challenge with Wild-Type BRSV. *Journal of Virology*. 1 décembre 2002. Vol. 76, n° 23, pp. 12355-12359.
- SCHREIBER, P., MATHEISE, J. P., DESSY, F., HEIMANN, M., LETESSON, J. J., COPPE, P. et COLLARD, A., 2000. High mortality rate associated with bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infection in Belgian white blue calves previously vaccinated with an inactivated BRSV vaccine. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 2000. Vol. 47, n° 7, pp. 535-550.
- SCHRIJVER, R. S., LANGEDIJK, J. P., KEIL, G. M., MIDDEL, W. G., MARIS-VELDHUIS, M., VAN OIRSCHOT, J. T. et RIJSEWIJK, F. A., 1997. Immunization of cattle with a BHV1 vector vaccine or a DNA vaccine both coding for the G protein of BRSV. *Vaccine*. décembre 1997. Vol. 15, n° 17-18, pp. 1908-1916.
- SCHUNICHT, Oliver C., BOOKER, Calvin W., JIM, G. Kee, GUICHON, P. Timothy, WILDMAN, Brian K. et HILL, Bruce W., 2003. Comparison of a multivalent viral vaccine program versus a univalent viral vaccine program on animal health, feedlot performance, and carcass characteristics of feedlot calves. *The Canadian Veterinary Journal*. janvier 2003. Vol. 44, n° 1, pp. 43-50.
- SHARMA, R. et WOLDEHIWET, Z., 1991. Depression of lymphocyte responses to phytohaemagglutinin in lambs experimentally infected with bovine respiratory syncytial virus. *Research in Veterinary Science*. 1 mars 1991. Vol. 50, n° 2, pp. 152-156.
- SIGURS, Nele, BJARNASON, Ragnar, SIGURBERGSSON, Fridrik et KJELLMAN, Bengt, 2000. Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in Infancy Is an Important Risk Factor for Asthma and Allergy at Age 7. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. mai 2000. Vol. 161, n° 5, pp. 1501-1507.
- SIMOES, Eric A. F. et CARBONELL-ESTRANY, Xavier, 2003. Impact of severe disease caused by respiratory syncytial virus in children living in developed countries. *The Pediatric infectious disease journal*. 2003. Vol. 22, n° 2, pp. S13-S20.

SJÖLANDER, A., COX, J. C. et BARR, I. G., 1998. ISCOMs: an adjuvant with multiple functions. *Journal of Leukocyte Biology*. 1 décembre 1998. Vol. 64, n° 6, pp. 713-723.

SMITH-NOROWITZ, Tamar A., MANDAL, Mira, JOKS, Rauno, NOROWITZ, Levana T., WEAVER, Diana, DURKIN, Helen G., BLUTH, Martin H. et KOHLHOFF, Stephan, 2015. IgE anti-respiratory syncytial virus antibodies detected in serum of pediatric patients with asthma. *Human Immunology*. juillet 2015. Vol. 76, n° 7, pp. 519-524.

SPENDER, L. C., HUSSELL, T. et OPENSHAW, P. J., 1998. Abundant IFN-gamma production by local T cells in respiratory syncytial virus-induced eosinophilic lung disease. *The Journal of General Virology*. juillet 1998. Vol. 79 (Pt 7), pp. 1751-1758.

STELWAGEN, K., CARPENTER, E., HAIGH, B., HODGKINSON, A. et WHEELER, T. T., 2009. Immune components of bovine colostrum and milk. *Journal of Animal Science*. avril 2009. Vol. 87, n° 13 Suppl, pp. 3-9.

STEWART, R. S. et GERSHWIN, L. J., 1989a. Role of IgE in the pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus in sequential infections in vaccinated and nonvaccinated calves. *American Journal of Veterinary Research*. mars 1989. Vol. 50, n° 3, pp. 349-355.

STEWART, R. S. et GERSHWIN, L. J., 1989b. Detection of IgE antibodies to bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. mars 1989. Vol. 20, n° 4, pp. 313-323.

STOTT, E. J. et TAYLOR, G., 1985. Respiratory syncytial virus. Brief review. *Archives of Virology*. 1985. Vol. 84, n° 1-2, pp. 1-52.

STOTT, E. J., THOMAS, L. H., TAYLOR, G., COLLINS, A. P., JEBBETT, J. et CROUCH, S., 1984. A comparison of three vaccines against respiratory syncytial virus in calves. *Journal of hygiene*. 1984. Vol. 93, n° 02, pp. 251-261.

SULLENDER, Wayne M. et EDWARDS, Kimberly G., 1999. Mutations of Respiratory Syncytial Virus Attachment Glycoprotein G Associated with Resistance to Neutralization by Primate Polyclonal Antibodies. *Virology*. 10 novembre 1999. Vol. 264, n° 1, pp. 230-236.

SUTHERLAND, Karen A., COLLINS, Peter L. et PEEPLES, Mark E., 2001. Synergistic Effects of Gene-End Signal Mutations and the M2-1 Protein on Transcription Termination by Respiratory Syncytial Virus. *Virology*. 30 septembre 2001. Vol. 288, n° 2, pp. 295-307.

TAYLOR, Geraldine, BRUCE, Catriona, BARBET, Anthony F., WYLD, Sara G. et THOMAS, Lewis H., 2005. DNA vaccination against respiratory syncytial virus in young calves. *Vaccine*. janvier 2005. Vol. 23, n° 10, pp. 1242-1250.

TAYLOR, Geraldine, THOMAS, Lewis H., FURZE, Julie M., COOK, Roy S., WYLD, Sara G., LERCH, Robert, HARDY, Richard et WERTZ, Gail W., 1997. Recombinant vaccinia viruses expressing the F, G or N, but not the M2, protein of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) induce resistance to BRSV challenge in the calf and protect against the development of pneumonic lesions. *Journal of general virology*. 1997. Vol. 78, n° 12, pp. 3195-3206.

TAYLOR, G, THOMAS, L H, WYLD, S G, FURZE, J, SOPP, P et HOWARD, C J, 1995. Role of T-lymphocyte subsets in recovery from respiratory syncytial virus infection in calves. *Journal of Virology*. novembre 1995. Vol. 69, n° 11, pp. 6658-6664.

- TECHAARPORNKUL, S., BARRETTO, N. et PEEPLES, M. E., 2001. Functional analysis of recombinant respiratory syncytial virus deletion mutants lacking the small hydrophobic and/or attachment glycoprotein gene. *Journal of Virology*. août 2001. Vol. 75, n° 15, pp. 6825-6834.
- TENG, Michael N., WHITEHEAD, Stephen S. et COLLINS, Peter L., 2001. Contribution of the Respiratory Syncytial Virus G Glycoprotein and Its Secreted and Membrane-Bound Forms to Virus Replication in Vitro and in Vivo. *Virology*. octobre 2001. Vol. 289, n° 2, pp. 283-296.
- TENG, M. N. et COLLINS, P. L., 1998. Identification of the respiratory syncytial virus proteins required for formation and passage of helper-dependent infectious particles. *Journal of Virology*. juillet 1998. Vol. 72, n° 7, pp. 5707-5716.
- TENG, M. N. et COLLINS, P. L., 1999. Altered growth characteristics of recombinant respiratory syncytial viruses which do not produce NS2 protein. *Journal of Virology*. janvier 1999. Vol. 73, n° 1, pp. 466-473.
- THEURER, Miles E., LARSON, Robert L. et WHITE, Brad J., 2015. Systematic review and meta-analysis of the effectiveness of commercially available vaccines against bovine herpesvirus, bovine viral diarrhoea virus, bovine respiratory syncytial virus, and parainfluenza type 3 virus for mitigation of bovine respiratory disease complex in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2015. Vol. 246, n° 1, pp. 126-142.
- THOMAS, L. H., COOK, R. S., WYLD, S. G., FURZE, J. M. et TAYLOR, G., 1998. Passive protection of gnotobiotic calves using monoclonal antibodies directed at different epitopes on the fusion protein of bovine respiratory syncytial virus. *The Journal of Infectious Diseases*. avril 1998. Vol. 177, n° 4, pp. 874-880.
- THOMAS, L. H., STOTT, E. J., COLLINS, A. P., CROUCH, S. et JEBBETT, J., 1984. Infection of gnotobiotic calves with a bovine and human isolate of respiratory syncytial virus. Modification of the response by dexamethasone. *Archives of Virology*. 1984. Vol. 79, n° 1-2, pp. 67-77.
- THOMPSON, William W., SHAY, David K., WEINTRAUB, Eric, BRAMMER, Lynnette, COX, Nancy, ANDERSON, Larry J. et FUKUDA, Keiji, 2003. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA*. 8 janvier 2003. Vol. 289, n° 2, pp. 179-186.
- TIMSIT, E., LE DRÉAN, E., MAINGOURD, C., BELLOC, C., GUATTÉO, R., BAREILLE, N., SEEGER, H., DOUART, A., SELLAL, E. et ASSIÉ, S., 2009. Detection by real-time RT-PCR of a bovine respiratory syncytial virus vaccine in calves vaccinated intranasally. *The Veterinary Record*. 22 août 2009. Vol. 165, n° 8, pp. 230-233.
- TJØRNEHØJ, Kirsten, UTTENTHAL, \Aase, VIUFF, B., LARSEN, Lars Erik, RØNTVED, C. et RØNSHOLT, L., 2003. An experimental infection model for reproduction of calf pneumonia with bovine respiratory syncytial virus (BRSV) based on one combined exposure of calves. *Research in veterinary science*. 2003. Vol. 74, n° 1, pp. 55-65.
- TRIPP, Ralph A., JONES, Les P., HAYNES, Lia M., ZHENG, HaoQiang, MURPHY, Philip M. et ANDERSON, Larry J., 2001. CX3C chemokine mimicry by respiratory syncytial virus G glycoprotein. *Nature Immunology*. août 2001. Vol. 2, n° 8, pp. 732-738.
- TRUDEL, Dr M., NADON, F., SIMARD, C., BÉLANGER, F., ALAIN, R., SÉGUIN, C. et LUSSIER, G., 1989. Comparison of caprine, human and bovine strains of respiratory syncytial virus. *Archives of Virology*. mars 1989. Vol. 107, n° 1-2, pp. 141-149.

VALARCHER, Jean-François, BOURHY, Hervé, LAVENU, Agnès, BOURGES-ABELLA, Nathalie, ROTH, Maurice, ANDREOLETTI, Olivier, AVE, Patrick et SCHELCHER, François, 2001. Persistent Infection of B Lymphocytes by Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Virology*. décembre 2001. Vol. 291, n° 1, pp. 55-67.

VALARCHER, Jean-Francois, FURZE, Julie, WYLD, Sara, COOK, Roy, CONZELMANN, Karl-Klaus et TAYLOR, Geraldine, 2003. Role of alpha/beta interferons in the attenuation and immunogenicity of recombinant bovine respiratory syncytial viruses lacking NS proteins. *Journal of Virology*. août 2003. Vol. 77, n° 15, pp. 8426-8439.

VALARCHER, Jean-François, SCHELCHER, François et BOURHY, Hervé, 2000. Evolution of bovine respiratory syncytial virus. *Journal of virology*. 2000. Vol. 74, n° 22, pp. 10714-10728.

VALARCHER, Jean-Francois et TAYLOR, Geraldine, 2007. Bovine respiratory syncytial virus infection. *Veterinary Research*. mars 2007. Vol. 38, n° 2, pp. 153-180.

VALARCHER, J. F., FURZE, J., WYLD, S G, COOK, Roy S., ZIMMER, G., HERRLER, G. et TAYLOR, G., 2006. Respiratory syncytial virus (RSV) non- structural (NS) proteins as host range determinants: a chimeric bovine RSV with NS genes from human RSV is attenuated in interferon-competent bovine cells. *Journal of General Virology*. juin 2006. Vol. 87, n° 6, pp. 1659-67.

VAN DER POEL, W. H. M., BRAND, A., KRAMPS, J. A. et VAN OIRSCHOT, J. T., 1994. Respiratory syncytial virus infections in human beings and in cattle. *Journal of Infection*. septembre 1994. Vol. 29, n° 2, pp. 215-228.

VAN DER SLUIJS, Mirjam TW, KUHN, Eva M. et MAKOSCHEY, Birgit, 2010. A single vaccination with an inactivated bovine respiratory syncytial virus vaccine primes the cellular immune response in calves with maternal antibody. *BMC veterinary research*. 2010. Vol. 6, n° 1, pp. 2.

VANGEEL, Ilse, ANTONIS, Adriaan F.G., FLUESS, Manuela, RIEGLER, Lutz, PETERS, Andy R. et HARMEYER, Silke S., 2007. Efficacy of a modified live intranasal bovine respiratory syncytial virus vaccine in 3-week-old calves experimentally challenged with BRSV. *The Veterinary Journal*. novembre 2007. Vol. 174, n° 3, pp. 627-635.

Vetvac - A free online database of livestock veterinary vaccines, 2015. [en ligne]. [Consulté le 16 novembre 2015]. Disponible à l'adresse : <http://vetvac.org/>

VIDAL, Louis, 2014. *Dictionnaire Vidal*. Paris : Office de vulgarisation pharmaceutique.

VIGNES, J., 2002. *Infection expérimentale par le virus respiratoire syncytial bovin : application à l'évaluation de l'efficacité d'un vaccin*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT.

VIUFF, Birgitte, TJØRNEHØJ, Kirsten, LARSEN, Lars E., RØNTVED, Christine M., UTTENTHAL, Åse, RØNSHOLT, Leif et ALEXANDERSEN, Soren, 2002. Replication and Clearance of Respiratory Syncytial Virus: Apoptosis Is an Important Pathway of Virus Clearance after Experimental Infection with Bovine Respiratory Syncytial Virus. *The American Journal of Pathology*. décembre 2002. Vol. 161, n° 6, pp. 2195-2207.

VIUFF, B., UTTENTHAL, A., TEGTMEIER, C. et ALEXANDERSEN, S., 1996. Sites of replication of bovine respiratory syncytial virus in naturally infected calves as determined by in situ hybridization. *Veterinary Pathology*. juillet 1996. Vol. 33, n° 4, pp. 383-390.

WALSH, E. E., FALSEY, A. R. et SULLENDER, W. M., 1998. Monoclonal antibody neutralization escape mutants of respiratory syncytial virus with unique alterations in the attachment (G) protein. *The Journal of General Virology*. mars 1998. Vol. 79 (Pt 3), pp. 479-487.

WARIS, Matti E., TSOU, Cecilia, ERDMAN, Dean D., DAY, Diane B. et ANDERSON, Larry J., 1997. Priming with live respiratory syncytial virus (RSV) prevents the enhanced pulmonary inflammatory response seen after RSV challenge in BALB/c mice immunized with formalin-inactivated RSV. *Journal of virology*. 1997. Vol. 71, n° 9, pp. 6935-6939.

WELLIVER, R. C., WONG, D. T., SUN, M., MIDDLETON, E., VAUGHAN, R. S. et OGRA, P. L., 1981. The development of respiratory syncytial virus-specific IgE and the release of histamine in nasopharyngeal secretions after infection. *The New England Journal of Medicine*. 8 octobre 1981. Vol. 305, n° 15, pp. 841-846.

WERTZ, G. W., KRIEGER, M. et BALL, L. A., 1989. Structure and cell surface maturation of the attachment glycoprotein of human respiratory syncytial virus in a cell line deficient in O glycosylation. *Journal of Virology*. novembre 1989. Vol. 63, n° 11, pp. 4767-4776.

WEST, Keith, PETRIE, Lyall, HAINES, Deborah M, KONOBY, Carrie, CLARK, Edward G, MARTIN, Karen et ELLIS, John A, 1999. The effect of formalin-inactivated vaccine on respiratory disease associated with bovine respiratory syncytial virus infection in calves. *Vaccine*. février 1999. Vol. 17, n° 7-8, pp. 809-820.

WHITEHEAD, S. S., BUKREYEV, A., TENG, M. N., FIRESTONE, C. Y., ST CLAIRE, M., ELKINS, W. R., COLLINS, P. L. et MURPHY, B. R., 1999. Recombinant respiratory syncytial virus bearing a deletion of either the NS2 or SH gene is attenuated in chimpanzees. *Journal of Virology*. avril 1999. Vol. 73, n° 4, pp. 3438-3442.

WOLDEHIWET, Z. et SHARMA, R., 1992. Evidence of immunosuppression by bovine respiratory syncytial virus. *Scandinavian Journal of Immunology. Supplement*. 1992. Vol. 11, pp. 75-80.

WOOLUMS, Amelia R., BROWN, Corrie C., BROWN JR, James C., COLE, Dana J., SCOTT, Melissa A., WILLIAMS, Shamita M. et MIAO, Congrong, 2004. Effects of a single intranasal dose of modified-live bovine respiratory syncytial virus vaccine on resistance to subsequent viral challenge in calves. *American Journal of Veterinary Research*. 1 mars 2004. Vol. 65, n° 3, pp. 363-372.

WOOLUMS, Amelia R, GUNTHER, Robert A, MCARTHUR-VAUGHAN, Kerrie, ANDERSON, Mark L, OMLOR, Amanda, BOYLE, Gabrielle A, FRIEBERTSHAUSER, Kathy E, MCINTURFF, Pat S et GERSHWIN, Laurel J, 2004. Cytotoxic T lymphocyte activity and cytokine expression in calves vaccinated with formalin-inactivated bovine respiratory syncytial virus prior to challenge. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. janvier 2004. Vol. 27, n° 1, pp. 57-74.

WUNNER, W. H. et PRINGLE, Craig R., 1976. Respiratory syncytial virus proteins. *Virology*. 1976. Vol. 73, pp. 228-243.

XUE, Wenzhi, ELLIS, John, MATTICK, Debra, SMITH, Linda, BRADY, Ryan et TRIGO, Emilio, 2010. Immunogenicity of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhoea virus types 1 and 2, infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus when administered intranasally in young calves. *Vaccine*. mai 2010. Vol. 28, n° 22, pp. 3784-3792.

YUNUS, A. S., COLLINS, P. L. et SAMAL, S. K., 1998. Sequence analysis of a functional polymerase (L) gene of bovine respiratory syncytial virus: determination of minimal trans-acting

requirements for RNA replication. *The Journal of General Virology*. septembre 1998. Vol. 79 (Pt 9), pp. 2231-2238.

ZHANG, Jie, SILVESTRI, Nicole, WHITTON, J. Lindsay et HASSETT, Daniel E., 2002. Neonates mount robust and protective adult-like CD8(+)-T-cell responses to DNA vaccines. *Journal of Virology*. décembre 2002. Vol. 76, n° 23, pp. 11911-11919.

ZHANG, Liqun, PEEPLES, Mark E., BOUCHER, Richard C., COLLINS, Peter L. et PICKLES, Raymond J., 2002. Respiratory Syncytial Virus Infection of Human Airway Epithelial Cells Is Polarized, Specific to Ciliated Cells, and without Obvious Cytopathology. *Journal of Virology*. juin 2002. Vol. 76, n° 11, pp. 5654-5666.

ZHAO, Xiaodong, LIU, Enmei, CHEN, Fu-Ping et SULLENDER, Wayne M., 2006. In Vitro and In Vivo Fitness of Respiratory Syncytial Virus Monoclonal Antibody Escape Mutants. *Journal of Virology*. décembre 2006. Vol. 80, n° 23, pp. 11651-11657.

ZHAO, Xun, SINGH, Mona, MALASHKEVICH, Vladimir N. et KIM, Peter S., 2000. Structural characterization of the human respiratory syncytial virus fusion protein core. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 19 décembre 2000. Vol. 97, n° 26, pp. 14172-14177.

ZHU, Qing, MCAULIFFE, Josie M., PATEL, Nita K., PALMER-HILL, Frances J., YANG, Chin-fen, LIANG, Brandon, SU, Lan, ZHU, Wei, WACHTER, Leslie, WILSON, Susan, MACGILL, Randall S., KRISHNAN, Subramaniam, MCCARTHY, Michael P., LOSONSKY, Genevieve A. et SUZICH, JoAnn A., 2011. Analysis of Respiratory Syncytial Virus Preclinical and Clinical Variants Resistant to Neutralization by Monoclonal Antibodies Palivizumab and/or Motavizumab. *The Journal of Infectious Diseases*. 1 mars 2011. Vol. 203, n° 5, pp. 674-682.

ZIMMER, G., CONZELMANN, K.-K. et HERRLER, G., 2002. Cleavage at the Furin Consensus Sequence RAR/KR109 and Presence of the Intervening Peptide of the Respiratory Syncytial Virus Fusion Protein Are Dispensable for Virus Replication in Cell Culture. *Journal of Virology*. 15 septembre 2002. Vol. 76, n° 18, pp. 9218-9224.

ZIMMER, Gert, BUDZ, Linda et HERRLER, Georg, 2001. Proteolytic Activation of Respiratory Syncytial Virus Fusion Protein Cleavage at Fwo Furine Consensus Sequence. *Journal of Biological Chemistry*. 24 août 2001. Vol. 276, n° 34, pp. 31642-31650.

ZIMMER, Gert, ROHN, Michael, MCGREGOR, Gerard P., SCHEMANN, Michael, CONZELMANN, Karl-Klaus et HERRLER, Georg, 2003. Virokinin, a bioactive peptide of the tachykinin family, is released from the fusion protein of bovine respiratory syncytial virus. *The Journal of Biological Chemistry*. 21 novembre 2003. Vol. 278, n° 47, pp. 46854-46861.

ZYGRAICH, N., 1982. Vaccination against RS virus: a five year experience with Rispoval. In : *Proceedings [of the] XIIth World Congress on Diseases of Cattle*. Internationaal Congrescentrum RAI, Amsterdam, the Netherlands : World Association for Buiatrics. 7 septembre 1982. pp. 189-195.

ANNEXES

Annexe 1 : Vaccins contenant une valence VRSB disponibles en France en 2015.

Dénomination commerciale (laboratoire)	Type	Souche	Adjuvant	Voie d'administration	Valences supplémentaires	Protocole	Date d'obtention de l'AMM
Rispoval RS (Zoetis)	Vivant atténué	Souche RB 94, >10 ^{5.5} DICT ₅₀	aucun	Injection intramusculaire	PI3	À partir d'une semaine, 2 injections de 2 mL à 4-6 semaines d'intervalle	1983
Rispoval RS BVD (Zoetis)					BVD		1988
Rispoval 4 (Zoetis)	Vivant	Souche 375 >10 ⁵ à DICC ₅₀	Hydroxyde d'aluminium	Injection intramusculaire	BVD, PI3, IBR	À partir de 3 mois d'âge, 2 injections de 5 mL à 3-4 semaines d'intervalle	2000
Rispoval 3 (Zoetis)					BVD, PI3		2003
Rispoval intranasal (Zoetis)	Vivant modifié	Souche 375, 10 ⁵ à 10 ^{7.2} DICC ₅₀	aucun	Instillation ou nébulisation intranasale	PI3	À partir de 9 jours d'âge, administration unique de 2 mL	2006
Bovilis Bovigrip (MSD- Intervet)	Inactivé au formaldéhyde	EV 908 1,98 à 4,16 unités VN	Quil A Hydroxyde d'aluminium	Injection sous-cutanée	PI3, <i>Mannheimia haemolytica</i>	À partir de 2 semaines d'âge, 2 injections de 5 mL à 4 semaines d'intervalle	2002
Bovalto Respi 4 (Merial)					BVD, PI3, <i>Mannheimia haemolytica</i>		
Bovalto Respi 3 (Merial)	Inactivé	Bio-24	Quil A Hydroxyde d'aluminium	Injection sous-cutanée	PI3, <i>Mannheimia haemolytica</i>	À partir de 2 semaines d'âge, 2 injections de 2 mL à 3 semaines d'intervalle, rappel à 6 mois	11/2015

Annexe 3 : Comparaison des techniques d'inoculation, souches et leur résultat

extrait de Gershwin et al., 2008

Group	Calf age/colostrum status	Method of infection	Virus isolate used	Severity of disease	References
MSU	2-3 days, conventional	IT and IN for 4 days	Field isolate	Increased pulmonary resistance and airways hyperreactivity	LeBlanc <i>et al.</i> , 1991
MSU	1 month conventional	IT and IN for 4 days	Field isolate	Moderate to severe	Ciszewski <i>et al.</i> , 1991
IAH	10 days, gnotobiotic, seronegative	IT and IN	Snook strain, cell propagated	Mild	Taylor, 1995
UCD	6-8 weeks, conventional	Aerosol	Field (CA-1), low passage, freshly tissue culture harvested	Moderate to severe	Woolums <i>et al.</i> , 1999b
UCD	6-8 weeks, conventional	Aerosol	ATCC strain	Mild	Stewart and Gershwin, 1989
UU	6 weeks, caesarian derived, colostrum deprived	Intranasal	Field isolate (Odijk) not tissue culture passed	Mild	Van der Poel <i>et al.</i> , 1994
CVI	3-4 weeks, SPF, +/- colostrum deprived	IT and IN for 4 days	Field, frozen	Mild	Kimman <i>et al.</i> , 1987
FIHPCV	17-24 days	Aerosol	Field isolate	Mild	Otto <i>et al.</i> , 1996
US	6 months isolation reared	Aerosol	Field isolate (Asquith) in lung wash from newborn calves	Moderate to severe	West <i>et al.</i> , 1998

MSU=Michigan State University, UCDC=University of California, Davis, UU=University of Utrecht, The Netherlands, CVI=Central Veterinary Institute, Lelystad, The Netherlands, University of Saskatoon, Canada, FIHPCV=Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, Germany, IAH=Institute of Animal Health, Compton, England. IT=intratracheal and IN=intranasal.

TOULOUSE, 2015

NOM : CUQUEMELLE

PRENOM : Antoine

TITRE : Protection des veaux contre le virus respiratoire syncytial bovin (VRSB) par le transfert de l'immunité maternelle : apport de la vaccination des mères en fin de gestation

RESUME :

Le virus respiratoire syncytial bovin (VRSB) est un agent pathogène majeur des bronchopneumonies infectieuses des jeunes bovins. La vaccination des veaux contre le VRSB est fréquemment utilisée en élevage, elle permet une protection au plus tôt vers 15-20 jours d'âge. L'objectif de cette thèse était d'évaluer la protection contre le VRSB chez les très jeunes veaux par la vaccination des mères en fin de gestation et le transfert de l'immunité maternelle. Deux groupes de 14 veaux, ayant reçu ou non un colostrum de vaches vaccinées en fin de gestation par un vaccin inactivé (Bovilis Bovigrip®, MSD Santé Animale), ont été infectés à trois semaines d'âge par une souche sauvage 3761 de VRSB. La vaccination des vaches gestantes, séronégatives en VRSB, a induit une forte réponse en anticorps anti VRSB après la 2^e injection de vaccin. Elle a permis, après transfert du colostrum, de protéger partiellement mais significativement les veaux contre la maladie, et notamment les formes cliniques sévères. Les anticorps colostraux n'empêchent cependant pas la réplication du virus d'épreuve dans les sécrétions nasales, et donc sa transmission.

MOTS CLES : virus respiratoire syncytial bovin, VRSB, veaux, colostrum, immunité passive, vaccination

TITLE : Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) protection provided by BRSV-maternal antibodies of cows immunized at late pregnancy with a BRSV inactivated vaccine

ABSTRACT :

Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) is a major pathogen of young calves, involved in the bovine respiratory disease complex (BRD). To date, BRSV vaccination of young calves induces a protection as soon as 2 to 3 weeks of age. This study aims to confirm the hypothesis that maternal antibodies from cows previously vaccinated with an inactivated BRSV vaccine (Bovilis Bovigrip®) protect very young calves, after colostrum intake, against a bovine respiratory syncytial virus (BRSV) challenge. Two groups of three week-old calves, fed with the colostrum of vaccinated or non-vaccinated pregnant cows, were challenged with a BRSV 3761 French strain. Vaccination of seronegative cows in late pregnancy was followed by the development of a strong BRSV antibody response. Provided that colostrum is efficiently transferred to calves, vaccination of pregnant cows induces partial but significant clinical protection of the calves against the BRSV disease, especially against severe respiratory signs. Finally, the calves fed with the colostrum of vaccinated cows were not protected against BRSV replication in their nasal cavities. There is no protection against BRSV shedding and contamination.

KEYWORDS : Bovine respiratory syncytial virus, BRSV, calves, colostrum, passive immunity, vaccination inactivated vaccine