

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHESE

Avantages et inconvénients d'un plan de lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine en Belgique

LIMBOURG B.^{1†}, KERKHOFS P.², MASSARD C.³, MICHELET S.⁴, SAEGERMAN C.⁵, THIRY E.⁶

Association d'Epidémiologie et de Santé Animale (AESa)

1 Centre de prévention et de guidance vétérinaire, La Namuroise, B-5590 Ciney

2 Département de virologie, Centre d'Etudes et de Recherches vétérinaires et agrochimiques, B-1180 Bruxelles.

3 Médecin vétérinaire, B-6900 Marche-en-Famenne

4 Centre de prévention et de guidance vétérinaire, Falmalux, B-6900 Marloie

5 Services vétérinaires, Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, B-1000 Bruxelles

6 Département des maladies infectieuses et parasitaires, Virologie-Epidémiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, B-4000 Liège.

† In memoriam, décédé tragiquement le 8 avril 2001.

Correspondance : Etienne.thiry@ulg.ac.be

RESUME : Un groupe de travail de l'Association d'Epidémiologie et de Santé Animale a évalué la stratégie de lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine (*infectious bovine rhinotracheitis*, IBR) qui pourrait être initiée en Belgique et en a étudié la faisabilité et les modalités d'application. L'épidémiologie de l'IBR en Belgique, la vaccination, les méthodes de dépistage, les aspects économiques de la lutte contre l'IBR, les dispositions légales en matière d'IBR en Belgique et les motivations des acteurs du terrain ont été décrits. Les avantages et inconvénients de trois modalités ont été analysés : le maintien de la position actuelle, la protection clinique des bovins et le contrôle suivi de l'éradication de l'IBR.

INTRODUCTION

Un groupe de travail de l'Association d'Epidémiologie et de Santé animale a évalué la stratégie de lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine (*infectious bovine rhinotracheitis*, IBR) qui pourrait être initiée en Belgique et en a étudié la faisabilité et les modalités d'application.

Un plan de lutte contre l'IBR a été évoqué en Belgique dès le début des années 90, mais le concept a pris son réel envol lors d'un colloque sur l'IBR organisé le 1^{er} octobre 1996 à Bruxelles, qui était intitulé : « La Belgique en route vers un statut exempt d'IBR ». La première mesure concrète fut d'autoriser l'usage exclusif des vaccins ne possédant pas la glycoprotéine gE, apportant ainsi un marqueur pour différencier les animaux vaccinés de ceux infectés de manière naturelle. Depuis lors, la décision d'instaurer un programme de lutte contre l'IBR en Belgique reste subordonnée à l'acquisition de

nouvelles connaissances sur le contrôle de cette infection.

Cet article est la synthèse des éléments abordés au cours des réunions du groupe de travail. Il ne reprend pas de données sur la maladie elle-même, la pathogénie de l'infection et le virus causal, l'herpèsvirus bovin 1 (*bovine herpesvirus 1*; BoHV-1). Ces informations sont disponibles dans plusieurs articles de revue (Pastoret *et al.*, 1984 ; Lemaire *et al.*, 1994 ; Thiry *et al.*, 1997b ; 1999). Par contre, il envisage l'épidémiologie de l'IBR en Belgique, la vaccination et les méthodes de diagnostic sérologique, les aspects micro- et macro-économiques de l'infection et les plans de lutte organisés dans certains centres en Belgique. Un chapitre est consacré à la motivation des acteurs sur le terrain, éleveurs et vétérinaires, condition essentielle à la réussite d'un plan de lutte. Sur base de ces éléments, des recommandations sont émises pour l'instauration éventuelle d'un plan de lutte.

EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE ET ANALYTIQUE DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE EN BELGIQUE

PRÉVALENCE

Une étude séro-épidémiologique a été menée en 1986 sur des mélanges de sérums sanguins de bovins de plus d'un an appartenant à la même exploitation, récoltés au cours des suivis officiels contre la brucellose et la leucose (Van Malderen *et al.*, 1987) ; 62 % des exploitations belges étaient séropositives envers le BoHV-1. En 1990-1991, la séroprévalence intra-troupeau variait de 0 à 90 % sur base d'une étude réalisée sur des sérums sanguins individuels de tous les bovins de plus d'un an d'une quinzaine d'exploitations de sélection et prélevés au cours des suivis officiels contre la brucellose (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture,

1998). Dans le cadre d'échantillonnages aléatoires systématiques de sérums sanguins individuels de bovins de plus d'un an, prélevés au cours des suivis officiels contre la brucellose, en 1991-1992, $52 \pm 6\%$ (intervalle de confiance à 95%) des bovins de Wallonie, excepté ceux de la province de Luxembourg, étaient séropositifs par un ELISA reconnaissant la gB de BoHV-1 (Limbourg, résultats non publiés). En 1992-1993, $57 \pm 5\%$ des bovins de Wallonie, province de Luxembourg incluse, étaient séropositifs envers la gB du BoHV-1 (Lemaire *et al.*, 1997). Une autre étude a porté sur un échantillonnage aléatoire en grappe par taille des troupeaux, de sérums sanguins individuels de tous les bovins de plus d'un an des exploitations wallonnes d'au moins 20 animaux et prélevés au cours des suivis officiels contre la brucellose (Lemaire *et al.*, 1997) : en 1994-1995, $63,7 \pm 9,1\%$ des bovins de Wallonie étaient séropositifs envers la gB de BoHV-1. La séroprévalence intra-troupeau variait de 7,5 à 100 % avec une moyenne générale de $50,9 \pm 31\%$. La moyenne globale de séroprévalence intra-troupeau était de $37,5 \pm 25,4\%$ pour les troupeaux sans plan de vaccination ; elle était de $66 \pm 28,1\%$ pour les troupeaux avec plan de vaccination.

L'enquête sérologique la plus récente a été réalisée sur un échantillonnage aléatoire stratifié par province de tous les bovins des troupeaux dans tout le pays (475 troupeaux et 24125 bovins) (Boelaert *et al.*, 2000). Durant l'hiver 97-98 et dans le groupe des exploitations ne pratiquant pas de vaccination IBR, la séroprévalence globale des troupeaux fut estimée à $67 \pm 5\%$, tandis que la séroprévalence individuelle est de $35,9 \pm 0,9\%$ et la médiane de la séroprévalence intratroupeau est de 33% (quartiles : 14-62) (Boelaert *et al.*, 2000). Dans la même étude, mais non publiée par les auteurs, les réponses sérologiques envers les glycoprotéines gB et gE ont été comparées. On peut observer que 56% des bovins belges sont séropositifs envers la gB de BoHV-1 dont 13% sont (gB+, gE-) et 43% (gB+, gE+); 72,4% des troupeaux renferment au moins un animal (gB+, gE-). Plus de la moitié de ceux-ci disent n'avoir jamais vacciné. En outre, 2,3% des troupeaux belges abritent 100% de bovins (gB+, gE+), sans avoir jamais pratiqué de vaccination. Par contre,

20% des troupeaux ne renferment que des animaux (gB-, gE-) et peuvent donc être considérés indemnes. Enfin 100% des exploitations avec des antécédents de vaccination renferment encore au moins un animal séropositif gE+.

La confrontation des résultats sérologiques envers gB et gE, en corrélation avec les renseignements anamnestiques et le statut estimé des animaux pose problème dans 5% des examens sérologiques individuels, avec pour conséquence que 14% des troupeaux testés abritent au moins un faux négatif envers gB ou un faux positif envers gE et que dans les troupeaux sans antécédent de vaccination, 42% possèdent au moins un faux négatif envers gE ou un faux positif envers gB.

INCIDENCE

A partir des sérums individuels de bovins de plus d'un an de 24 troupeaux, prélevés au cours des suivis officiels contre la brucellose, issus d'un échantillonnage aléatoire en grappe par taille de troupeaux de toutes les exploitations bovines d'au moins 20 animaux et étudiés au cours des hivers 94-95 et 95-96, on peut estimer le taux d'incidence à 43 par 100 animaux-année à risque (Lemaire *et al.*, 1997). En conclusion, l'incidence de la séroconversion envers le BoHV-1 est élevée.

FACTEURS DE RISQUE

Les données de la littérature concernent presque exclusivement les troupeaux laitiers (Wentink *et al.*, 1993; Van Schaik *et al.*, 1998). Seules les études de type longitudinal permettent de révéler un lien de cause à effet. Les facteurs de risque classiquement identifiés sont liés soit au troupeau, soit aux animaux, soit aux contacts.

Les facteurs de risque liés au troupeau sont :

- fréquence de contact avec d'autres troupeaux (introduction d'animaux achetés, concours et voisins) ou avec les visiteurs (marchands et soignants) ou avec des animaux d'espèces différentes et porteurs indirects;
- proportion d'animaux de plus de 24 mois;
- séroprévalence intra-troupeau avec les facteurs qui l'influencent :

- le type de vaccin utilisé (inactivé, atténué et délété ou non);
- les souches virales circulantes;
- type de production (laitier, allaitant et mixte);
- taille du troupeau (mais peut-être confondue avec le nombre de visiteurs);
- densité de troupeaux dans l'entité géographique (taux par km² et distance entre les troupeaux);
- degré d'information et de motivation de l'exploitant (programme de contrôle de l'infection, fréquence des tests de suivi et mesures d'accompagnement spécifiques).

Les facteurs de risque liés aux animaux sont :

- âge;
- sexe;
- statut immun;
- exposition à des stimuli de réactivation.

D'autres facteurs de risque sont liés aux contacts avec :

- d'autres bovins;
- d'autres espèces animales (ovins, rongeurs et porcs);
- des humains;
- des outils ou ustensiles (matériel de traite, de contention dont la pince mouchette, de soins, d'insémination artificielle et vêtements de travail dont les bottes et le tablier);
- des aliments ou de l'eau contaminée ou par voie aérienne.

MAÎTRISE DES FACTEURS DE RISQUE

Les actions de maîtrise des facteurs de risque seront internes aux troupeaux :

- protocole de vaccination limitant l'infection et la réactivation-réexcrétion;
- mesures sanitaires et d'accompagnement;
- baisse de la pression d'infection interne par la réforme des animaux séropositifs.

D'autres actions seront aussi externes aux troupeaux :

- maîtrise des contacts extérieurs;
- baisse de la pression d'infection externe par la mise en œuvre d'un plan de contrôle régional ou national.

LA VACCINATION CONTRE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE

Les vaccins dirigés contre l'IBR existent depuis longtemps et ont démontré leur efficacité dans la prévention des signes cliniques associés au BoHV-1. Cette approche prophylactique subit actuellement une mutation profonde. Dorénavant, les vaccins ne sont plus seulement destinés à protéger les bovins des maladies induites par le BoHV-1, mais ils sont également utilisés pour réduire la circulation du virus, dans la cadre de plans de contrôle de l'infection soit individuels, soit collectifs (Thiry *et al.*, 1997a, 1997c). La commercialisation récente des vaccins marqués a modifié l'approche de la vaccination contre le BoHV-1. Ces vaccins sont constitués de virus délétés dans le gène codant pour la glycoprotéine gE (pour une revue, voir Schynts *et al.*, 1998). Un examen sérologique permet de différencier les animaux séro-négatifs envers gE (animaux vaccinés à l'aide du vaccin marqué) des bovins séropositifs (animaux infectés naturellement). Seuls les vaccins marqués sont autorisés à l'heure actuelle en Belgique.

INNOCUITE

En ce qui concerne la sécurité d'emploi, les vaccins gE négatifs ont facilement réussi les tests d'innocuité obligatoires selon la directive européenne 92/18 (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 1992).

Vaccin inactivé

La vaccination à l'aide du vaccin inactivé apporte une plus grande sécurité d'emploi puisque, par définition, le virus inactivé est tué et ne peut pas s'installer à l'état latent, ni être impliqué dans des phénomènes de recombinaison. Un essai de terrain mené aux Pays-Bas a montré que le vaccin inactivé avait un léger effet négatif sur la production laitière qui a été considéré comme négligeable (Bosch *et al.*, 1997).

Vaccin atténué

Transmission après administration intranasale. Le virus vaccinal est excrété après vaccination intranasale (Kaashoek *et al.*, 1994 ; Lemaire *et al.*, 2000b). Cependant, la transmis-

sion n'est pas démontrée entre animal vacciné et animal indemne, en conditions expérimentales (Mars *et al.*, 2000).

Transmission après administration intramusculaire. La transmission du virus vaccinal n'est pas démontrée en fermes (Van der Poel et Hage, 1998) et en conditions expérimentales (Mars *et al.*, 2000).

Réactivation-réexcrétion. Des résultats contradictoires existent à propos de la réactivation et de la réexcrétion de la souche vaccinale gE négative. Les études néerlandaises démontrent l'installation à l'état latent, mais ne sont pas en mesure de mettre en évidence la réexcrétion du virus vaccinal après vaccination intranasale ou intramusculaire (Kaashoek *et al.*, 1994 ; Mars *et al.*, 2000). Cependant, Straub et collaborateurs (1996), Kerkhofs et collaborateurs (résultats non publiés) et Lemaire et collaborateurs (2001) sont parvenus à reproduire expérimentalement la réexcrétion du virus gE négatif après vaccination par voie intranasale et traitement expérimental des veaux à l'aide de glucocorticoïdes. La différence entre les résultats obtenus repose sur le délai très court entre la primo-infection et le traitement de réactivation dans les études néerlandaises. Après sept semaines, en effet, la réponse immune développée après primo-infection est encore suffisante pour neutraliser le virus de réactivation. L'effet est encore plus important envers la souche vaccinale qui, par son caractère gE négatif, se dissémine plus difficilement dans les tissus.

Recombinaison. Le risque épidémiologique d'une recombinaison génétique entre souches de BoHV-1 au niveau de la muqueuse nasale de bovins simultanément vaccinés par un vaccin vivant négatif en gE et infectés par une souche virale sauvage doit être posé. Des résultats préliminaires démontrent que la fréquence de virus recombinants obtenus dans de telles circonstances est très élevée. Il faut évaluer le risque épidémiologique lié aux souches recombinantes (Schynts *et al.*, 2001).

Contamination par des agents étrangers. Plusieurs lots de vaccins gE négatifs vivants produits par la firme Bayer se sont révélés contaminés par du virus BVD. Une souche de génotype II, particulièrement pathogène, a

été responsable de 500 morts ou euthanasies dans 12 troupeaux vaccinés avec le lot contaminé. La cause de la contamination réside dans l'utilisation de sérum de fœtus bovin dans le milieu de culture, dont le contrôle manque de sensibilité (Falcone *et al.*, 1999). La prévention de ce type d'accident repose sur l'utilisation exclusive de sérums bovins inactivés pour la production des vaccins.

La vaccination n'altère pas la qualité du sperme de taureaux d'insémination. De plus, aucun effet abortif n'a pu être mis en évidence.

EFFICACITE

La vaccination contre l'IBR doit rencontrer deux critères d'efficacité: la protection clinique contre les conséquences néfastes de l'infection et la protection virologique contre la circulation de virus. Cette dernière est la qualité requise pour les vaccins destinés à la lutte collective contre l'IBR. Aucun vaccin actuel ne peut assurer une protection virologique complète. Il faut lui associer un protocole de vaccinations répétées, plus contraignant que le programme de vaccination conventionnel. Il faut aussi le compléter par de strictes mesures sanitaires et hygiéniques qui diminuent le risque de contamination.

Protection clinique

Un animal vacciné de manière conventionnelle, c'est-à-dire par deux injections de vaccin vivant ou inactivé à 21 jours d'intervalle, est protégé contre les signes cliniques (Kaashoek *et al.*, 1994 ; 1995 ; Strube *et al.*, 1996). Il reste cependant sensible à l'infection par le BoHV-1. Lors d'une infection, il n'est pas malade, mais excrète le virus infectieux durant 10 à 14 jours et dissémine le virus à ses congénères. De plus, à l'issue de cette période d'excrétion virale, l'animal devient porteur latent du virus pour sa vie entière. La vaccination d'un animal indemne ne prévient donc pas une infection ultérieure et une installation ultérieure du virus à l'état latent. De plus, la vaccination d'un animal porteur latent du BoHV-1 ne modifie pas l'état de latence du virus, mais peut influencer le niveau de virus réexcrété lors de réactivation virale. Les vaccins vivants conventionnels administrés par voie intranasale étaient

capables de prévenir les signes cliniques d'IBR dès 48 à 72 heures après injection.

Protection virologique

Dans la perspective de l'utilisation du vaccin dans un programme de contrôle de l'IBR, la protection virologique doit être atteinte chez des animaux indemnes pour prévenir l'excrétion virale et, chez les animaux porteur latents du BoHV-1, afin de prévenir la réexcrétion virale. Pour être efficace, le protocole de vaccination est intensif, avec des rappels tous les six mois.

Vaccin inactivé

Efficacité envers une primo-infection.

La vaccination à l'aide du vaccin marqué gE négatif inactivé prévient les signes cliniques et diminue l'excrétion du virus d'épreuve, mais pas à un niveau suffisant pour empêcher sa transmission aux bovins voisins (Kaashoek *et al.*, 1995). Même l'utilisation de protocoles de vaccination plus intenses n'y parviennent pas : 3 ou 4 injections sous-cutanées, à 4 à 6 mois d'intervalle, d'un vaccin conventionnel inactivé contenant le virus entier ne prévient pas la multiplication virale après une primo-infection ultérieure (Lemaire et Thiry, 1995).

Efficacité envers la circulation virale.

L'efficacité d'une vaccination intense à l'aide d'un vaccin inactivé gE négatif (une primo-vaccination consistant en deux injections à 4 semaines d'intervalle, suivie d'un rappel 6 mois plus tard) a été étudiée dans des conditions réelles de terrain aux Pays-Bas. Cette étude, qui a duré un an, a montré une incidence significativement moindre de séroconversions gE envers le BoHV-1 chez le groupe vacciné que chez les témoins placebo. La circulation de virus n'est pas empêchée, mais diminuée (Bosch *et al.*, 1996). Dans un essai plus limité, mais mieux décrit, l'impact du vaccin inactivé délété en gE sur la circulation et la transmission virale au sein d'un troupeau a été étudiée. La circulation virale a été deux fois moins importante dans les troupeaux vaccinés que dans les troupeaux témoins non vaccinés (Bosch *et al.*, 1995).

Efficacité envers la réexcrétion virale.

La réexcrétion de virus infectieux a été prévenue chez des animaux séropositifs vaccinés au préa-

lable deux fois à l'aide d'un vaccin inactivé conventionnel (Lemaire et Thiry, 1995). Ces résultats permettent de conclure qu'un tel protocole de vaccination apporte une aide indéniable au contrôle de l'IBR, mais ne peut garantir un arrêt complet de l'excrétion et de la réexcrétion virale chez les bovins subissant une réinfection ou un épisode de réactivation.

Vaccin atténué

Efficacité envers une primo-infection.

La préparation vaccinale atténuée, administrée par voie intranasale ou intramusculaire à 4 semaines d'intervalle, induit une meilleure protection que la préparation vaccinale inactivée (Bosch *et al.*, 1996). En effet, la préparation vaccinale atténuée n'a pas seulement réduit ou supprimé les signes cliniques de la maladie, mais elle a également diminué la quantité de virus excrété dans les sécrétions nasales après épreuve virulente. Un vaccin combiné (BoHV-1 gE négatif, virus RSB, virus PI-3 bovin) réduit les signes cliniques et l'excrétion virale après épreuve virulente (Mars *et al.*, 2000).

Efficacité envers la circulation virale.

Le vaccin marqué atténué gE négatif permet la réduction de la transmission du virus de bovins infectés à bovins indemnes et même empêche cette circulation dans une expérience comprenant un nombre limité d'animaux (Van Oirschot *et al.*, 1996). Les études néerlandaises de terrain ont été effectuées exclusivement dans des élevages laitiers. Le vaccin atténué gE négatif administré par voie intramusculaire réduit l'incidence de la séroconversion envers gE, et donc de la transmission virale, chez les troupeaux vaccinés par rapport aux troupeaux placebo, non vaccinés (Mars *et al.*, 2000). L'essai terrain belge s'est déroulé dans des conditions plus drastiques que les essais néerlandais (Bosch *et al.*, 1996 ; Mars *et al.*, 2000). En effet, le groupe contrôle n'est pas un groupe placebo, mais on y maintient les protocoles de vaccination tels qu'ils existaient auparavant, sauf que, si des vaccins IBR sont utilisés, seuls les vaccins marqués sont autorisés. Donc, ils représentent mieux la situation réelle. Il est évident que, dans de telles conditions, il est plus difficile de mettre des différences significatives en évidence, que dans les conditions dans lesquelles

les essais néerlandais ont été réalisés. Dans l'essai de terrain belge, les conclusions actuelles montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les protocoles utilisant uniquement le vaccin inactivé et ceux associant vaccins atténué et inactivé. Il indique cependant que la diminution de prévalence de bovins séropositifs envers gE est plus rapide chez les troupeaux laitiers que chez les troupeaux mixtes (Dispas, Kerkhofs et Thiry, résultats non publiés).

Efficacité envers la réexcrétion virale.

Le vaccin vivant gE négatif, administré deux fois à des veaux infectés préalablement et donc porteurs latents, réduit considérablement la réexcrétion virale après traitement aux glucocorticoïdes (Bosch *et al.*, 1997).

NOUVELLES APPROCHES VACCINALES

De nouveaux vaccins, inactivés ou atténués, possédant le marqueur gE négatif seront bientôt disponibles en Belgique et en Europe. Cependant, ils ne révolutionneront pas la vaccination contre l'IBR. Les nouvelles approches vaccinales doivent donc, à court terme, privilégier l'amélioration des protocoles de vaccination. Par exemple, des combinaisons nouvelles pourraient être plus immunogènes, comme la première vaccination réalisée avec le vaccin atténué, suivie par une deuxième vaccination avec le vaccin inactivé (Kerkhofs, Renjifo, Toussaint, Letellier, Vanopdenbosch, résultats non publiés). Des vaccins de troisième génération sont en cours d'étude. Ils se basent soit sur la vaccination à l'aide d'ADN plasmidique (Kerkhofs, résultats non publiés) soit sur des vecteurs d'expression utilisables par voie intranasale (vecteurs à base d'adénovirus humain de type 5 non réplicatif exprimant la glycoprotéine gD du BoHV-1) (Gogev *et al.*, 2002), soit sur le modèle du vaccin suicide (virus délété dans un gène codant pour une glycoprotéine essentielle, complément phénotypiquement pour permettre un seul cycle de multiplication dans la muqueuse nasale) (Bourgot et Thiry, résultats non publiés).

LES METHODES DE DEPISTAGE DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE DANS UN PLAN DE LUTTE

Dans le cadre d'un plan de lutte contre l'IBR basé sur l'utilisation de vaccins marqués gE négatifs, le diagnostic est envisagé à deux niveaux (individuel et troupeau) et ces deux niveaux sont considérés dans trois cas : troupeau infecté, indemne ou officiellement indemne.

DIAGNOSTIC INDIVIDUEL

Le diagnostic individuel est réservé au suivi d'animaux dans le cadre d'un assainissement, à la confirmation d'un résultat obtenu sur mélange et au contrôle lors de l'introduction de nouveaux animaux. Ce diagnostic est également utilisé pour le suivi des centres de sélection et d'insémination artificielle.

Afin de vérifier un statut officiellement indemne d'IBR (l'animal n'est ni vacciné ni infecté), on utilisera un test immunoenzymatique (ELISA) qui détecte les anticorps totaux ou ceux dirigés contre la glycoprotéine gB de BoHV-1 (Kramps *et al.*, 1994). Ces derniers tests permettent d'atteindre de très hauts niveaux de sensibilité (de 99 à 100%) accompagnés d'une spécificité proche de 97% (94,8 à 98,5%) (De Wit *et al.*, 1998). La combinaison d'un test de compétition et d'un test indirect permet d'obtenir les meilleurs résultats de sensibilité et de spécificité. L'utilisation de ces tests est donc tout à fait fiable.

Pour le suivi d'animaux vaccinés, la détection des anticorps dirigés contre la gE de BoHV-1 est indispensable (Perrin *et al.*, 1996 ; Van Oirschot *et al.*, 1997). Les tests ELISA gE présentent une sensibilité moindre (85% par rapport à la séroneutralisation). De plus, la séroneutralisation apparaît entre 11 et 42 jours après infection expérimentale (De Wit *et al.*, 1998). Dans un contexte de vaccination, ce délai peut encore être allongé. Lors d'une suspicion d'infection, les résultats négatifs doivent donc toujours être confirmés par l'analyse d'un échantillon de sang prélevé ultérieurement.

Il faut mentionner le risque d'obtenir des animaux séronégatifs porteurs latents, quel que soit le test utilisé, dirigé envers gE ou gB. La prévalence de tels animaux n'est pas

connue à l'heure actuelle, mais leur existence est notamment due à des infections néonatales en présence d'anticorps maternels (Lemaire *et al.*, 1995 ; 2000a ; 2000b). Leur rôle est important dans les dernières phases d'un plan d'éradication.

DIAGNOSTIC DE TROUPEAU

Dans le cadre du programme de lutte contre l'IBR basé sur une vaccination répétée des animaux n'étant pas issus de troupeaux indemnes, le diagnostic de troupeau pourra être appliqué à deux occasions ; d'une part, comme premier coup de sonde afin de savoir, avant de démarrer un lourd programme de vaccination, si le troupeau présente un haut taux de séroprévalence ou non. Pour préciser cette séroprévalence, on aura par après recours aux analyses individuelles ; d'autre part, comme test de suivi de statut indemne (animaux vaccinés, détection d'anticorps dirigés contre la gE) ou officiellement indemne (animaux indemnes, détection d'anticorps dirigés contre BoHV-1). Ces tests «troupeaux» correspondent aux tests ELISA décrits plus haut appliqués à des mélanges de sérums ou des laits de refroidisseurs. Etant donné que, par ces changements d'échantillons, les caractéristiques intrinsèques des tests vont évoluer, il convient de tenir compte de ces changements et de pratiquer ces tests dans le cadre d'une stratégie bien déterminée.

Les mélanges de sérums

L'utilisation des prises de sang effectuées pour le maintien du statut officiellement indemne de brucellose permettrait de diminuer considérablement les coûts de prise de sang et d'analyse. Par rapport aux analyses individuelles, la sensibilité de cette approche va diminuer en raison de la dilution des sérums par dix et de l'analyse des seuls animaux âgés de plus de 24 mois, ce qui correspond approximativement à 50 % de l'effectif du troupeau.

Les mélanges de lait

La recherche d'anticorps dirigés contre le BoHV-1 dans le lait et le lait de tank a fait l'objet de nombreuses études aux Pays-Bas où cette stratégie est pratiquée en routine. Comme pour le mélange de sérums, l'utilisa-

tion de lait de refroidisseur diminue la sensibilité de détection par le facteur de dilution et par le fait que seules les vaches en lactation sont analysées, ce qui correspond aussi à approximativement 50 % du cheptel.

Au niveau individuel, la détection des anticorps dirigés contre la gE de BoHV-1 dans le lait provoque déjà une perte de sensibilité (96% ; titre moyen lait 7 fois plus petit que titre moyen sérum) (Wellenberg *et al.*, 1998a). Son application à des échantillons de refroidisseurs présente une sensibilité relative de 88,4% par rapport aux résultats individuels (Wellenberg *et al.*, 1998b). Le passage d'un résultat négatif à positif au niveau du mélange sera observé si 10 à 15% des animaux testés deviennent gE positifs. Des résultats semblables sont décrits pour la détection des anticorps dirigés contre l'ensemble des antigènes de BoHV-1 (Hartman *et al.*, 1997).

Modélisation de la surveillance de troupeaux

De tels résultats de validation des tests sur laits de mélange semblent exclure de la liste des moyens de surveillance des troupeaux. Un modèle théorique pour la surveillance des troupeaux indemnes sur laits de mélange a été développé aux Pays-Bas (Graat *et al.*, 1997). Ce modèle étudie les différents facteurs qui influencent le «reproductive ratio» entre troupeaux (Rb). Ce ratio mesure la chance qu'un animal infecté présent dans un troupeau non détecté sur lait de mélange transmette la maladie dans un autre troupeau. Les facteurs exerçant une influence forte sur ce ratio sont : la fréquence de prélèvement, le statut vaccinal et la proportion d'animaux positifs dans le troupeau. La taille du troupeau joue un rôle intermédiaire. D'après ce modèle,

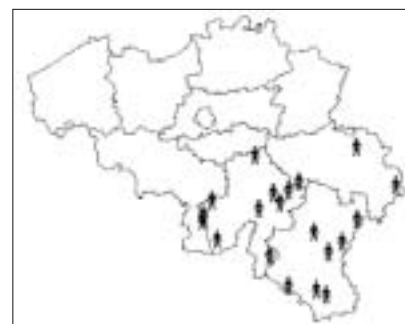


Figure 1 : Distribution des vétérinaires ayant participé à l'enquête concernant les suspicions cliniques d'IBR (n = 20)

la sensibilité de la méthode d'analyse utilisée n'a aucune influence sur la transmission de ce « faux négatif » vers un autre troupeau.

LES ASPECTS ECONOMIQUES DE LA LUTTE CONTRE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE

PERTES MICRO-ECONOMIQUES

L'effet d'une double vaccination à intervalle de 1 mois avec un vaccin marqué a été testé sur 455 vaches appartenant à 6 troupeaux. Cette vaccination induit une faible perte de lait de 1,4 litre par vache pour la double vaccination au cours des trois premiers jours après l'injection de vaccin (Bosch *et al.*, 1997). Les performances reproductrices et de production laitière ont été évaluées dans un troupeau contenant 98 vaches en lactation dans lequel 3 animaux séropositifs ont été traités à la dexaméthasone pour provoquer une réactivation et une réexcrétion virale. Aucun signe clinique n'a été observé. Toutefois, durant la période infectieuse de 14 jours, la diminution de la production laitière a été estimée à 9,5 litres par animal infecté (Hage *et al.*, 1998).

Aucune donnée quantitative n'est disponible sur l'estimation des pertes causées par l'IBR en Belgique. Si l'on se base sur des avis d'experts, les pertes micro-économiques peuvent être catastrophiques au sein d'une exploitation victime d'un épisode clinique d'IBR. Bien qu'étant des culs-de-sac épidémiologiques, les stations d'engraissement peuvent subir de lourdes pertes. Il semble indispensable de distinguer les exploitations

fermées (faible risque) et les exploitations ouvertes (risque élevé).

Une enquête préliminaire à destination des vétérinaires praticiens des provinces de Hainaut, Liège, Namur et Luxembourg a été réalisée et avait pour objet de recenser les suspicions cliniques d'IBR entre les 15/11/98 et 15/11/99. Vingt formulaires d'enquête ont été validés. Ceux-ci concernent 126948 bovins répartis dans 1019 troupeaux (tableau I). Les suspicions cliniques d'IBR étaient observées dans 2,2 % des troupeaux. Elles concernaient un faible nombre de bovins soumis à un risque particulier (8/1000) et un très faible nombre de bovins dans la population (2,5/10000 bovins).

Ces observations doivent être mises en relation avec les informations concernant le nombre de séroconversions dans un troupeau (43/100 bovins-année à risque) (Lemaire *et al.*, 1997). Elles plaident en faveur de la circulation de souches hypo et hypervirulentes.

Cette enquête contient cependant des biais de représentativité car elle concerne un nombre limité de vétérinaires volontaires et des biais de dénombrement par défaut et par excès. Par défaut, le dénombrement des suspicions cliniques réalisé dans le cadre de cette enquête préliminaire est un minimum si, par analogie avec la maladie d'Aujeszky chez les porcs, le tableau clinique a tendance à s'atténuer au cours du temps. Si tel est le cas, il sera très difficile de recenser ces suspicions compte tenu que les signes d'appel seront ténus (Czaplicki, communication personnelle). Une autre approche suggérée est de travailler au départ des séroconversions et isolements viraux réalisés dans les centres de prévention et de guidance vétérinaire (CPGV) et de

voir quels ont été les signes cliniques observés. Il s'avère toutefois difficile d'assurer cette analyse sur des données rétrospectives. Cette suggestion pourrait être utile dans un but de suivi d'un éventuel plan de lutte collective avec participation active des CPGV. Par ailleurs, il faut également signaler le rôle de la vaccination résiduelle (importante en Belgique) dans l'atténuation des signes cliniques observés. Par excès, le dénombrement des suspicions cliniques réalisé dans le cadre de cette enquête est un maximum si on considère que les vétérinaires ayant répondu sont ceux qui ont observé des suspicions cliniques dans leur clientèle.

PERTES MACRO-ECONOMIQUES

Volume des principaux échanges commerciaux

Le nombre de bovins vivants échangés au départ de l'Union économique belgo-luxembourgeoise (UEBL) vers d'autres Etats membres est en moyenne de 340000 têtes (données Eurostat, 1995 à 1997). La répartition en est la suivante :

selon le type de bovins : 26904 bovins reproducteurs de race pure ; 188958 bovins non reproducteurs de race pure d'un poids égal ou inférieur à 300 kg (surtout des veaux) ; 126007 autres bovins. La répartition selon l'Etat membre de destination donne : 59% vers les Pays-Bas ; 27% vers la France ; 5% vers l'Allemagne ; 5% vers l'Italie ; 3% vers le Royaume-Uni ; 1% vers l'Espagne ; 0,1% vers d'autres pays.

En 1998, le nombre de bovins vivants échangés au départ de l'UEBL vers d'autres Etats membres était de 271000 têtes (données Eurostat, 1998), soit une diminution d'environ 20%. Ce nombre correspond à un volume de 72000 tonnes et 7,5 milliards F (190 millions €). De 1995 à 1997, une chute constante des échanges de bovins reproducteurs de race pure est enregistrée.

Estimation du pourcentage des exploitations concernées par les exportations

Il n'est pas facile pour un éleveur de savoir si son exploitation est concernée directement ou indirectement par

Tableau I Enquête préliminaire sur les suspicions cliniques d'IBR en Belgique. Nombre de troupeaux et de bovins concernés.

Type de troupeaux	Troupeaux	Bovins
Laitier	140	11548
Viandeux*	512	62840
Engraissement	7	2070
Mixte ^o	360	50490
Total	1019	126948

* avec ou sans veau au pis

^o au moins deux spéculations

l'exportation. En vue de préciser cette question, la destination finale de tous les bovins vendus au départ des 556 exploitations sélectionnées lors de l'enquête IBR menée en 1997-1998 (exploitations choisies au hasard) a été recherchée pour l'année 1998. Un total de 2608 bovins ont été échangés (exportés) et concernaient :

- 62 % des troupeaux de l'échantillon ;
- 66 % des bovins étaient de sexe féminin et 34 % de sexe masculin ;
- chez les bovins de sexe féminin : 35 % étaient âgés de 18 à 48 mois et 50 % de plus de 48 mois ;
- chez les bovins de sexe masculin : 68 % étaient âgés de moins de 6 mois ;
- nombre de bovins par exploitation : 1 à 4 bovins dans 54 % des cas, 5 à 10 bovins dans 25 % de cas, 10 à 20 bovins dans 14 % des cas, plus de 20 bovins dans 7 % des cas ;
- destination des bovins : 65 % vers les Pays-Bas ; 20 % vers la France ; 9,4 % vers l'Italie ; 3,4 % vers l'Allemagne ; 1,2 % vers l'Espagne ; 0,6 % vers le Portugal ; 0,3 % vers le Luxembourg.

Les données analysées ne permettent pas de connaître l'usage qui a été fait des bovins qui ont été échangés (boucherie ou élevage et rente). Toutefois, si on se rapporte aux statistiques de l'UEBL pour la même année, les pourcentages respectifs des bovins échangés sont de 63 % (rente), 31 % (boucherie), 5 % (élevage) et 1 % (espèces non domestiques ou d'ornement).

Estimation des pertes dues à l'absence de plan de lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine

Les pertes économiques dues à l'absence de plan en Belgique, compte tenu des contraintes dues aux échanges à plus long terme, pourraient s'avérer très importantes. Ces pertes concernent actuellement les bovins vivants d'élevage et de rente (décisions 93/42/CEE, 94/962/CEE, 95/71/CEE, 95/62/CEE, 97/250/CEE et 2000/502/CE). Si on se réfère à l'évolution de la législation communautaire relative à la maladie d'Aujeszky dans le secteur porcin (décision 93/24/CEE), il n'est pas exclu que des contraintes concernant les bovins abattus et produits animaux puissent être ajoutées.

Pour la simulation reprise ci-dessous, il a été supposé que la part des exportations du Luxembourg dans les statistiques de l'UEBL était quantitativement faible et que les bovins de boucherie n'étaient pas concernés par les garanties additionnelles. Ainsi, si les Pays-Bas avaient demandé en 1998 des garanties additionnelles en matière d'IBR, les pertes pourraient être estimées de la manière suivante.

Les pertes directes sont variables en fonction de l'usage qui est fait des bovins exportés. Aucune perte n'est prévue pour les animaux de boucherie (volume : 2 milliards F ; 49,6 millions €) et les espèces non domestiques (volume : 54 millions F ; 1,34 millions €). En élevage, les pertes seraient estimées en 1998 à 59 % de 595 millions, soit 351 millions F (8,7 millions €). Pour les animaux de rente, les pertes seraient estimées en 1998 à 59 % de 1,04 milliard pour les veaux, soit 614 millions F (15,2 millions €) et 59 % de 2,4 milliards pour les gros bovins, soit 1,4 milliard F (35 millions €). Un moyen envisageable pour minimiser les pertes encourues pour les bovins de rente est de les engraisser sur le territoire national et de les exporter ensuite sous forme de carcasses, viandes et produits de viande. Toutefois, cette situation pourrait engendrer des déséquilibres : l'offre des bovins d'abattage augmenterait et ferait diminuer les prix du marché intérieur ; l'offre des viandes et produits de viandes exportés augmenterait et ferait diminuer les prix (échanges).

Les pertes indirectes sont difficiles à évaluer mais seraient toutefois importantes du fait du maintien d'animaux vivants en Belgique (particulièrement les veaux mâles et les femelles de plus de 18 mois) et l'influence négative sur les prix (l'offre deviendrait en effet largement supérieure à la demande intérieure).

Il s'agit de pertes maximales étant donné que, d'une part, sur base de l'Arrêté Royal du 8 août 1997 relatif à l'encouragement de la lutte contre l'IBR entré en vigueur le 1 septembre 1997 (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 1997), certains éleveurs qui auraient acquis le statut I4 pour leur troupeau, garderaient la possibilité d'exporter des bovins vivants. Toutefois, au 31/12/1999, seules trois exploitations avaient entamées des démarches

administratives en vue de l'acquisition du statut I4.

LES DISPOSITIONS LEGALES EN MATIERE DE RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE EN BELGIQUE

Arrêté Royal du 23 janvier 1992

relatif aux conditions sanitaires de la collecte et du transfert des embryons de l'espèce bovine (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 1992). Les embryons destinés aux échanges intracommunautaires doivent provenir d'animaux donneurs qui proviennent de troupeaux n'ayant présenté, durant l'année précédente, aucun signe clinique de rhinotrachéite infectieuse bovine/vulvovaginite pustuleuse infectieuse (IBR/IPV).

Arrêté Royal du 9 décembre 1992 modifié par l'Arrêté Royal du 22 septembre 1993

portant des dispositions zootechniques et de police sanitaire vétérinaire concernant la production, le traitement, le stockage, l'usage, les échanges intracommunautaires et l'importation du sperme de bovin (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 1993).

Exigences sanitaires pour l'admission d'animaux dans un centre de collecte de sperme agréé pour le commerce intracommunautaire de sperme de bovin congelé :

avant d'être autorisés à effectuer la période d'isolement précédant l'admission au centre de collecte de sperme, et dans les 30 jours qui précèdent cette période d'isolement, les taureaux doivent avoir réagi négativement à un test de séroneutralisation ou à un test ELISA pour la détection de l'IBR/IPV.

Avant d'être admis au centre de collecte de sperme, les taureaux doivent subir une période d'isolement d'au moins 30 jours. Pendant cette période, un test de séroneutralisation ou un test ELISA pour la détection de l'IBR/IPV doit être effectué, avec un résultat négatif.

Exigences sanitaires relatives au contrôle sanitaire des animaux séjournant dans un centre de collecte de sperme agréé pour le commerce intracommunautaire de sperme de bovin :

tous les bovins qui séjournent dans un centre de collecte de sperme agréé doivent subir au moins une fois par an un test de séroneutralisation ou un test ELISA pour l'IBR/IPV avec un résultat négatif .

Si un des tests donne un résultat positif, l'animal en question est immédiatement isolé. Les autres taureaux réputés séronégatifs doivent :

- subir des analyses sérologiques pour la détection de l'IBR/IPV, à intervalle de 6 semaines, jusqu'à ce que 3 analyses successives aient donné un résultat négatif ;
- les taureaux qui auparavant réagissaient négativement et qui réagissent positivement sans application de la vaccination, sont immédiatement et définitivement retirés du centre.

Conditions sanitaires d'admission des animaux dans un centre de collecte de sperme agréé pour le commerce national du sperme de bovin :

avant d'être autorisés à effectuer la période de quarantaine précédant l'admission au centre de collecte de sperme, et dans les 30 jours qui précèdent cette période de quarantaine, les taureaux doivent avoir réagi négativement à une épreuve de séroneutralisation ou un test ELISA pour la détection de l'IBR/IPV, pour autant qu'il ne s'agisse pas d'un animal ayant été vacciné auparavant.

Avant d'être admis au centre de collecte de sperme, les taureaux doivent effectuer une période de quarantaine d'au moins 30 jours. Pendant cette période, une épreuve de séroneutralisation ou un test ELISA pour la détection de l'IBR/IPV, pour autant qu'il ne s'agisse pas d'un animal ayant été vacciné avant son admission dans les locaux de quarantaine, doit être effectué avec un résultat négatif.

Exigences sanitaires relatives au contrôle sanitaire des animaux dans un centre de collecte de sperme agréé pour le commerce national de sperme de bovin :

tous les bovins qui séjournent dans un centre de collecte de sperme agréé

doivent subir au moins une fois par an une épreuve de séroneutralisation ou un test ELISA pour l'IBR/IPV avec un résultat négatif, pour autant qu'il ne s'agisse pas d'un animal dont les antécédents sanitaires font apparaître une séroconversion.

Arrêté Royal du 13 septembre 1995, modifiant les annexes de l'A.R. du 9/12/92 :

si une vaccination a été appliquée comme une mesure d'urgence suite à l'apparition d'un foyer d'IBR/IPV au centre de collecte de sperme, chaque lot de sperme doit subir un examen par inoculation sur un animal vivant et/ou une épreuve d'isolement du virus avec un résultat négatif et ce avant d'être admis aux échanges. Lorsque l'examen par inoculation et/ou l'épreuve d'isolement du virus est exigé celui-ci devra être effectué sur minimum 10 % de chaque collecte de sperme avec un minimum de 5 paillettes par collecte.

Arrêté Royal du 8 août 1997 relatif à la qualification des troupeaux dans la lutte contre l'IBR.

(Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 1997) :

sur base volontaire, le niveau de qualification peut être attribué par les Services vétérinaires du Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture. Les conditions d'acquisition de qualification dépendent du statut de la ferme ;

- I4, I3, I2 : sur base des résultats d'un bilan sérologique de tous les bovins appartenant au troupeau ;
- I1 : sur base des données de vaccination de tous les bovins appartenant au troupeau.

Les conditions de maintien de qualification sont les suivantes :

- I4, I3, I2 : sur base des résultats des bilans sérologiques effectués à intervalle de 6 mois sur tous les bovins appartenant au troupeau ;
- I1 : sur base des données de vaccination de tous les bovins appartenant au troupeau ;
- le responsable veille à n'introduire dans son troupeau que des bovins d'un troupeau de qualification égale ou supérieure à la qualification de son troupeau.

Seuls les vaccins gE négatifs sont autorisés pour la vaccination contre l'IBR.

APPLICATION DE LA LUTTE CONTRE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE EN BELGIQUE

Centre de Sélection Bovine

(Pastoret *et al.*, 1989 ; Dive, communication personnelle)

Le centre de sélection bovine, installé à Ciney, organise un test sur la performance de taurillons de race blanc-bleu belge. Comme la destination des meilleurs taurillons du centre peut être le centre d'insémination artificielle, le centre a très tôt perçu la nécessité d'obtenir un statut indemne d'IBR.

Plan de contrôle : le test ELISA gB sert d'examen de base, la séropositivité entraîne l'exclusion de l'animal du centre et son retour en ferme ou la vente au profit du propriétaire. Les animaux ne peuvent pas être vaccinés.

Admission d'animaux de 3 à 6 mois :

- test ELISA en ferme 15 jours avant la quarantaine ;
- deux tests ELISA en période de quarantaine (boxes individuels) ;
- 1 test ELISA lors du performance test (locaux de testage) ;
- 1 test ELISA à la sortie du performance test.

Admission de veaux nouveau-nés :

- administration de colostrum exempt d'anticorps anti-IBR ;
- test ELISA à l'entrée au centre de sélection bovine ;
- isolement en boxes individuels jusqu'à environ 6 mois avec un test ELISA mensuel ;
- un test ELISA lors du performance test ;
- un test ELISA à la sortie du performance test.

Précautions sanitaires :

Depuis l'accueil exclusif d'animaux séronégatifs, la méthode semble donner satisfaction.

Les veaux sont isolés dans des boxes individuels jusqu'à 6 mois, âge auquel ils sont regroupés pour le performance test. Aucun vaccin contre l'IBR n'est utilisé.

Centres d'Insémination Artificielle

Plan de contrôle : les tests utilisés en routine sont les tests ELISA gB, gE et la séroneutralisation.

Admission d'animaux :

- Deux tests en préquarantaine réa-

lisée dans un centre séparé, entièrement réservé à cet usage (dans les 30 jours qui précèdent la quarantaine);

- deux tests en période de quarantaine;
- si un animal présente une séroconversion : 2 sérologies successives, à un mois d'intervalle, sur tous les animaux de la quarantaine;
- seuls les animaux séronégatifs sont admis.

Contrôle sanitaire :

- test individuel (ELISA et séroneutralisation) 6 fois par an;
- si un test donne un résultat positif : sortie immédiate de l'animal en question;
- blocage des semences récoltées depuis le dernier contrôle négatif;
- destruction des doses restantes des récoltes de sperme de l'animal positif faites après le dernier bilan sérologique négatif;
- réouverture du centre après 3 sérologies successives (à intervalle de six semaines) négatives sur tous les animaux du centre et de la quarantaine.

Précautions sanitaires :

- application des normes de sécurité décrites dans la législation (directive 88/407/CEE);
- aucun contact avec l'extérieur; douches obligatoires pour le personnel d'étable;
- pas de visiteurs;
- déchargement des marchandises à l'extérieur, identification des camions et véhicules;
- traçage des intrants, des conteneurs utilisés.

MOTIVATION DES ACTEURS DE TERRAIN

Éleveurs sans épisode clinique de rhinotrachéite infectieuse bovine, ne participant pas à des concours, n'étant ni sélectionneurs, ni exportateurs

Leur motivation pour une lutte contre l'IBR est presque nulle. Certains sont même opposés à des contraintes et des frais supplémentaires, inutiles à leurs yeux. Si l'on ajoute à cette catégorie les éleveurs qui ont peut-être vacciné à la suite d'épisodes cliniques, mais pour lesquels l'IBR n'est plus une préoccupation, cette première catégorie peut représenter la

majorité des éleveurs. Il faut cependant nuancer cette affirmation, car de nombreux éleveurs sont des exportateurs indirects, c'est-à-dire que leurs animaux sont exportés par le marchand.

Éleveurs préoccupés par des épisodes cliniques

Quels que soient les symptômes d'appel (pathologie néonatale, grippe des jeunes bovins, avortements, complication de césarienne ou troubles de la reproduction), ces éleveurs demandent avant tout une vaccination qui soit efficace contre ces manifestations cliniques de l'IBR avec un protocole facilement réalisable. La disparition des anciens vaccins atténués, non marqués, dont l'efficacité avait fait ses preuves dans des épisodes cliniques, puis le retrait temporaire d'un vaccin atténué marqué ont conduit à une baisse sensible de la vaccination contre l'IBR, car les éleveurs ne voient pas la nécessité d'investir dans des frais de vaccination. Cet état provoque aussi un attrait pour des vaccins non enregistrés en Belgique qui sont introduits illégalement.

Sur le terrain, on pressent intuitivement l'apparition prochaine d'épisodes cliniques plus insidieux (chute de production, baisse de performance de reproduction), mais peut-être aussi explosifs. Il est cependant nécessaire de ne pas négliger les autres facteurs que l'IBR qui peuvent être responsables de ces atteintes. Malgré tout, il y a peu de conscience pour les mesures de prévention et les diverses précautions à prendre pour se prémunir de l'infection.

La grande majorité des vétérinaires praticiens, qui rencontrent épisodiquement l'IBR au sein de leur pratique, se range au côté de cette catégorie d'éleveurs. Ils sont principalement préoccupés de prévenir et maîtriser les épisodes cliniques par une vaccination efficace et se sentent actuellement démunis par le manque de choix de vaccins.

Dans le cadre d'une lutte intégrée et globalisée contre l'IBR, beaucoup de vétérinaires pensent surtout à la prévention des épisodes cliniques au niveau des troupeaux individuels par une diminution globale de la circulation virale découlant d'un contrôle de l'IBR au sein de l'ensemble du cheptel belge.

Éleveurs sélectionneurs

(vente de reproducteurs, centre de sélection et centre d'insémination, participation à des concours)

L'IBR est une préoccupation mineure, rarement demandée lors des transactions de particulier à particulier. Actuellement, les acheteurs « institutionnels » ne recherchent que le statut négatif pour l'animal en question, sans se soucier du statut du troupeau d'origine. Sauf pour quelques éleveurs qui basent leur exploitation sur la sélection et la vente de génétique, ce système n'incite pas les éleveurs à un contrôle intégré de l'IBR. Le fait qu'actuellement les centres de sélection prennent les veaux à la naissance avant prise de colostrum concourt encore plus au relâchement de la motivation des sélectionneurs pour le contrôle de l'IBR.

Pour les éleveurs qui participent à des concours où le statut IBR négatif est demandé, le problème est semblable puisque, à nouveau, on s'intéresse uniquement à l'animal et non au troupeau. De plus, pour permettre la participation de l'animal séropositif au concours, on autorise une vaccination individuelle d'urgence dont l'efficacité peut être mise en doute. Les éleveurs qui présentent en concours des animaux négatifs, peut-être issus de troupeaux indemnes, semblent peu conscients du risque encouru d'infecter leurs animaux par le BoHV-1.

Exportations

Très peu d'éleveurs ont connaissance ou conscience du fait qu'ils sont potentiellement exportateurs, en ce sens qu'ils se soucient peu de savoir que leurs vaches de réforme ou leurs jeunes bovins sont destinés au marché extérieur ou, à tout le moins, que ce commerce extérieur conditionne le prix de vente de leurs bovins. À l'heure actuelle, les commerçants qui exportent du bétail de rente ou de boucherie semblent peu préoccupés par la problématique de l'IBR, ils ne sentent aucune pression, aucune demande de la part de leurs acheteurs.

Ce n'est pas le cas pour le bétail d'élevage, soit en zone frontalière, soit pour l'exportation de reproducteurs, voire de semence. On revient cependant à la catégorie précédente dans le sens où seul le statut de l'animal est actuellement demandé. Dans ce cas, la demande est plus forte. Certains

acheteurs s'intéressent aussi au statut du troupeau, mais cela reste relativement ponctuel.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Il existe trois possibilités d'actions face à l'IBR en Belgique: maintien de la position actuelle; protection clinique des bovins; contrôle suivi de l'éradication de l'IBR. Les avantages et inconvénients des trois scénarios sont envisagés.

LE MAINTIEN DE LA POSITION ACTUELLE

Depuis 1997, seuls les vaccins marqués sont autorisés. La possibilité de qualifier les troupeaux (statut I1 à I4) sur base volontaire existe, mais le secteur bovin n'a manifesté jusqu'à présent que peu d'intérêt pour le plan de lutte volontaire. Pour l'année 1998, 837260 doses de vaccins marqués ont été délivrées en Belgique par les firmes pharmaceutiques pour seulement 747620 doses en 1999. La situation qui prévaut actuellement peut être analysée comme une situation d'attente, caractérisée par les points suivants: l'absence de politique de vaccination collective à l'échelle de la population, l'absence d'un protocole officiel de vaccination, l'existence d'épisodes cliniques particulièrement sévères dans les troupeaux ouverts tels que les stations d'engraissement (nombreux achats), l'impression des acteurs de terrain selon laquelle les vaccins marqués sont moins efficaces que les vaccins conventionnels (non marqués) et les graves problèmes économiques auxquels le secteur de l'élevage est confronté.

Les avantages d'une telle position sont:

- à court terme, un coût moindre à l'échelle du troupeau (aspects micro-économiques);
- le recours exclusif aux vaccins marqués permettra à long terme d'identifier plus facilement les animaux infectés par une souche sauvage de BoHV-1.

Les inconvénients d'une telle position sont:

- le coût très élevé d'une qualification de troupeau;
- la diminution du nombre de doses

de vaccins délivrées annuellement à l'échelle de la population risque à terme de réduire la protection contre les épisodes cliniques;

- la taille moyenne des exploitations augmente d'année en année. Ceci constitue vraisemblablement un facteur de risque d'aggravation d'épisodes cliniques particulièrement difficiles à maîtriser;
- les exploitations ouvertes (qui achètent beaucoup) courent un risque accru d'apparition d'épisodes cliniques;
- les détenteurs ont peur d'une qualification de troupeau car ils savent que cela conduira inéluctablement à une certification qui, si elle n'est pas favorable, pourra être pénalisante;
- le maintien de la position actuelle ne facilite pas l'approvisionnement des centres d'insémination ou de sélection bovine en bovins indemnes d'IBR;
- enfin le maintien de la position actuelle handicaperait de plus en plus les exportations belges si des garanties additionnelles peuvent être exigées par des Etats membres avec lesquels la Belgique échange des bovins.

PROTECTION CLINIQUE DES BOVINS

Bien que l'incidence des cas cliniques d'IBR soit faible à l'échelle de la population, ceux-ci sont dramatiques à l'échelle d'une exploitation. Les exploitations ouvertes sont particulièrement exposées. La protection clinique vis-à-vis de l'IBR impose d'utiliser les vaccins les plus efficaces. Comme l'efficacité des vaccins marqués utilisés actuellement est controversée par les éleveurs et les vétérinaires, cette approche rendrait nécessaire de revenir aux vaccins conventionnels disponibles antérieurement, et dont l'efficacité était reconnue sur le terrain, notamment pour l'apparition précoce de l'immunité protectrice, dans l'attente de nouveaux vaccins donnant aux acteurs du terrain plus de gages d'efficacité.

Les avantages d'une telle situation sont:

- permettre de lutter efficacement contre un épisode clinique (en particulier dans les exploitations ouvertes);
- permettre de diminuer l'utilisation illicite de vaccins non enregistrés

en Belgique.

Les inconvénients d'une telle situation sont:

- l'absence du bénéfice d'une campagne de vaccination collective (les souches sauvages circulent toujours);
- le recours aux anciens vaccins ne facilitera pas non plus l'approvisionnement des centres d'insémination ou de sélection bovine en bovins indemnes d'IBR;
- le recours aux anciens vaccins pourrait handicaper les exportations belges (voir supra);
- la vaccination (fausse sensation de sécurité) pourrait induire une absence de sensibilisation aux mesures hygiéniques et de gestion préventives;
- on se prive d'outils diagnostiques (vaccins marqués) nécessaires à la discrimination entre animaux infectés et vaccinés.

LE CONTROLE SUIVI DE L'ERADICATION DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE

Le contrôle de l'IBR vise la diminution de la circulation virale du BoHV-1 au moyen d'un plan collectif de vaccination à l'aide de vaccins marqués. L'éradication est la phase ultime (à long terme) de ce plan et vise la reconnaissance d'une région comme étant indemne d'IBR.

La justification de ce plan est essentiellement d'ordre économique (échanges et exportations de bovins). Cependant, un tel plan aura aussi des implications indirectes sur le nombre et l'intensité des épisodes cliniques d'IBR. L'aspect collectif du plan est quant à lui justifié par le fait d'une séroprévalence élevée dans notre pays couplée à une circulation virale relativement importante et aux nombreux achats qui ont lieu entre les différentes exploitations. Pour être efficaces, des mesures structurelles dans les exploitations et des mesures d'accompagnement (maîtrise des facteurs de risque) devraient être mises en œuvre en même temps que la vaccination.

Les avantages d'une telle situation sont:

- de permettre au secteur de s'adapter rapidement au cas où des garanties additionnelles sont exigées par les principaux partenaires commer-

ciaux de la Belgique ;

- indirectement, l'apparition et l'intensité des épisodes cliniques doivent diminuer particulièrement lorsque la couverture vaccinale sera généralisée.

Les inconvénients d'une telle situation sont :

- il n'est pas possible de déterminer la durée de ce plan (10 à 30 ans) et son efficacité ne peut être garantie actuellement ;
- à court terme, le coût d'une vaccination collective est de loin le point le plus important ;
- à moyen terme, le diagnostic en vue de la certification d'un troupeau constitue un coût non négligeable. Le diagnostic sur mélange de sérum ou de lait pourra réduire ces coûts ;
- à long terme, la qualification du pays comme indemne d'IBR présentera également un coût ;
- la motivation et la collaboration de tous les acteurs ne sont pas garanties. En l'absence de consensus, le plan perdra en efficacité ;
- la réinfection du fait des importations de bovins de pays qui n'ont pas de plan de lutte sera toujours possible (même en présence de résultats de diagnostic individuel négatifs) ;
- durant les premières années d'un plan de lutte, les centres d'insémination agréés pour le commerce intracommunautaire éprouveront également des difficultés d'approvisionnement en bovins indemnes d'IBR.

Les avis des membres du groupe de travail sont partagés entre les trois modalités de recommandations proposées. Un certain nombre d'intervenants pourraient cependant se rallier à la troisième modalité moyennant certaines garanties qui peuvent être résumées comme suit : une motivation perceptible du secteur de l'élevage bovin, une efficacité prouvée ou améliorée des vaccins marqués, la déter-

mination d'un protocole officiel de vaccination et la garantie de l'existence d'une structure d'accompagnement et d'épidémiosurveillance du plan de lutte. D'autres considèrent cette troisième modalité comme une arme économique de plus dans les échanges intra- et extracommunautaires, sans réel fondement scientifique pour l'instant.

REMERCIEMENTS

Ce document a été rédigé à la suite des réunions d'un atelier de travail de l'Association d'Epidémiologie et de Santé Animale (AESA) en 1999 et 2000. Les participants à cet atelier sont : Hubert Antoine, Josy Arendt, Raymond Bataille, Frank Boelaert, Patrick Biron, Jean Bughin, Guy Czaplicki, Vincent De Coninck, Paul-Louis de Marneffe, Marc Dispas, Marc Dive, Jacqueline Evers, Jacques Godfroid, André Gillet, Jean-Yves Houtain, Denis Hulhoven, Pierre Kerkhofs, Mylène Lemaire, Luc Lengelé, Carine Letellier, Bernard Limbourg (animateur), Fabienne Lomba, Marc Lomba, Bernard Marcin, Christian Massard, Sylvie Michelet, Paul Mullier, Philippe Otte, Xavier Patigny, Henri Roland, Frédéric Rollin, Claude Saegerman (rapporteur), Etienne Thiry (Président), Jean-François Toussaint, Pierre Viatour, Jozef Wullepit.

Ils sont vivement remerciés pour leur contribution active à l'élaboration de ce document.

Nos remerciements s'adressent également à tous les éleveurs anonymes et vétérinaires qui ont participé à la mini-enquête concernant les suspicions cliniques ; à Roger Nutelet et Johan Janssens du Centre d'économie agricole ; à Jean-Marie Robijns et Vincent Monfort de l'Association centrale de santé animale qui ont extrait les données brutes concernant les aspects économiques et à Frank Boelaert pour la cartographie.

SUMMARY

Advantages and disadvantages of a control programme against infectious bovine rhinotracheitis in Belgium

A working party of the "Association d'Epidémiologie et de Santé Animale" assessed the strategy for a control of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) in Belgium and studied its feasibility and the different programmes to be applied. Epidemiology of IBR in Belgium, vaccination, diagnostic methods, economic aspects of IBR control, Belgian laws regarding IBR and the motivation of people in the field were described. The advantages and disadvantages of three programmes were analysed: to maintain the current situation, to protect cattle against clinical disease and to control and eradicate IBR.

BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME. La qualification des troupeaux en matière d'IBR, compte rendu de la réunion au Cerva du 30/01/1998.
- BOELAERT F., BIRONT P., SOUMARE B., DISPAS M., VAN OPDENBOSCH E., VERMEERSCH J.P., RASKIN A., DUFEY J., BERKVEN D., KERKHOFS P. Prevalence of bovine herpesvirus 1 in the Belgian cattle population. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**, 285-295.
- BOSCH J.C. Resultaten van de veldproef met het IBR markervaccin. Symposium "Nederland op weg naar de IBR-vrije status", Deventer, 22 juin 1995.
- BOSCH J.C., KAASHOEK M.J., KROESE A.H., VAN OIRSCHOT J.T. An attenuated bovine herpesvirus 1 marker vaccine induces a better protection than two inactivated marker vaccines. *Vet. Microbiol.*, 1996, **52**, 223-234.
- BOSCH J.C., FRANKENA K., VAN OIRSCHOT J.T. Effect on milk production of vaccination with a bovine herpesvirus 1 gene-deleted vaccine. *Vet. Rec.*, 1997, **140**, 196-199.
- COMMISSION EUROPEENNE. Directive de la Commission du 20 Mars 1992 (92/18/CEE). *J. Off. Commun. Eur.*, N°L 97/1.
- DE WIT J.J., HAGE J.J., BRINKHOF J.M.A., WESTENBRINK F. A comparative study of serological tests for use in the bovine herpesvirus 1 eradication program in the Netherlands. *Vet. Microbiol.* 1998, **61**, 153-63.
- FALCONE E., TOLLIS M., CONTI G. Bovine viral diarrhoea disease associated with a contaminated vaccine. *Vaccine*, 1999, **18**, 387-388.
- GOGEV S., VANDERHEIJDEN N., LEMAIRE M., SCHYNTS, D'OFFAY J., DEPREZ I., ADAM M., ELOIT M., THIRY E. Induction of protective immunity to bovine herpesvirus type 1 in cattle by intranasal administration of replication-defective human adenovirus type 5 expressing glycoprotein gC or gD. *Vaccine*, 2002, **20**, 1451-1465.
- GRAAT L., DE JONG M., FRANKENA K. Qualification and monitoring of the IBR-free status. In IBR control programmes. Qualification and monitoring of the IBR-free status, Gezondheidsdienst voor Dieren, Maastricht, 1997, 19-21.
- HAGE J.J., SCHUKKEN Y.H., DIJKSTRA Th., BARKEMA H.W., VAN VALKENGOED P.H.R., WENTINK G.H. Milk production and reproduction during a subclinical bovine herpesvirus 1 infection on a dairy farm. *Prev. Vet. Med.*, 1998, **34**, 97-106.
- HARTMAN A., VAN WUIJCKHUISE L., FRANKENA K., FRANKEN P. Within-herd BOHV-1 prevalence prediction from an ELISA bulk milk. *Vet. Rec.*, 1997, **140**, 484-485.
- KAASHOEK M.J., MOERMAN A., MADIC J., RIJSEWIJK F.A., QUAK J., GIELKENS A.L., VAN OIRSCHOT J.T. A conventionally attenuated glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus type 1 is an efficacious and safe vaccine. *Vaccine*, 1994, **12**, 439-444.
- KAASHOEK M.J., MOERMAN A., MADIC J., WEERDMEESTER K., MARIS-VELDHUIS M., RIJSEWIJK F.A., VAN OIRSCHOT J.T. An inactivated vaccine based on a glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus 1 induces protective immunity and allows serological differentiation. *Vaccine*, 1995, **13**, 342-346.
- KRAMPS J.A., MAGDALENA J., QUAK J., WEERDMEESTER K., KAASHOEK M.J., MARIS-VELDHUIS M.A., RIJSEWIJK F.A., KEIL G., VAN OIRSCHOT J.T. A simple, specific, and highly sensitive blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine herpesvirus 1. *J. Clin. Microbiol.*, 1994, **32**, 2175-2181.
- LEMAIRE M., THIRY E. Virological protection attempted by repeated vaccinations with inactivated vaccines directed against bovine herpesvirus 1 infection. Symposium on IBR and other ruminant herpesvirus infections. Sart Tilman, Belgium, 26-27 July 1995, 52.
- LEMAIRE M., PASTORET P.-P., THIRY E. Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1994, **138**, 167-180.
- LEMAIRE M., MEYER G., ERNST E., VANHERREWEGHE V., LIMBOURG B., PASTORET P.-P., THIRY E. Latent bovine herpesvirus 1 infection in calves protected by colostral immunity. *Vet. Rec.*, 1995, **137**, 70-71.
- LEMAIRE M., DE WERGIFOSSE B., NOLS L., LIMBOURG B., DEBLICQUY P., ONCLIN M., CZAPLICKI G., BUGHIN J., ANTOINE H., WELLEMANS G., PASTORET P.-P., THIRY E. A study of the prevalence of bovine herpes virus 1 infection in the Walloon region of Belgium. *Epidémiologie et Santé Animale*, Special issue ISVEE Paris 1997, 31-32, AEEMA, 11.C21.
- LEMAIRE M., WEYNANTS V., GODFROID J., SCHYNTS F., MEYER G., LETESSON J.-J., THIRY E. Effects of bovine herpesvirus type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency. *J. Clin. Microbiol.*, 2000a, **38**, 1885-1894.
- LEMAIRE M., MEYER G., BARANOWSKI E., SCHYNTS F., WELLEMANS G., KERKHOFS P., THIRY E. Production of bovine herpesvirus type 1 seronegative latent carriers by administration of a live-attenuated vaccine in passively immunized calves. *J. Clin. Microbiol.*, 2000b, **38**, 4233-4238.
- LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., GEORGIN J.-P., BARANOWSKI E., GABRIEL A., ROS C., BELAK S., THIRY E. Latency and reactivation of a glycoprotein E negative bovine herpesvirus type 1 vaccine : influence of virus load and effect of specific maternal antibodies. *Vaccine*, 2001, **19**, 4795-4804.
- MARS M.H., DE JONG M.C.M., FRANKEN P., VAN OIRSCHOT J.T. Efficacy of a live gE-negative BHV1 vaccine in cattle in the field. *Vaccine*, 2001, **19**, 1924-1930.

- MINISTERE DES CLASSES MOYENNES ET DE L'AGRICULTURE. Arrêté Royal du 23 janvier 1992 relatif aux conditions sanitaires de la collecte et du transfert des embryons de l'espèce bovine. *Monit. Belg.*, 27.II.1992, erratum 19.VI.1992.
- MINISTERE DES CLASSES MOYENNES ET DE L'AGRICULTURE. Arrêté Royal du 9 décembre 1992 portant des dispositions zootechniques et de police sanitaire vétérinaire concernant la production, le traitement, le stockage, l'usage, les échanges intracommunautaires et l'importation du sperme de bovin. *Monit. Belg.*, 6.II.1993.
- MINISTERE DES CLASSES MOYENNES ET DE L'AGRICULTURE. Arrêté Royal du 8 août 1997 relatif à la qualification des troupeaux dans la lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Monit. Belg.*, 30.VIII.1997.
- PASTORET P.-P., THIRY E., BROCHIER B., DERBOVEN G., VINDEVOGEL H. The role of latency in the epizootiology of infectious bovine rhinotracheitis. In : Wittmann G., Gaskell R.M., Rziha H.-J (Eds), Latent herpesvirus infections in veterinary medicine. Martinus Nijhoff Publishers, Boston, 1984, 221-227.
- PASTORET P.-P., DETAL G., DIVE M., WAXWEILER S., THIRY E., WELLEMANS G., MARCOURT J., MAGONET P., DERNELLE E. Mesures à prendre au centre de sélection bovine de Ciney en vue de répondre aux nouvelles normes sanitaires imposées par le Commission des Communautés Européennes. *Ann. Méd. Vét.*, 1989, **133**, 247-256.
- PERRIN B., PERRIN M., MOUSSA A., COUDERT M. Evaluation of a commercial gE blocking ELISA test for detection of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Vet. Rec.*, 1996, **138**, 520.
- SCHYNTS F., LEMAIRE M., BARANOWSKI E., THIRY E. La glycoprotéine gE de l'herpèsvirus bovin de type 1 et les nouveaux vaccins marqués. *Ann. Méd. Vét.*, 1998, **142**, 21-32.
- SCHYNTS F., VANDERPLASSCHEN A., HANON E., RIJSEWIJK F., VAN OIRSCHOT J.T., THIRY E. Use of PCR and double immunofluorescence staining to detect bovine herpesvirus type 1 recombinants. *J. Virol. Methods*, 2001, **92**, 99-104.
- STRAUB O.C. Experiences with two BHV-1 marker vaccines. Proceedings 19th World Buiatrics Congress, Edinburgh, United Kingdom, 8-12 July 1996, 39-41.
- STRUBE W., AUER S., BLOCK W., HEINEN E., KRETZDORN D., RODENBACH C., SCHMEER N. A gE deleted infectious bovine rhinotracheitis marker vaccine for use in improved bovine herpesvirus 1 control programs. *Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 181-189.
- THIRY E., PASTORET P.-P., DISPAS M., HAMERS C., LAMBOT M., LECOMTE C., LEMAIRE M., SCHYNTS F., VANDERHEIJDEN N. Le rôle de la vaccination dans la prévention des maladies respiratoires d'origine virale chez les bovins. In : Les troubles respiratoires des bovins. Société française de Buiatrie, 1997a, 278-299.
- THIRY E., LEMAIRE M., SCHYNTS F., VANDERHEIJDEN N., MEYER G., DISPAS M., PASTORET P.-P. La rhinotrachéite infectieuse bovine: caractéristiques du virus, de l'infection et ses manifestations cliniques. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 1997b, 4-B.-568, 7-16.
- THIRY E., LEMAIRE M., SCHYNTS F., VANDERHEIJDEN N., MEYER G., DISPAS M., PASTORET P.-P. Les différents vaccins disponibles contre la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 1997c, 4-B.-568, 69-75.
- THIRY E., LEMAIRE M., SCHYNTS F., MEYER G., DISPAS M., GOGEV S. Les conséquences de l'infection des bovins par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Point Vét.*, 1999, **30**, 279-286.
- VAN DER POEL W.H.M., HAGE J.J. Onderzoek naar spreiding van een intramusculair toegediend levend gE-negatief BHV1 marker vaccin op twee rundveebedrijven. *Tijdschr. Diergeneesk.* 1998, **123**, 109-111.
- VAN MALDEREN G., VAN OPDENBOSCH E., WELLEMANS G. Bovien herpes virus 1 en 4 : een sero-epidemiologisch onderzoek van de Belgische rundveestapel. *Vlaams. Diergeneesk. Tijdschr.*, 1987, **4**, 364-371.
- VAN OIRSCHOT J.T., KAASHOEK M.J., RIJSEWIJK F.A.M. Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. *Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 43-54.
- VAN OIRSCHOT J.T., KAASHOEK M.J., MARISVELDHUIS M.A., WEERDMEESTER K., RIJSEWIJK F.A.M. An enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against glycoprotein gE of bovine herpesvirus 1 allows differentiation between infected and vaccinated cattle. *J. Virol. Methods*, 1997, **67**, 23-34.
- VAN SCHAİK G., DIJKHUIZEN A. A., HUIRNE R.B.M., SCHUKKEN Y.H., NIELEN M., HAGE H.J. Risks factors for existence of bovine herpesvirus 1 antibodies on nonvaccinating Dutch dairy farms. *Prev. Vet. Med.*, 1998, **34**, 125-136.
- WELLENBERG G.J., VERSTRATEN E.R.A.M., MARS M.H., VAN OIRSCHOT J.T. Detection of bovine herpesvirus 1 glycoprotein E antibodies in individual milk samples by enzyme linked immunosorbent assays. *J. Clin. Microbiol.* 1998a, **36**, 409-413.
- WELLENBERG G.J., VERSTRATEN E.R.A.M., MARS M.H., VAN OIRSCHOT J.T. ELISA detection of antibodies to glycoprotein E of bovine herpesvirus 1 in bulk milk samples. *Vet. Rec.* 1998b, **142**, 219-220.
- WENTINK G.H., VAN OIRSCHOT J.T., VERHOEFF J. Risk of infection with bovine herpesvirus-1 (BHV1) a review. *Vet. Q.*, 1993, **15**, 30-33.