Manuscrit déposé le 8 juillet 2009

Ann. Méd. Vét., 2009, ***153,*** *88-104*

ARTICLE ORIGINAL

Réduction de l'incidence de séroconversion envers l'herpèsvirus bovin 1 en cheptels mixtes laitier/viandeux par l'administration répétée de vaccins marqués inactivés

DISPAS M.[1], LEMAIRE M.[2], SPEYBROEK N.[3], BERKVENS D.[3], DUPONT A.[4*], BOELAERT F.[5], DRAMAIX M.[4], VANOPDENBOSCH E.[1], KERKHOFS P[1], THIRY E.[6], KERKHOFS P[1].

[1] Centre d'Etude et de Recherches vétérinaires et agrochimiques, Groeselenberg 99, 1180 Bruxelles, Belgique.

[2] Laboratoire vétérinaire départemental, 76, Chemin Boudou, BP 87, 41140 Launaguet, France.

[3] Département Santé animale, Unité d'Epidémiologie, Prins Leopold Instituut voor Tropische Geneeskunde, Nationalestraat 155, 2000 Antwerpen, Belgique.

[4] Département de Statistiques médicales, Ecole de Santé publique – Université Libre de Bruxelles, ECP598, route de Lennik 808, 1070 Bruxelles, Belgique.

[5] Unité de Collecte des données, Département Zoonoses, Autorité européenne pour la Sécurité alimentaire, Largo N. Palli 5/A (on the Viale Mentana), 43100 Parma, Italie.

[6] Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Virologie et Epidémiologie, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, Bâtiment B43Bis, 4000 Liège, Belgique.

[4*] Adresse actuelle : Département Statistique, Service Public de Programmation de l'Intégration sociale, 1 Boulevard Anspach, 1000 Bruxelles, Belgique.

Correspondance : Dr M. Dispas Email : madis@var.fgov.be

RÉSUMÉ : Une étude de cohortes a été réalisée dans des cheptels mixtes laitier/viandeux (MLV) pour évaluer l'efficacité de l'hyperimmunisation comme moyen de contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR). Deux protocoles d'administrations répétées de vaccins marqués ont été comparés à un groupe contrôle positif (GCP). Les deux protocoles d'hyper-immunisation différaient par la primovaccination : dans le groupe 1, une formulation atténuée a été utilisée, d'abord par voie intra-nasale, puis par voie intramusculaire, pour le second groupe, une formulation inactivée fut administrée deux fois par voie sous-cutanée. Les vaccinations de rappel étaient identiques pour les 2 groupes : administrations sous-cutanées de vaccins inactivés, tous les 6 mois. Au sein du GCP, une vaccination annuelle d'une partie du cheptel a été la règle générale.

L'efficacité des protocoles fut étudiée par analyse du temps de séroconversion envers la glycoprotéine gE. Chez les bovins du groupe 2, une proportion significativement supérieure d'animaux est restée séronégative par rapport au groupe 1 et au GCP. Les probabilités de séroconversion différaient selon les groupes, le sexe et les cohortes de naissance considérées. Bien qu'une diminution de la séroprévalence ait été observée dans le groupe 1, seul le groupe 2 présenta un avantage significatif pour le contrôle de l'IBR en cheptels MLV, par rapport au GCP.

1. INTRODUCTION

L'herpèsvirus bovin 1 (BoHV-1) est un pathogène mondialement répandu (Straub, 1990). C'est l'un des agents pathogènes majeurs de la population bovine (Muylkens *et al.*, 2007). Ce virus est responsable de la rhinotrachéite infectieuse (IBR) et, comme tous les *Herpesviridae,* le BoHV-1 infecte de façon latente le système nerveux afférent de l'animal très précocement après la primo-infection (Roizman et Pellett, 2001). Cette phase de latence peut être interrompue par des stimuli de réactivation et la ré-excrétion virale (Pastoret *et al.*, 1982 ; Thiry *et al.*, 1985 ; 1987). Ces processus, associés à une faible dose infectieuse (Straub, 1990), permettent la persistance du BoHV-1 dans les troupeaux infectés (Pastoret *et al.*, 1982).

Au sein de l'Union européenne, plusieurs statuts sanitaires sont décrits vis-à-vis de l'IBR : certains pays membres sont officiellement indemnes (Commission européenne, 2007), alors que d'autres mènent des plans officiels de contrôle depuis plusieurs années. Ces programmes sont généralement basés sur des plans de vaccination

au moyen de vaccins génétiquement marqués – délétés dans le gène codant pour la glycoprotéine gE (gE) (Kaashoek *et al.*, 1994 ; 1996 ; Schynts *et al.,* 1998) – et la certification des troupeaux sur base d'examens sérologiques définis dans le temps (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 1997 ; Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2006 ; Service public fédéral de Santé publique, 2007).

Plusieurs études ont déjà été réalisées sur le terrain pour évaluer l'efficacité de protocoles de vaccination en cheptels laitiers. En particulier, ces études ont évalué le *Reproductive ratio* (R_0), le nombre de nouvelles infections générées par l'introduction d'un animal infectieux dans une population indemne de taille infinie (Anderson et May, 1979) dans des troupeaux hyperimmunisés, soit au moyen de vaccins vivants atténués (Mars *et al.*, 2001), soit au moyen de vaccins inactivés (Bosch *et al.*, 1998). Les R_0's estimés furent toujours inférieurs à ceux estimés dans les groupes contrôles traités avec un placebo. La comparaison des protocoles d'hyperimmunisation montra le R_0 le plus petit dans les troupeaux hyperimmunisés au moyen du vaccin vivant atténué ; mis en pratique sur le terrain, ce protocole a montré son efficacité dans plusieurs pays (Makoschey *et al.*, 2007).

Lorsque les Autorités belges ont envisagé de mettre en œuvre un plan de contrôle national de l'IBR (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 1997 ; Service public fédéral de Santé publique, 2007) l'usage de vaccins inactivés fut préconisé afin d'éviter les risques d'effets secondaires liés au procédé de fabrication de vaccins vivants atténués (Barkema *et al.*, 2001) et le risque de recombinaison entre souche vaccinale et souches virales sauvages qui ferait perdre l'avantage du marquage génomique (Muylkens *et al.*, 2006). Ce choix stratégique avait également déjà été réalisé par les autorités sanitaires françaises (Thiry *et al.*, 1997).

En 2003, Kerkhofs et collaborateurs ont démontré l'efficacité d'un nouveau protocole d'hyperimmunisation qui faisait appel à une primovaccination au moyen de vaccins vivants et à des rappels au moyen de vaccins inactivés. Les Autorités belges ont alors décidé de financer un projet d'étude sur le terrain (janvier 1997 à mai 1999) afin de comparer l'efficacité de ce nouveau protocole à celui faisant appel au seul vaccin inactivé en cheptels laitiers et en cheptels à orientation technico-commerciale (OTC) de type mixte lait/viande (OTC-MLV).

Les résultats de cette étude devaient permettre la motivation du secteur agricole à se lancer dans un programme de contrôle. Il était donc opportun de comparer les résultats obtenus à ceux présentés par un groupe contrôle dans lequel les éventuelles pratiques vaccinales seraient conservées, c'est-à-dire un groupe contrôle positif (GCP) (Petrie et Watson, 2006).

Les résultats de cette étude, en cheptels laitiers, ont démontré une efficacité équivalente des 2 protocoles testés, permettant une réduction significative des incidences de séroconversion comparativement au GCP (Dispas *et al.*, 2004).

Alors que les résultats observés en cheptels laitiers sont difficilement transposables dans d'autres types d'OTC, pour des raisons évidentes de différences de « structure de contact » entre groupes d'animaux d'âges et de sexe différents, les résultats d'études en cheptels d'OTC-MLV clairement identifiés font encore défaut à l'heure actuelle.

La présente étude, portant sur l'évaluation de l'efficacité de 2 protocoles de vaccination au moyen de vaccins génétiquement marqués, présente 3 originalités : elle fut menée en cheptels d'OTC-MLV, elle a couvert une période de plus de 2 ans et, enfin, elle a permis la comparaison entre groupes hyperimmunisés et GCP. Le premier protocole de vaccination a combiné l'usage de formulations atténuées puis inactivées, administrées de manière répétée, alors que le second n'a eu recours qu'aux formulations inactivées, également administrées de façon répétée. L'efficacité des protocoles fut analysée par comparaison des courbes de survie au moyen du test du *Logrank*, considérant le temps passé dans l'étude avant séroconversion individuelle envers la gE.

Deux sous-populations ont été considérées : femelles et mâles. Dans la sous-population femelle, les deux protocoles d'hyperimmunisation ont permis une réduction de la probabilité de séroconversion envers gE au cours du temps, comparativement à celle observée dans le groupe témoin. Toutefois, cette réduction n'était significative que pour le protocole utilisant exclusivement la formulation inactivée. Dans la sous-population mâle, aucune différence entre groupes expérimentaux ne fût observée si l'on prenait en compte l'ensemble des animaux. Au sein de l'ensemble des cohortes d'animaux mâles nés après le début de l'étude, une réduction significative du risque d'infection fut observée dans le groupe vacciné uniquement avec la formulation inactivée.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Choix des troupeaux et critères d'inclusion

Dans un *pool* de fermes créé sur base volontaire et après une présélection de troupeaux de taille compatible avec l'entretien d'une famille mais n'excédant pas 160 animaux, 38 troupeaux furent sélectionnés au hasard et répartis en trois groupes expérimentaux décrits ci-après. Après le début de l'étude, à l'occasion de visites destinées à identifier la présence éventuelle de facteurs de risque, une disparité fut constatée entre le type d'OTC observé et le type attendu. Les critères d'inclusion des troupeaux furent ainsi redéfinis : groupes d'animaux de type laitier et viandeux coexistant dans la ferme ou groupe d'animaux de race viandeuse présentant une production laitière soumise à un quota. Dans les 2 cas, le *ratio* sexuel mâles/femelles devait être d'au moins 0,05 tout au long de l'étude. Le commerce d'animaux de « réforme » était prohibé. Une reconstruction adaptée des effectifs de ferme fut réalisée, après recrutement de fermes précédemment incluses dans l'étude conjointe menée en cheptels laitiers (Dispas *et al.*, 2004), menant à une légère disparité entre nombres de fermes suivies dans chaque groupe expérimental.

2.2. Groupes expérimentaux

2.2.1. Effectifs et schéma de vaccination dans le groupe 1

Tous les animaux présents au début de l'étude dans ce premier groupe (G1), nés ou achetés ensuite, répartis dans 10 troupeaux, furent traités selon un protocole caractérisé par l'usage successif de vaccins vivants atténués (Rispoval IBR-Marker Live®, Pfizer, auparavant : Bayer AG., ou Rhinobovin Marker Live®, Intervet, auparavant : Hoechst) et inactivés (Rispoval IBR-Marker Inactivated®, aupara-

Tableau I : Description de l'âge à l'entrée dans l'étude, selon le groupe expérimental et le protocole de vaccination (type de vaccin et voie d'administration).

		Groupes expérimentaux (âge à l'entrée dans l'étude)		
		1 (1 mois)	**2** (3 mois)	**Contrôle positif** (1 mois)
Type de vaccin / voie d'administration	**Primovaccination 1**	atténué / intranasale	inactivé / sous-cutanée	libre
	Primovaccination 2 (après 3-5 semaines)	atténué / intramusculaire	inactivé / sous-cutanée	libre
	Rappels (tous les 6 mois)	inactivé / sous-cutanée	inactivé / sous-cutanée	libre

vant : Bayer AG., ou Rhinobovin Marker inactivated®, Intervet, auparavant : Hoechst) (tableau I). Seul un détenteur d'animaux a souhaité quitter l'étude avant son terme et n'a pas participé à la dernière campagne de vaccination et de prélèvements.

2.2.2. Effectifs et schéma de vaccination dans le groupe 2

Tous les animaux incorporés dans le deuxième groupe (G2), présents dans 12 troupeaux, furent traités selon un protocole caractérisé par l'usage exclusif de vaccins inactivés (Rispoval IBR-Marker Inactivated®, ou Rhinobovin Marker inactivated®) (tableau I).

2.2.3. Effectifs et schéma de vaccination dans le groupe contrôle positif

Seize troupeaux furent enrôlés dans le GCP et 13 d'entre eux participèrent à l'étude jusqu'à l'échéance finale (tableau I). Les 3 autres détenteurs se sont désistés à l'occasion de la dernière campagne de prélèvements. L'un des détenteurs souhaitait modifier l'OTC de sa ferme, deux autres souhaitaient mettre en œuvre un programme d'hyperimmunisation.

Tous les éventuels protocoles de vaccination étaient admis, pour autant qu'ils soient différents des protocoles d'hyperimmunisation suivis dans les groupes 1 ou 2.

2.3. Calendrier des opérations

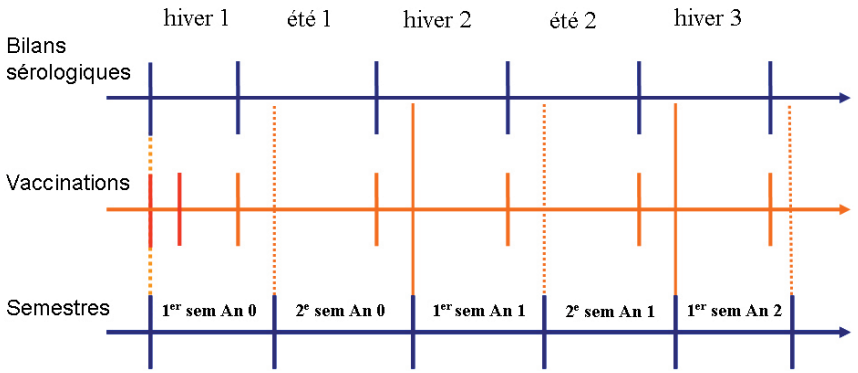
Le protocole expérimental comportait la mise en œuvre d'un programme d'hyperimmunisation de tous les animaux présents au début et entrant dans l'étude durant son cours, ainsi que le suivi sérologique régulier de tous ces animaux.

Afin de limiter les déplacements d'animaux et de faciliter leur contention, les prélèvements sanguins destinés au suivi sérologique ont toujours été réalisés en ferme : en janvier de l'an 0 de l'étude puis peu de temps avant ou après la mise en pâture estivale. L'ensemble des prélèvements a donc été réalisé à l'occasion de 6 bilans sérologiques (figure 1). Le cas échéant, les animaux ont été vaccinés lors de ces bilans sérologiques ou, en particulier pour respecter le calendrier de primo-vaccinations, en fonction de leur âge (tableau I). Lors de la dernière campagne de prélèvements, les animaux âgés de moins de 6 mois ne furent pas testés. En effet, aucun test sérologique ne pouvait permettre de définir un statut sérologique individuel sans interférence avec des anticorps d'origine maternelle.

2.4. Analyses sérologiques et interprétation des données

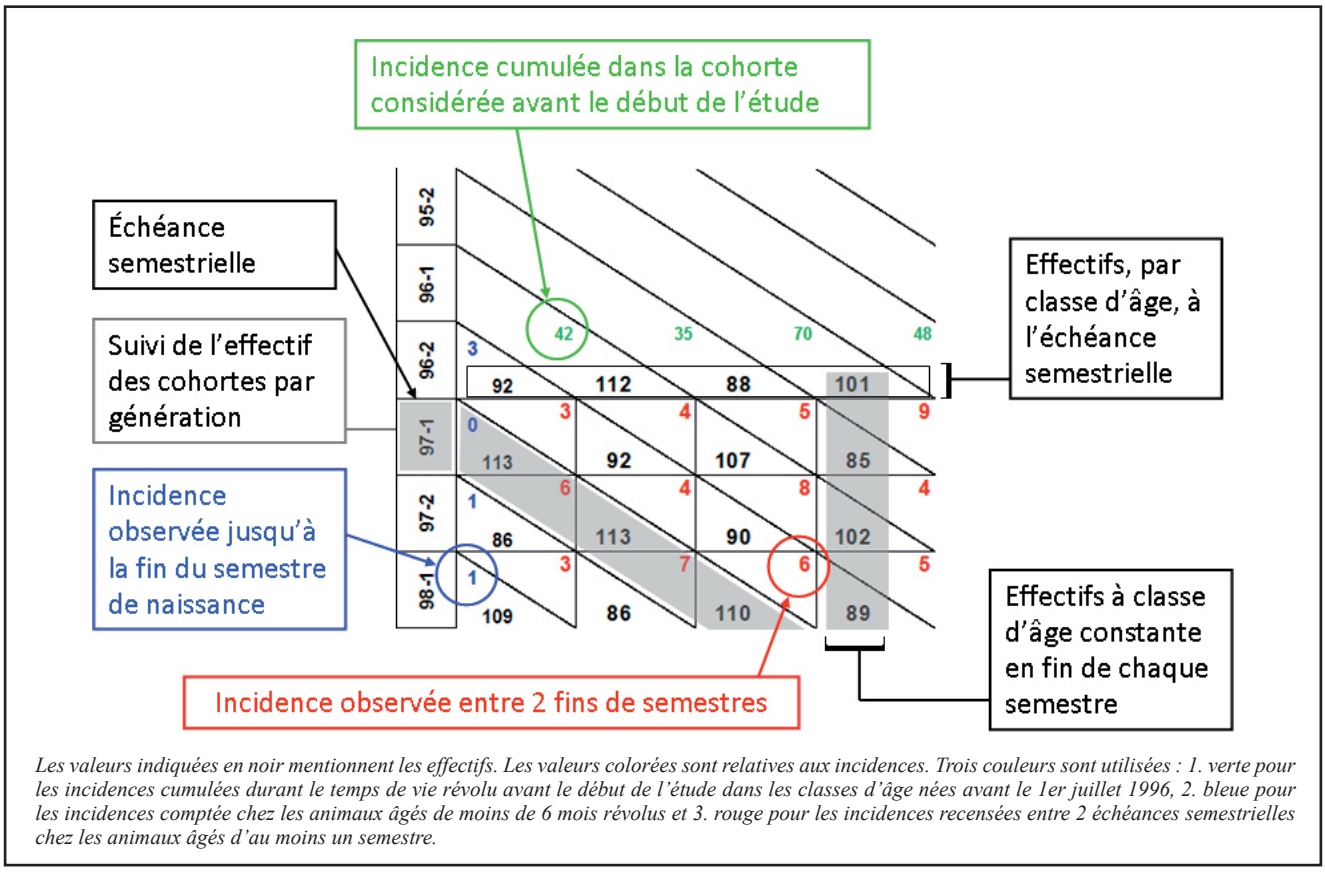
Tous les prélèvements ont été testés individuellement avec une trousse de détection d'anticorps dirigés contre la glycoprotéine gE du BoHV-1 (gE Antibody Test kits, HerdCheck®, IDEXX) (Kramps *et al.*, 1996 ; Van Oirschot *et al.*, 1997). Les résultats non interprétables ont été considérés comme positifs (de Wergifosse *et al.*, 1997). Afin de tenir compte de la présence d'anticorps colostraux (Brar *et al.*, 1978), le statut sérologique apparent des veaux testés avant l'âge de 6 mois fut réévalué en fonction du premier résultat de test réalisé passé cet âge. Tout veau devenu sérologiquement gE négatif (gE-) fut considéré comme négatif depuis sa naissance. Tout veau resté sérologiquement positif gE+ fut considéré comme infecté à une date fixée à la moitié de la période entre la date de naissance et la date du premier test concluant. Les résultats antérieurs à cette date d'infection ont été enregistrés comme négatifs.

Figure 1 : Calendrier des bilans sérologiques, des vaccinations portant sur l'ensemble des animaux et concordance avec les échéances semestrielles, portées sur une ligne du temps.



Sur la ligne du calendrier de vaccination, les traits verticaux rouges symbolisent les dates des primo-vaccinations des groupes.

Figure 2 : Description des valeurs présentées dans les diagrammes de Lexis relatifs à l'évolution des effectifs et des incidences dans les 3 groupes expérimentaux.



Les valeurs indiquées en noir mentionnent les effectifs. Les valeurs colorées sont relatives aux incidences. Trois couleurs sont utilisées : 1. verte pour les incidences cumulées durant le temps de vie révolu avant le début de l'étude dans les classes d'âge nées avant le 1er juillet 1996, 2. bleue pour les incidences comptée chez les animaux âgés de moins de 6 mois révolus et 3. rouge pour les incidences recensées entre 2 échéances semestrielles chez les animaux âgés d'au moins un semestre.

Les dates de séroconversion ont été fixées à la moitié de la période séparant les dates de bilans sérologiques d'intérêt.

Les animaux achetés qui étaient gE+ ont été considérés comme infectés dans leur ferme d'origine et n'ont pas été inclus dans les calculs d'incidence.

2.5. Banque de données

Toutes les informations collectées au cours des enquêtes, ainsi que toutes les informations individuelles nécessaires au suivi sérologique longitudinal des animaux ont été enregistrées dans une base de données relationnelle (Access®). Les informations individuelles des animaux ont été fournies par les Centres de Prévention et de Guidance des provinces concernées (Association régionale pour la Santé et l'Identification animales et Dierengezondheidszorg Vlaanderen), par extraction des données de SANITEL, le registre national d'identification des bovins belges. Les dates de perte de vue étaient celles du dernier prélèvement sanguin réalisé. Enfin, les statuts sérologiques des animaux présents aux échéances semestrielles ont été enregistrés en se basant sur le statut sérologique connu à la date la plus proche (figure 1). L'ensemble des informations a été enregistré par 2 personnes différentes, sur 2 sites différents (Centre d'Etudes vétérinaires et agrochimiques et Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Virologie et Epidémiologie, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège) et a fait l'objet d'une vérification croisée intégrale.

2.6. Analyses statistiques

2.6.1. Méthode descriptive, par échéance, âge et génération

Une description a été réalisée à l'aide de diagrammes de Lexis modifiés. Ces tableaux à « trois entrées » permettent la représentation de l'évolution de la population selon 3 critères : le moment de l'observation, l'âge des animaux et la génération des individus concernés (Tapinos, 1991) (figure 2). Deux échelles d'âge sont proposées : les semestres de vie accomplis (SVA) et les années de vie accomplies (AVA). Afin de tenir compte des effets conjoints de l'extinction des cohortes et des incidences de séroconversion, les diagrammes de Lexis, décrivant d'une part les effectifs et incidences et d'autre part les séroprévalences d'un même groupe expérimental, devront être analysés de pair.

Ainsi, les inventaires de troupeaux furent reconstitués aux échéances semestrielles pour la période du 1er janvier 1997 (An 0) au 1er juillet 1999 (An 2), que les animaux soient nés dans la ferme ou aient été achetés en cours d'étude. Pour chaque groupe expérimental, les effectifs furent répartis selon leur « génération » (cohorte identifiée par l'année et le semestre de naissance). Deux sous-populations sont présentées sur des diagrammes différents : femelles et mâles. L'extinction des cohortes (chiffres en noir) ainsi que l'incidence de séroconversion envers gE entre échéances semestrielles successives (chiffres en rouge) peuvent être suivies au long des diagonales des diagrammes.

Pour chaque groupe expérimental, au sein de chaque classe d'âge et à chaque échéance, la séroprévalence a été calculée selon le rapport du nombre d'animaux séropositifs envers gE (gE+) à l'effectif total de la classe

considérée. Il s'agit toujours de la séroprévalence apparente.

A chaque échéance, la séroprévalence moyenne a été calculée selon le rapport du nombre d'animaux gE+ dans toutes les classes au nombre total de bovins présents.

2.7. Méthode analytique

L'efficacité des protocoles d'hyperimmunisation fut étudiée au moyen d'une analyse de survie. Cette méthode a comparé, en fonction du temps passé dans l'étude, les proportions d'animaux indemnes et restant gE-, entre les différents groupes expérimentaux, en tenant compte des contributions en temps des animaux « perdus de vue » (Hill *et al.*, 1996). Les résultats sont présentés sous forme de courbes de survie estimées par la méthode de Kaplan et Meier (1958). L'hypothèse d'égalité des courbes de survie fut analysée par le test du *Logrank* (Peto et Peto, 1972), au seuil $\alpha = 5$ %. Lorsque des comparaisons de protocoles 2 à 2 furent pertinentes, la correction de Bonferroni fut appliquée (Bland *et al.*, 1995). Le seuil α' corrigé valait alors [α/nombre de comparaisons] soit 1,67 %. Femelles et mâles ont été analysés séparément. Au sein de chacun de ces groupes, une première analyse a porté sur l'ensemble de l'effectif et une deuxième s'est intéressée spécifiquement aux animaux nés après le début de l'étude (cohortes 97-1 à 98-2).

3. RÉSULTATS

3.1. Sous-population des animaux femelles

3.1.1. Epidémiologie descriptive : évolution au cours du temps de la structure de la sous-population femelle, de la distribution des incidences de séroconversions et des séroprévalences gE, par groupe expérimental

Les effectifs recensés dans le G1 (tableau IIa) s'élevaient à 891 animaux au 1er janvier de l'An 0, puis à 942, 912, 946, 854 et 746 têtes de bétail aux échéances semestrielles suivantes.

Dans le G1, au début de l'étude, 488 incidences de séroconversion avaient déjà été cumulées dans les différentes classes d'âge. Ces animaux infectés n'ont pas pu être intégrés à l'analyse de survie. Les incidences semestrielles totales ont suivi une tendance décroissante en fonction du temps. Elles étaient distribuées à travers toutes les classes d'âge durant le premier semestre d'étude ; ensuite, leur distribution a été principalement observée dans les classes d'âges les plus jeunes (moins de 4 SVA), tout en diminuant en nombre.

Dans le G1, au début de l'étude, les séroprévalences (tableau IIb) au sein des classes d'âges inférieures à 4 SVA allaient croissant de 3,3 à 69,3 %. Elles étaient comprises entre 55,0 et 81,0 % dans les groupes plus âgés. Indépendamment de l'échéance semestrielle considérée, la distribution des séroprévalences a suivi une tendance croissante avec l'avancée en âge des animaux.

En cours d'étude, les réductions d'incidence au cours du temps ont été accompagnées de faibles croissances de séroprévalence. Dès lors, d'importantes réductions des taux de séroprévalence ont été observées au cours du temps, à classe d'âge constante, dans les groupes âgés de moins de 7 SVA. Les facteurs de réduction du niveau de séroprévalence, entre le début et la fin de l'étude, étaient compris entre 1,3 et 8,9. De façon générale, le remplacement naturel des animaux et la réduction d'incidence ont permis une diminution globale de la séroprévalence de 54,8 à 41,3 %.

Les effectifs recensés dans le G2 (tableau IIIa) s'élevaient à 1140 animaux au 1er janvier de l'An 0, puis à 1188, 1138, 1165, 1033 et 770 têtes aux échéances semestrielles suivantes.

Au début de l'étude, l'incidence cumulée dans les différentes classes d'âge du G2 était de 605. Ces animaux infectés n'ont pas pu être inclus dans l'analyse de survie. L'incidence a augmenté du premier au second semestre puis a fortement décru durant les 3 derniers semestres, pour atteindre un chiffre 7 fois inférieur à celui du premier semestre.

D'une manière générale, dans le G2, les séroconversions on été observées principalement dans les classes d'âge inférieures à 3 AVA, à l'exception de celles observées durant le second semestre de l'étude, période durant laquelle elles ont concerné quasiment toutes les classes d'âge. Dans les jeunes classes d'âge en particulier, le nombre de séroconversion est allé décroissant au sein des cohortes les plus récentes.

Dans le G2, au début de l'étude, les valeurs des séroprévalences dans les classes d'âge inférieures à 5 SVA étaient comprises entre 9,4 et 35,5 % (tableau IIIb). Dans les groupes plus âgés, elles étaient comprises entre 62,4 et 97,5 %. À l'instar du G1 et indépendamment de l'échéance semestrielle considérée, la distribution des séroprévalences a suivi une tendance croissante avec l'avancée en âge des animaux. Dans le G2, entre le mois de janvier de l'AN 0 et le mois de juillet de l'AN 2, d'importantes réductions de séroprévalence ont été observées (valeurs extrêmes des *ratios* : 2,6 à 13,4), à classe d'âge constante, dans les groupes âgés de moins de 10 SVA. Dans les groupes plus âgés, ces réductions furent moindres (valeurs extrêmes des ratios : 1,03 à 1,41). Au cours de l'étude, la séroprévalence moyenne a chuté de moitié, passant de 53,1 % à 26,1 %.

Les effectifs recensés dans le GCP (tableau IVa) s'élevaient à 1501 animaux au 1er Janvier de l'An 0, puis à 1575, 1486, 1500, 1155 et 1061 têtes de bétail aux échéances semestrielles suivantes. Au début de l'étude, 595 animaux, répartis dans toutes les classes d'âge, avaient déjà été infectés. Ces derniers furent exclus de l'analyse de survie. Au cours des semestres suivants, les incidences sont restées comprises entre 31 et 81, réparties dans toutes les classes d'âge, tout en restant particulièrement abondantes dans les cohortes les plus récentes.

Dans le GCP, la distribution de la séroprévalence suivait au début de l'étude une tendance croissante avec l'âge. Les taux de séroprévalence (tableau IVb) sont ensuite restés quasi constants entre le début et la fin de l'étude dans toutes les classes d'âge, à l'exception des classes 4, 5 et 6 SVA, dans lesquels ils ont diminué d'environ 10 %. Les séroprévalences moyennes, à chaque échéance semestrielle, ont peu varié.

Tableau IIa : Groupe 1, distribution et évolution des effectifs et de l'incidence, au cours du temps, chez les femelles, à l'occasion de 6 recensements semestriels.

Générations (cohortes de naissance)	94-2	94-1	93-2	93-1	92-2	92-1	91-2	91-1	cumul des générations précédentes					effectifs semestriels	incidences semestrielles	Incidences avant étude
95-1																
95-2																
96-1																
96-2	3 / 92	42 / 112	35 / 88	70 / 101	48 / 78	44 / 80	46 / 63	39 / 62	28 / 41	33 / 47	17 / 21	24 / 31	59 / 75	891		488
97-1	0 / 113	3 / 92	4 / 107	5 / 85	9 / 98	2 / 70	7 / 73	2 / 59	4 / 60	1 / 34	3 / 46	0 / 18	1 / 87	4 / 942	45	
97-2	1 / 86	6 / 113	4 / 90	8 / 102	4 / 83	0 / 92	2 / 64	2 / 53	1 / 45	1 / 48	0 / 24	0 / 31	0 / 81	0 / 912	29	
98-1	1 / 109	3 / 86	7 / 110	6 / 89	5 / 97	2 / 78	2 / 85	0 / 56	2 / 43	0 / 41	0 / 41	0 / 22	1 / 89	0 / 946	29	
98-2	1 / 47	3 / 103	1 / 79	1 / 100	2 / 85	0 / 87	0 / 67	1 / 68	0 / 50	0 / 36	0 / 32	0 / 33	0 / 67	0 / 854	9	
99-1		4 / 47	3 / 100	1 / 77	3 / 94	0 / 71	0 / 69	0 / 54	0 / 60	2 / 37	0 / 30	0 / 23	0 / 84	0 / 746	13	
SVA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	>= 12			
AVA	0		1		2		3		4		5		>= 6			

Age des animaux

Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplies et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau IIb : Groupe 1, distribution et évolution de la séroprévalence gE et de la séroprévalence moyenne, au cours du temps, chez les femelles, à l'occasion de 6 recensements semestriels.

Générations (cohortes de naissance)	94-2	94-1	93-2	93-1	92-2	92-1	91-2	91-1	cumul des générations précédentes					séroprévalence moy. semestr.
95-1														
95-2														
96-1														
96-2	3,3	37,5	39,8	69,3	61,5	55,0	73,0	62,9	68,3	70,2	81,0	77,4	78,7	54,8
97-1	0,0	6,5	42,1	47,1	78,6	65,7	61,6	76,3	71,7	73,5	76,1	83,3	87,4	52,9
97-2	1,2	5,3	11,1	50,0	51,8	77,2	68,8	64,2	82,2	72,9	70,8	71,0	90,1	48,7
98-1	0,9	4,7	11,8	18,0	55,7	56,4	81,2	69,6	69,8	82,9	70,7	77,3	88,8	45,3
98-2	2,1	4,9	6,3	14,0	21,2	56,3	56,7	82,4	68,0	72,7	76,9	77,8	83,6	41,3
99-1		10,6	7,0	7,8	16,0	23,9	58,0	59,3	81,7	75,7	73,3	87,0	79,8	41,3
SVA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	>= 12	
AVA	0		1		2		3		4		5		>= 6	

Age des animaux

Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau IIIa : Groupe 2, distribution et évolution des effectifs et de l'incidence, au cours du temps, chez les femelles, à l'occasion de 6 recensements semestriels.

Générations (cohortes de naissance)	94-2	94-1	93-2	93-1	92-2	92-1	91-2	91-1	cumul des générations précédentes					effectifs semestriels	incidences semestrielles	Incidences avant étude
95-1																
95-2																
96-1																
96-2	10 / 106	62 / 185	33 / 112	42 / 137	27 / 76	88 / 141	43 / 56	60 / 74	34 / 37	69 / 72	22 / 25	37 / 39	78 / 80	1140		605
97-1	0 / 174	9 / 106	1 / 178	2 / 107	6 / 130	5 / 67	5 / 112	0 / 40	0 / 67	0 / 31	0 / 60	0 / 22	1 / 94	1188	29	
97-2	4 / 89	4 / 174	6 / 105	11 / 164	5 / 100	10 / 114	1 / 47	5 / 94	1 / 36	5 / 56	0 / 26	1 / 50	1 / 83	1138	54	
98-1	0 / 142	0 / 89	16 / 171	3 / 103	2 / 154	3 / 86	2 / 98	1 / 41	0 / 80	0 / 30	1 / 36	1 / 25	0 / 110	1165	30	
98-2	2 / 47	3 / 142	0 / 85	1 / 160	1 / 95	0 / 118	0 / 68	2 / 72	0 / 33	0 / 65	0 / 24	0 / 29	0 / 95	1033	9	
99-1		0 / 40	0 / 126	0 / 69	2 / 129	0 / 62	0 / 86	0 / 53	1 / 55	0 / 27	1 / 45	0 / 12	0 / 66	770	4	
SVA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	>= 12			
AVA	0		1		2		3		4		5		>= 6			

Age des animaux

Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau IIIb : Groupe 2, distribution et évolution de la séroprévalence gE et de la séroprévalence moyenne, au cours du temps, chez les femelles, à l'occasion de 6 recensements semestriels.

Générations (cohortes de naissance)	94-2	94-1	93-2	93-1	92-2	92-1	91-2	91-1	cumul des générations précédentes					séroprévalence moy. semestr.
95-1														
95-2														
96-1														
96-2	9,4	33,5	29,5	30,7	35,5	62,4	76,8	81,1	91,9	95,8	88,0	94,9	97,5	53,1
97-1	0,0	17,9	34,3	32,7	36,2	38,8	67,0	80,0	82,1	93,5	95,0	86,4	98,9	46,1
97-2	4,5	2,9	22,9	39,0	39,0	46,5	42,6	69,1	86,1	89,3	96,2	96,0	96,4	44,6
98-1	0,0	4,5	12,3	25,2	37,7	38,4	46,9	43,9	68,8	90,0	94,4	100	97,3	38,7
98-2	4,3	2,1	4,7	13,8	26,3	38,1	33,8	45,8	42,4	70,8	91,7	93,1	96,8	34,7
99-1		2,5	2,4	4,3	10,1	8,2	31,4	30,2	43,6	33,3	62,2	83,3	93,9	26,1
SVA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	>= 12	
AVA	0		1		2		3		4		5		>= 6	

Age des animaux

Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau IVa : Groupe contrôle positif, distribution et évolution des effectifs et de l'incidence, au cours du temps, chez les femelles, à l'occasion de 6 recensements semestriels.

Générations (cohortes de naissance)	94-2	94-1	93-2	93-1	92-2	92-1	91-2	91-1	cumul des générations précédentes					effectifs semestriels	incidences semestrielles	Incidences avant étude
95-1																
95-2																
96-1																
96-2	5 / 105	34 / 209	22 / 143	79 / 212	35 / 101	80 / 184	35 / 74	55 / 137	27 / 44	56 / 94	30 / 37	43 / 58	94 / 103	1501		595
97-1	0 / 179	4 / 105	1 / 203	4 / 136	8 / 202	2 / 98	7 / 170	0 / 64	2 / 127	0 / 40	1 / 89	0 / 33	1 / 129	1575	31	
97-2	2 / 116	5 / 179	3 / 101	13 / 191	6 / 130	6 / 175	4 / 90	6 / 147	0 / 50	7 / 99	0 / 29	2 / 70	0 / 109	1486	54	
98-1	1 / 154	8 / 116	7 / 175	1 / 98	2 / 179	4 / 123	5 / 152	5 / 77	2 / 130	0 / 43	6 / 89	0 / 22	0 / 142	1500	42	
98-2	2 / 51	9 / 134	5 / 104	2 / 135	3 / 80	10 / 141	3 / 90	4 / 108	4 / 48	5 / 82	0 / 26	3 / 64	0 / 92	1155	51	
99-1		6 / 51	8 / 133	17 / 101	9 / 123	10 / 76	12 / 133	4 / 71	3 / 94	2 / 46	8 / 77	1 / 24	0 / 132	1061	81	
SVA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	>= 12			
AVA	0		1		2		3		4		5		>= 6			

Age des animaux

Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau IVb : Groupe contrôle positif, distribution et évolution de la séroprévalence gE et de la séroprévalence moyenne, au cours du temps, chez les femelles, à l'occasion de 6 recensements semestriels.

Générations (cohortes de naissance)	94-2	94-1	93-2	93-1	92-2	92-1	91-2	91-1	cumul des générations précédentes					séroprévalence moy. semestr.
95-1														
95-2														
96-1														
96-2	4,8	16,3	15,4	37,3	34,7	43,5	47,3	40,1	61,4	59,6	81,1	74,1	81,6	39,0
97-1	0,0	8,6	16,3	19,1	40,6	34,7	46,5	48,4	40,2	65,0	61,8	78,8	81,4	35,4
97-2	1,7	2,8	11,9	24,1	24,6	46,3	37,8	52,4	54,0	43,4	65,5	61,4	78,0	34,1
98-1	0,6	8,6	6,3	11,2	24,0	26,0	48,7	44,2	53,1	55,8	49,4	59,1	69,7	31,0
98-2	3,9	7,5	14,4	6,7	10,0	28,4	27,8	54,6	64,6	56,1	65,4	51,6	79,3	31,9
99-1		15,7	13,5	31,7	14,6	23,7	38,3	38,0	59,6	69,6	66,2	75,0	69,7	39,7
SVA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	>= 12	
AVA	0		1		2		3		4		5		>= 6	

Age des animaux

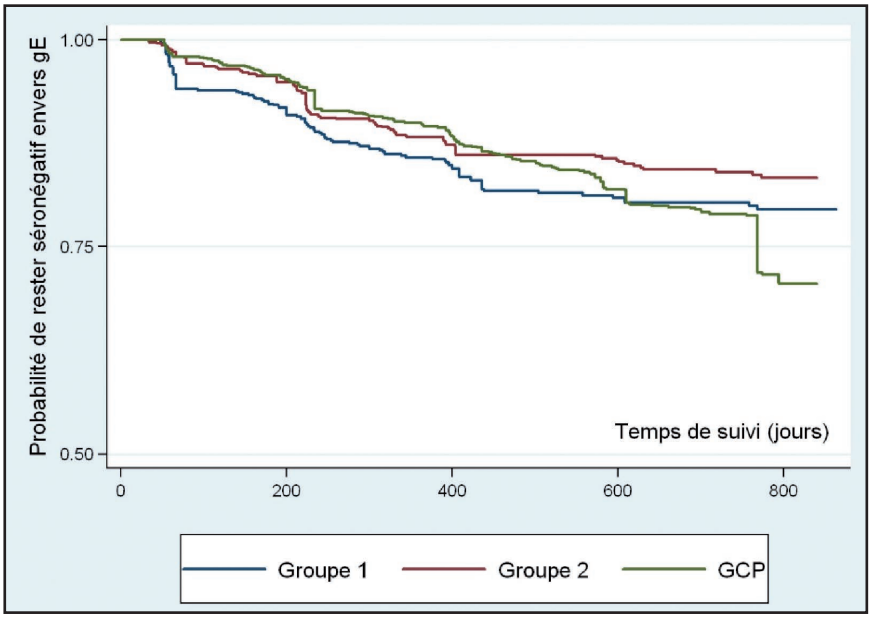
Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

3.1.2. Epidémiologie analytique : comparaison de l'efficacité des protocoles expérimentaux

Un total de 510 incidences ont été prises en compte dans l'analyse de survie : 124 dans le G1, 127 dans le G2 et 259 dans le GCP. Les courbes de survie de toutes les femelles sont présentées à la figure 3A. La courbe du GCP occupe la position supérieure durant environ 450 jours de suivi. Elle passe alors sous celle du G2 puis enfin sous celle du G1 vers 600 jours de suivi. Des différences significatives apparaissant entre groupes (P = 0,0161), des comparaisons 2 à 2 furent réalisées. Le traitement du G2 présentait une réduction significative de la probabilité de séroconversion envers gE, par rapport au GPC (P = 0,0055), mais n'était pas significativement différente du G1 (P = 0,0335), au seuil α'. Ce dernier groupe ne s'avérait pas significativement différent du GCP (P = 0,7373).

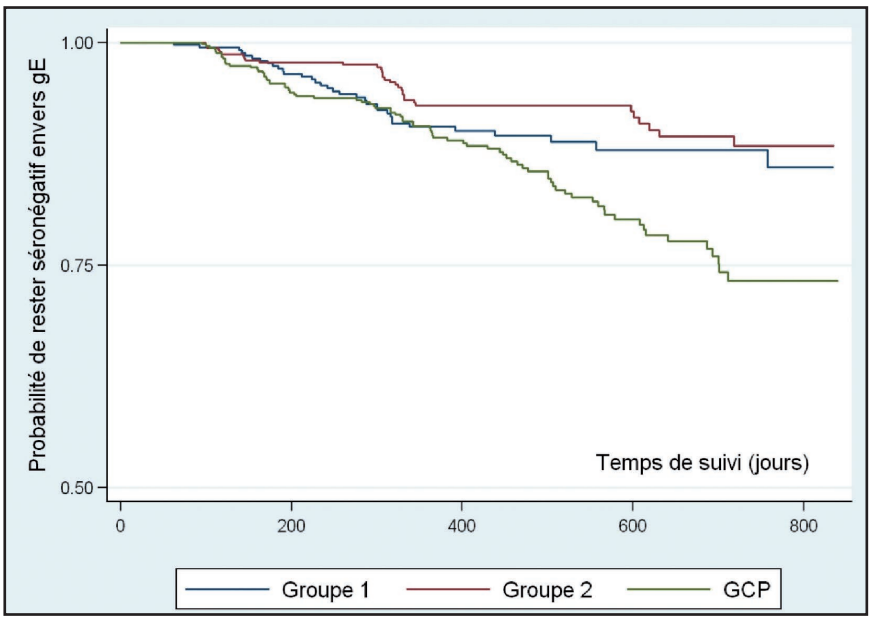
Au sein de la sous-population des femelles nées après le début de l'étude (générations 97-1 à 98-2 incluses), 34 séroconversions envers gE ont été recensées dans le G1 (densité d'incidence (DI) = 8 infections par 100 animal*année à risque), 33 dans le G2 (DI = 6 infections par 100 animal*année à risque) et 81 dans le GCP (DI = 14 infections par 100 animal*année à risque). Les courbes de survie sont présentées à la figure 3B. La courbe de survie du GCP occupe généralement la position inférieure, avec un écart croissant après 400 jours de suivi. Bien que les courbes de survie attestent de l'efficacité des protocoles d'hyperimmunisation dans cette sous-population de jeunes femelles, les résultats du test du *Logrank* sont comparables au modèle incluant toute la population : le protocole 2 réduisait significativement le risque d'infection par le BoHV-1 par rapport au GCP (P = 0,0001) mais n'était pas significativement différent du protocole 1 (P = 0,1718). Le protocole 1 n'était pas significativement différent du GCP (P = 0,0222) au seuil α'.

Figure 3A : courbes de survie de l'ensemble de la population femelle, par groupe expérimental.



GPC = groupe contrôle positif.

Figure 3B : courbes de survie de la sous-population des femelles nées après le début de l'étude, par groupe expérimental.



GPC = groupe contrôle positif.

3.2. Sous-population des animaux mâles

3.2.1. Epidémiologie descriptive : évolution au cours du temps de la structure de la sous-population mâle, de la distribution des incidences de séroconversions et des séroprévalences gE, par groupe expérimental

Dans le G1, l'effectif présent au début de l'étude s'élevait à 230 bêtes et présenta ensuite d'importantes fluctuations aux échéances successives : 326, 255, 257, 135, 85 têtes de bétail. Le nombre d'animaux infectés au début de l'étude s'élevait à 81. Ils ne furent pas inclus dans l'analyse de survie. Ensuite, les incidences semestrielles cumulées ont fluctué entre 6 et 21. Un pic a été observé durant le second semestre de l'étude impliquant principalement les animaux âgés de moins d'1 AVA.

Dans le G1, la séroprévalence moyenne au début de l'étude s'élevait à 35,8 %. Elle a décru durant la première moitié de l'étude pour revenir à son niveau initial durant la seconde. Des réductions du taux de prévalence entre le début et la fin de l'étude ont été observées au sein des classes d'âge 2, 3 et 4 SVA. D'une manière générale, les taux de séroprévalence allaient croissant avec l'âge, pour une échéance donnée.

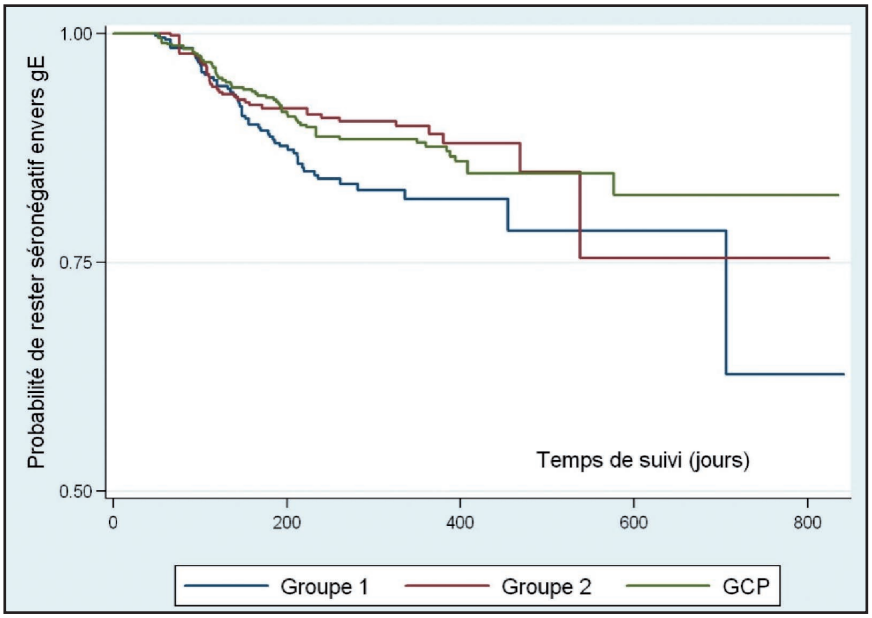
Dans le G2, en janvier de l'An 0, 232 bovins mâles étaient présents dans ce groupe ; 64 d'entre eux étaient gE+ et n'ont pu être inclus dans l'analyse de survie. Durant les 5 semestres suivants, l'incidence a fluctué entre 1 et 17, présentant deux pics, l'un au premier semestre de l'étude (13 cas), l'autre durant le quatrième semestre (17 cas). Ces infections ont été principalement recensées dans les jeunes classes d'âge (< 3 SVA).

Le taux de séroprévalence moyen au début de l'étude s'élevait à 27,2 % dans le G2. Après avoir décru durant 3 semestres jusqu'à 6,7 %, il est ensuite remonté jusqu'à 20,6 %. Seule la classe d'âge d'1 SVA a présenté une nette réduction du taux de séroprévalence, pour un effectif supérieur à 20 têtes. Comme dans le G1, les taux de séroprévalence croissaient avec l'âge pour une échéance semestrielle donnée.

Dans le GCP, en janvier de l'an 0 de l'étude, 354 bovins mâles étaient recensés ; 102 d'entre eux étaient gE+. Ces derniers ont été exclus de l'analyse de survie. Tout comme dans les deux autres groupes, un plus grand nombre de naissances a été observé durant le premier semestre de chaque année. Les effectifs recensés aux échéances semestrielles ont présenté les mêmes variations que dans les autres groupes. Les incidences semestrielles cumulées étaient comprises entre 9 et 17. Le pic (17) fut enregistré durant le troisième semestre de suivi.

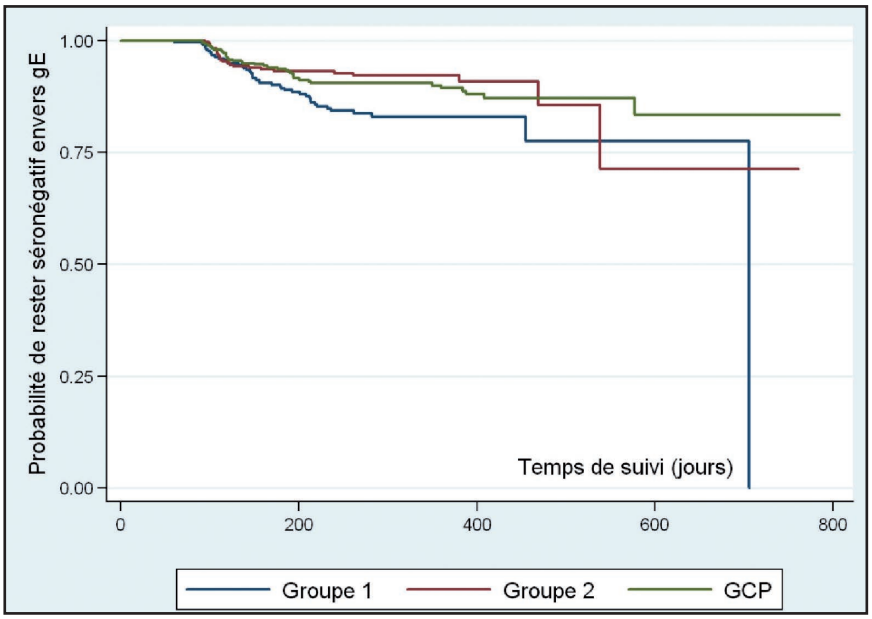
La séroprévalence gE moyenne dans le GCP était de 28,8 % au début de l'étude. Elle a diminué durant les 3 semestres suivants pour atteindre 11,0 %, puis augmenta pour arriver à 20,2 % en fin d'étude, sans montrer de tendances particulière dans une classe d'âge spécifique. Des réductions de séroprévalence d'un facteur 1,5 et 2,7 ont été constatées dans les groupes âgés de 1 SVA et 2 SVA respectivement, alors qu'une augmentation d'un facteur 1,2 était observée dans la classe âgée de 3 SVA.

Figure 3C : courbes de survie de l'ensemble de la sous-population mâle, par groupe expérimental.



GPC = groupe contrôle positif.

Figure 3D : courbes de survie de la sous-population des mâles nés après le début de l'étude, par groupe expérimental.



GPC = groupe contrôle positif.

3.2.2. Epidémiologie analytique : comparaison de l'efficacité des protocoles expérimentaux

Un total de 161 incidences ont été prises en compte dans l'analyse de survie : 56 ont été recensées dans le G1, 41 dans le G2 et 64 dans le GCP. Les courbes de survie (Figure 3C) des G2 et GCP s'entrecroisent jusqu'à environ 500 jours de suivi, puis cette dernière occupe la position supérieure. La courbe de survie du G1 occupe généralement la position inférieure. Bien que des différences significatives aient été observées lors de la comparaison globale (P = 0,0428), aucune différence significative ne fut toutefois observée au seuil α' au cours des comparaisons 2 à 2.

Dans la sous-population mâle née après le début de l'étude, 112 séroconversions envers gE ont été recensées : 45 dans le G1 (DI = 15 infections par 100 animal*année à risque), 25 dans le G2 (DI = 9 infections par 100 animal*année à risque) et 42 dans le GCP (DI = 11 infections par 100 animal*année à risque). Les courbes de survie sont présentées à la figure 3D. Dans cette sous-population, la courbe de survie du G1 occupe généralement la position inférieure, bien qu'elle croise celle du G2 vers 150 et 180 jours, puis au-delà de 500 jours de suivi. La courbe de survie du GCP occupe la position supérieure à l'exception de la période allant d'environ 200 à 480 jours de suivi. La comparaison

Tableau V : Groupe 1 : Evolution des effectifs, de l'incidence et de la séroprévalence gE au sein des cohortes de mâles

Cohortes de naissance (générations)	94-2	94-1	cumul des générations précédentes					effectifs semestriels	incidences semestrielles	Incidences avant étude
95-1										
95-2										
96-1										
96-2	8 / 53	43 / 122	14 / 31	10 / 13	3 / 4	1 / 1	2 / 6	230		81
97-1	1 / 140	2 / 52	1 / 94	1 / 22	1 / 11	0 / 3	0 / 4	326	1	7
97-2	4 / 57	14 / 136	2 / 25	0 / 24	1 / 6	0 / 4	0 / 3	255	0	21
98-1	0 / 60	4 / 57	1 / 110	1 / 12	0 / 9	0 / 5	0 / 4	257	0	6
98-2	6 / 33	6 / 53	0 / 28	0 / 8	0 / 2	0 / 4	0 / 7	135	0	12
99-1		5 / 33	2 / 32	1 / 8	1 / 3	0 / 1	0 / 8	85	1	10
SVA	0	1	2	3	4	5	>= 6			
AVA	0		1		2		>= 3			

Age des animaux

A: incidence

Cohortes de naissance (générations)	94-2	94-1	cumul des générations précédentes					séroprévalence moy. semestr.
95-1								
95-2								
96-1								
96-2	15,1	35,2	45,2	76,9	75,0	100	60,0	35,8
97-1	0,7	19,2	34,0	50,0	90,9	66,7	100	21,5
97-2	7,0	10,3	40,0	54,2	33,3	75,0	66,7	18,8
98-1	0,0	14,0	13,6	50,0	66,7	20,0	75,0	15,2
98-2	18,2	11,3	17,9	37,5	0,0	50,0	42,9	18,5
99-1		33,3	25,0	62,5	66,7	0,0	50,0	35,3
SVA	0	1	2	3	4	5	>= 6	
AVA	0		1		2		>= 3	

Age des animaux

B: séroprévalence gE

Tableau Va : Groupe 1, distribution et évolution des effectifs et de l'incidence, au cours du temps, chez les mâles, à l'occasion de 6 recensements semestriels. Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau Vb : Groupe 1, distribution et évolution de la séroprévalence gE et de la séroprévalence moyenne, au cours du temps, chez les mâles, à l'occasion de 6 recensements semestriels. Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau VI : Groupe 2 : Evolution des effectifs, de l'incidence et de la séroprévalence gE au sein des cohortes de mâles

Cohortes de naissance (générations)	94-2	94-1	cumul des générations précédentes					effectifs semestriels	incidences semestrielles	Incidences avant étude
95-1										
95-2										
96-1										
96-2	8 / 57	40 / 126	5 / 28	2 / 6	3 / 7	5 / 8	1 / 0	232		64
97-1	1 / 104	6 / 52	4 / 89	1 / 10	0 / 4	1 / 4	0 / 10	273	0	13
97-2	2 / 37	3 / 101	0 / 38	1 / 12	0 / 3	1 / 3	0 / 8	202	0	7
98-1	0 / 97	1 / 37	0 / 76	0 / 16	1 / 3	1 / 2	0 / 9	240	0	3
98-2	2 / 24	13 / 97	0 / 26	2 / 11	0 / 3	0 / 2	0 / 4	167	0	17
99-1		0 / 21	1 / 62	0 / 7	0 / 7	0 / 0	0 / 5	102	0	1
SVA	0	1	2	3	4	5	>= 6			
AVA	0		1		2		>= 3			

Age des animaux

A: incidence

Cohortes de naissance (générations)	94-2	94-1	cumul des générations précédentes					séroprévalence moy semestr
95-1								
95-2								
96-1								
96-2	14,0	31,7	17,9	33,3	42,9	62,5	33,3	27,2
97-1	0,0	23,1	29,2	10,0	50,0	50,0	50,0	17,6
97-2	5,4	4,0	15,8	50,0	0,0	100	50,0	12,4
98-1	0,0	8,1	2,6	18,8	33,3	50,0	66,7	6,7
98-2	8,3	13,4	3,8	27,3	66,7	50,0	50,0	14,4
99-1		9,5	22,6	0,0	28,6	-	60,0	20,6
SVA	0	1	2	3	4	5	>= 6	
AVA	0		1		2		>= 3	

Age des animaux

B: séroprévalence gE

Tableau VIa : Groupe 2, distribution et évolution des effectifs et de l'incidence, au cours du temps, chez les mâles, à l'occasion de 6 recensements semestriels. Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau VIb : Groupe 2, distribution et évolution de la séroprévalence gE et de la séroprévalence moyenne, au cours du temps, chez les mâles, à l'occasion de 6 recensements semestriels. Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau VII : Groupe Contrôle Positif : Evolution des effectifs, de l'incidence et de la séroprévalence gE au sein des cohortes de mâles

Cohortes de naissance (générations)	94-2	94-1	cumul des générations précédentes						effectifs semestriels	incidences semestrielles	Incidences avant étude
95-1											
95-2											
96-1											
96-2	5 / 61	48 / 152	18 / 56	15 / 59	2 / 5	2 / 2	12 / 19		354		102
97-1	0 / 155	4 / 60	3 / 105	3 / 24	1 / 37	0 / 3	0 / 20	1	404	12	
97-2	2 / 74	6 / 155	4 / 45	1 / 39	0 / 5	1 / 5	1 / 14	0	337	15	
98-1	2 / 134	8 / 74	5 / 111	2 / 24	0 / 21	0 / 2	0 / 16	0	382	17	
98-2	0 / 43	10 / 107	0 / 43	0 / 14	0 / 7	1 / 9	0 / 7	0	230	11	
99-1		9 / 43	0 / 84	0 / 26	0 / 9	0 / 3	0 / 8	0	173	9	
SVA	0	1	2	3	4	5	>= 6				
AVA	0		1		2		>= 3				

Age des animaux

A: incidence

Cohortes de naissance (générations)	94-2	94-1	cumul des générations précédentes					séroprévalence moy. semestr.
95-1								
95-2								
96-1								
96-2	8,2	31,6	32,1	25,4	40,0	100	63,2	28,8
97-1	0,0	15,0	36,2	58,3	27,0	33	70,0	21,3
97-2	2,7	3,9	24,4	33,3	60,0	60,0	64,3	13,9
98-1	1,5	13,3	4,5	16,7	47,6	50,0	62,5	11,0
98-2	0,0	10,3	20,9	0,0	0,0	55,6	62,5	13,0
99-1		20,9	11,9	30,8	0,0	33,3	87,5	20,2
SVA	0	1	2	3	4	5	>= 6	
AVA	0		1		2		>= 3	

Age des animaux

B: séroprévalence gE

Tableau VIIa : Groupe contrôle positif, distribution et évolution des effectifs et de l'incidence, au cours du temps, chez les mâles, à l'occasion de 6 recensements semestriels. Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau VIIb : Groupe contrôle positif, distribution et évolution de la séroprévalence gE et de la séroprévalence moyenne, au cours du temps, chez les mâles, à l'occasion de 6 recensements semestriels. Les classes d'âge sont présentées selon 2 échelles : AVA = année(s) de vie accomplie(s) et SVA = semestre(s) de vie accompli(s).

Tableau VIII : Effectifs mâles et femelles cumulés; Séroprévalences (%) aux échéances semestrielles; Incidences cumulées de séroconversion envers gE durant le semestre précédant calculés à chaque échéance semestrielle, par groupe expérimental.

Effectifs / *Séroprévalences* / Incidences cumulées

Semestres	Groupe 1			Groupe 2			Contrôle		
97-1	1.120	*50,9*	-	1.375	*48,7*	-	1.855	*37,0*	-
97-2	1.268	*44,8*	52	1.461	*40,8*	42	1.979	*32,5*	43
98-1	1.167	*42,2*	50	1.340	*39,8*	61	1.823	*30,3*	59
98-2	1.203	*38,9*	35	1.395	*33,2*	33	1.882	*26,9*	59
99-1	988	*38,2*	21	1.200	*31,8*	26	1.386	*28,7*	62
99-2	831	*40,7*	23	871	*25,8*	5	1.234	*37,0*	90

Les semestres sont identifiés par les 2 derniers chiffres de l'année calendrier et l'ordinal chronologique.

globale des groupes a révélé des différences significatives (P = 0,0075). La probabilité de rester gE- est significativement supérieure dans le G2 par rapport au G1 (P = 0,0055) mais n'est pas différente du GCP (P = 0,5907). La probabilité de rester gE- dans le G1 s'est avérée être significativement inférieure au G2 (P = 0,0055) et au GCP (P = 0,0136).

3.3. Résumé des paramètres descriptifs de l'ensemble de la population étudiée au cours du temps : effectifs, séroprévalences, incidences cumulée

Le tableau VIII décrit, par groupe expérimental, le cumul des effectifs recensés au début du semestre considéré. Les semestres sont identifiés par les 2 derniers chiffres de l'année calendrier et par l'ordinal chronologique. Les séroprévalences gE apparentes ont été calculées aux mêmes échéances ainsi que les incidences semestrielles de séroconversion envers gE cumulées jusqu'à l'échéance considérée. Les mêmes constats ont été faits sur l'ensemble des animaux que dans les sous-populations classées par sexe : 1. une réduction des effectifs suivis a été observée au cours des 2 dernières échéances semestrielles, 2. une réduction de la séroprévalence gE a été observée dans les 2 groupes hyperimmunisés mais pas dans le GCP et 3. la réduction de séroprévalence était la plus marquée dans le groupe traité exclusivement avec les vaccins inactivés.

4. DISCUSSION

Une étude de cohorte, visant à évaluer l'efficacité de protocoles d'hyperimmunisation pour le contrôle de l'IBR, a été menée durant 28 mois sur le terrain. Elle a porté sur le suivi sérologique individuel de tous les bovins hébergés dans 38 troupeaux d'OTC-MLV, répartis au hasard dans 3 groupes expérimentaux. Cette étude a permis, dans la population femelle, de mettre en évidence une plus grande efficacité de l'hyperimmunisation au moyen de vaccins marqués inactivés comparativement à l'hyperimmunisation faisant appel à la combinaison des formulations marquées atténuées et inactivées ou encore aux protocoles classiques suivis au sein du GCP. Dans la sous-population mâle, si aucune différence entre groupes d'étude n'a pu être mise en évidence en considérant l'ensemble des cohortes, la probabilité d'infection par le BoHV-1 était la plus faible dans le G2 au sein de la sous-population des mâles nés après la mise en œuvre du projet.

Dans un cadre européen de libéralisation des échanges commerciaux, le statut sanitaire « indemne de maladie(s) contagieuse(s) » est un avantage considérable. En matière d'IBR, la Belgique n'occupe pas une position favorable à l'exportation. Le désir des Autorités sanitaires belges était d'évaluer l'efficacité des programmes d'hyperimmunisation et le cas échéant de promouvoir leur application en vue d'obtenir le statut officiellement indemne d'IBR.

L'hyperimmunisation de tous les animaux présents dans un troupeau poursuit 2 objectifs complémentaires. Le premier tend à conférer une protection virologique individuelle qui protègerait au mieux l'individu sain de l'infection tout en tentant d'inhiber la réexcrétion virale en cas de réactivation chez un porteur latent; le second tend à instaurer une immunité de troupeau qui limite l'extension d'une infection potentielle au sein du troupeau. Il était donc important d'évaluer l'efficacité de protocoles d'hyperimmunisation dans les conditions belges d'élevage et de prêter une attention particulière aux fermes dont l'OTC n'était pas exclusivement laitière.

La présente étude est la première à porter sur le suivi de cheptels mixtes, c'est-à-dire hébergeant à la fois animaux de type laitier et de type viandeux, dans un contexte d'hyperimmunisation contre l'IBR. D'autres études sur le terrain (Bosch *et al.*, 1998 ; Mars *et al.*, 2001 ; Dispas *et al.*, 2004) ont porté sur le suivi de cheptels laitiers et conclu à l'efficacité de l'administration répétée de vaccins marqués comme moyen de réduction d'incidence de séroconversion envers le BoHV-1. Une publication plus récente (Makoschey *et al.*, 2007) mentionne l'efficacité de l'hyperimmunisation au moyen de vaccins atténués dans divers OTC's, sans les préciser, en Hongrie, en Allemagne et en Italie. Les résultats de ces études sont dès lors difficilement comparables à ceux obtenus au cours de celle-ci.

Trois autres particularités de la présente étude la distinguent des expériences de terrain précitées. La première était le schéma de vaccination attribué au G1, basé sur l'administration successive de formulations atténuées et inactivées (Kerkhofs *et al.*, 2003). Ce protocole n'avait jamais été testé auparavant sur le terrain. La seconde particularité était la nature même du groupe témoin : un GCP dans lequel la vaccination était autorisée afin de définir si les protocoles d'hyperimmunisation étaient plus efficaces que les pratiques usuelles, c'est-à-dire la vaccination d'une partie du troupeau ou absence de vaccination. *Stricto sensu*, vis-à-vis du traitement appliqué, le groupe contrôle était constitué d'un sous-groupe contrôle positif (9 fermes) et d'un sous-groupe contrôle négatif (7 fermes) (Petrie et Watson, 2006). Toutefois, les éleveurs du GCP ont pu profiter des conseils de gestion des statuts sérologiques individuels gE des animaux prodigués à tous les éleveurs de l'étude, en particulier une communication claire sur leurs pratiques à risque et les résultats des bilans sérologiques semestriels. L'autorisation de vacciner, les conseils reçus et l'absence d'administration de placebo devraient permettre de considérer ce groupe comme étant le GCP adapté à l'étude demandée par les Autorités belges.

La dernière particularité de cette étude était sa durée de 28 mois. Cette durée a permis l'observation de l'effet de la vaccination durant une période plus proche de l'intervalle moyen de 3 ans entre deux épisodes de circulation virale après réactivation spontanée au sein d'un même troupeau (Straub, 1990).

Le suivi sérologique individuel a permis le recensement des séroconversions de semestre en semestre et le suivi de l'évolution de la séroprévalence par classe d'âge en fonction du temps. Les séroprévalences calculées et présentées sont des prévalences apparentes. Ces valeurs n'ont donc pas été corrigées pour tenir compte des valeurs intrinsèques de la trousse de diagnostic utilisée. Les valeurs de spécificité et de sensibilité du test ELISA (Van Oirschot *et al.*, 1997) n'ayant pas été définies dans une population soumise à la vaccination répétée, elles ne pouvaient être extrapolées à une population qui y est soumise (Toma *et al.*, 2001). Par ailleurs, la présente étude avait pour but de définir l'évolution de la séroprévalence en fonction du temps plutôt que d'en définir la valeur réelle dans la population. Le suivi sérologique possède néanmoins ses limites : il ne tient compte ni de la présence de porteurs latents séronégatifs (Lemaire

et al., 1995 ; 2000a ; 2000b) ni de la réinfection possible d'animaux déjà gE+. La circulation virale a donc pu être sous-estimée, en particulier au sein des groupes les plus âgés dont le niveau de prévalence était plus élevé.

Pour chaque échéance, la présentation conjointe des effectifs, des incidences et des séroprévalences associées à chacune des classes d'âge, a permis un suivi plus détaillé de l'effet de la vaccination sur les troupeaux. En effet, un animal infecté par le BoHV-1 devient porteur latent et resterait séropositif à vie. Au sein d'une même cohorte ou d'une même classe d'âge, la séroprévalence serait donc une mesure de l'incidence cumulée.

L'évolution des effectifs, des séroprévalences et des incidences sont présentés sous forme de diagrammes de Lexis. Cette représentation a permis d'examiner sur le même tableau une succession d'études transversales, un suivi de cohorte et l'observation d'un phénomène pour une classe d'âge constante. Dans le cadre de cette étude, les diagrammes de Lexis ne sont interprétables que si la décision de réforme d'un animal était indépendante de son statut sérologique. Aucun détenteur ne fit part de cette stratégie de contrôle lorsque la question fut posée lors d'enquêtes en vis-à-vis. Dès lors, l'efficacité de la vaccination répétée serait évaluée, au sein d'une cohorte d'animaux, par la constance de son niveau de séroprévalence. Comme corollaire, si la vaccination empêchait la circulation virale, de nouvelles générations d'animaux indemnes viendraient progressivement remplacer les anciennes générations dont le niveau de prévalence est plus élevé.

Dans la sous-population femelle, ces deux phénomènes furent conjointement observés dans les groupes 1 et 2 mais pas dans le GCP. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus au cours de l'étude conjointe menée en cheptels laitiers (Dispas *et al.*, 2004). Toutefois, dans la présente étude, les différences observées entre G1 et GCP n'étaient pas significatives, alors qu'elles l'étaient dans l'étude de Dispas et collaborateurs (2004). La moindre efficacité apparente du protocole suivi par le groupe 1 démentirait l'avantage théorique de l'administration d'un vaccin atténué qui avait conféré expérimentalement une protection précoce (Bosch *et al.*, 1996 ; Kaashoek *et al.*, 1996 ; Makoschey et Key, 2000). Il est cependant possible que les différences de niveau de séroprévalence observés entre groupes expérimentaux au début de l'étude aient biaisé les résultats.

En effet, le niveau le plus élevé était observé dans le G1 (50,9 %), suivi par le G2 (48,7 %). C'est au sein du GCP que la séroprévalence était la plus faible (37,0 %). Les animaux porteurs latents constituant un « réservoir » viral au sein du troupeau, la fréquence de réactivation du BoHV-1 au sein d'un troupeau serait d'autant plus grande que le nombre de porteurs latents est important. L'étude de la séroprévalence en tant que facteur de risque fut tentée mais n'a présenté pas d'effet significatif.

Il n'est pas à exclure qu'une étude plus longue ait permis de mettre en évidence une différence significative entre le protocole de formulations combinées (G1) et le groupe témoin, telle qu'elle s'amorce dans les groupes d'animaux nés après le début de l'étude. Par ailleurs, il est plus difficile de montrer une différence significative entre groupes suivant un nouveau traitement et groupe contrôle positif qu'entre groupe traité et groupe placebo (Petrie et Watson, 2006). D'une manière générale, l'effet réduisant le plus intensément la circulation virale au sein des femelles semblerait donc être l'administration de formulations inactivées, également reconnues plus efficace sur la réduction de l'excrétion virale après réactivation que ne l'est la formulation atténuée (Bosch *et al.*, 1997).

Au sein de la sous-population mâle, l'analyse de survie n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative entre groupes expérimentaux, toutes cohortes confondues. Néanmoins, une réduction significative de la probabilité d'infection fut observée entre le G2 et le G1 au sein des cohortes nées après le début du projet. Plusieurs facteurs peuvent toutefois biaiser les résultats : les différences de séroprévalence gE au début de l'étude (la plus élevée dans G1), le manque de puissance du test, le faible effectif des groupes étudiés, le processus de constitution de lots d'engraissement et le type d'hébergement. Dans ces exploitations mixtes, les mâles sont exposés à une succession de risques d'infection : le contact avec les mères gE+ puis le contact avec des bovins éventuellement originaires d'autres troupeaux, à l'occasion de la constitution de lots d'engraissement. Malheureusement, dans cette étude, la disparité de l'organisation des fermes et le petit nombre d'exploitations suivies n'a pas permis d'identifier de facteur de risque significatif.

D'une manière générale, les croisements de courbes de survie (Figure 3, A à D) dénotaient une absence de proportionnalité du risque de séroconversion entre groupes expérimentaux La transformation des variables et leur modélisation fut tentée mais abandonnée : l'adjonction au modèle d'un effet « random » pour tenir compte du *clustering* des animaux au sein de chaque ferme estompait les différences entre groupes. Le recours au modèle le plus simple, le test non-paramétrique du *Logrank*, a été retenu pour l'analyse des données. Afin de vérifier si la défection de 4 troupeaux à l'occasion du dernier bilan sérologique avait eu un impact sur les conclusions proposées, les mêmes analyses statistiques furent réalisées en ne tenant aucun compte des données recueillies pour ces troupeaux depuis le début de l'étude. Les conclusions obtenues sont identiques à celles présentées pour l'étude globale.

Les résultats présentés dans cette étude ne sont sans doute pas directement extrapolables à des exploitations qui détiennent de plus grands nombres d'animaux. En particulier, les niveaux de séroprévalence élevés y sont généralement plus fréquents (Woodbine *et al.*, 2009). Ces exploitations peuvent être exposées de manière plus importante à des facteurs de risques : achats d'animaux non contrôlés, contact avec d'autres troupeaux, nombre accru de visiteurs extérieurs (Boelaert *et al.*, 2005). Ces facteurs de risques sont connus et devraient être maîtrisés.

Remarquons encore que la présente étude porte sur le démarrage d'un programme de contrôle de l'IBR dans un environnement sans contraintes. L'attribution de statuts sanitaires (Service Public Fédéral, 2007) accompagnée des restrictions aux achats liés à leur maintien ainsi que la mise en œuvre d'un programme de contrôle de l'IBR, au niveau national, permettrait de limiter l'impact de ces facteurs de risque. Seule une étude du suivi de l'efficacité des protocoles de vaccination dans leur contexte de lutte officielle déjà en cours permettrait d'en évaluer les réels effets.

L'hyperimmunisation ne conférant pas une protection virologique, il reste fondamental de respecter des mesures d'hygiène strictes, qui, à elles seules,

permettent l'assainissement des troupeaux d'engraissement (Ackermann *et al.*, 1990). A défaut de mesures sanitaires adéquates, il serait opportun de considérer l'hyperimmunisation des mâles comme mesure de protection du troupeau dans son ensemble, afin d'éviter la création d'un groupe d'animaux déforçant l'immunité globale du troupeau. La vaccination la plus précoce des mâles serait alors à recommander ainsi qu'une constitution de lots d'engraissement en fonction du statut sérologique : animaux gE+ physiquement séparés des gE-.

Dans la sous-population femelle, les protocoles d'hyperimmunisation ont donc permis de réduire la probabilité de séroconversion envers gE par rapport au GCP. Seul le protocole faisant usage exclusif de vaccin inactivé a présenté un avantage significatif par rapport au contrôle.

Au sein de la sous-population mâle, aucune différence significative ne fut démontrée, toutes cohortes confondues. Un effet favorable de l'administration répétée de vaccins inactivés (G2) fut toutefois montré au sein des cohortes nées après le début de l'étude.

La vaccination répétée au moyen de vaccins inactivés semble donc être un instrument efficace de contrôle de l'IBR en Belgique au sein des troupeaux mixtes. Son efficacité serait encore améliorée par le respect de mesures sanitaires, en particulier dans la gestion des lots d'engraissement.

Une étude de facteur de risque évoluant dans le temps, prenant en compte un plus grand nombre de fermes et d'animaux et portant sur une période plus longue devrait compléter la présente étude.

ABSTRACT

Reduction of the seroconversion incidence against bovine herpesvirus 1 in dairy/beef mixed herds by the repeated administration of inactivated gE deleted marker vaccines

A cohort study was conducted in dairy/beef mixed herds (DBMH) to assess the efficacy of hyperimmunisation for the control of bovine herpesvirus 1 (IBR). Two protocols using repeated administrations of vaccine were compared to a positive control group (PCG). Only the primovaccination was different in the hyperimmunised herds : in group 1, live attenuated vaccine was given firstly intra-nasally then by intramuscular route, in group 2 an inactivated vaccine was twice given subcutaneously. Boosters were identical in both groups: inactivated vaccines given subcutaneously about every 6 months. In the PCG, yearly vaccination of a part of the animals was the general rule.

The efficacy of the protocols was studied by survival analysis considering times to seroconversion towards the gE glycoprotein. In cattle of group 2, a significantly larger proportion of animals remained seronegative compared to group 1 and to PCG. The probabilities of seroconversion were different among groups considering gender and birth cohorts. Although a reduction of gE seroprevalence was observed in group 1, only group 2 showed a significant advantage for the control of IBR in DBMH compared to PCG.

REMERCIEMENTS

Les auteurs souhaitent remercier le Fonds de la Santé Animale et de la Qualité des Produits Animaux, qui a intégralement financé la présente étude, ainsi que les sociétés Bayer et Hoechst, qui ont fourni tous les vaccins utilisés durant l'étude. Les auteurs remercient également les Drs. G. Bertels, G. Czaplicki, P. Deblicquy et J. Wullepit, des Centres de Guidance et de Prévention des Maladies du Bétail, pour leurs très actives et très appréciés participations et soutien au projet. Les auteurs remercient vivement les médecins vétérinaires d'exploitation, cités par ordre alphabétique : les Docteurs Arens, Coulon, Demortier, De Roo, Devillers, Devos, D'haeze, Doyen, Ghijssens, Grégoire, Halleux, Ide, Lambotte, Leen, Melchior, Michiels, Nuyten, Peeters, Plasman, Pollentier, Quoilin, Rombaux, Rosier, Sacré, Verhaege, Verhellen, Willem et Xhonneux, pour leur excellent travail sur le terrain. Que soient également remerciés tous les détenteurs d'animaux qui nous ont accueillis dans leur ferme ainsi que Mme Hamande, et MM. Maindiaux, Massard et Sorgeloos pour les analyses sérologiques et l'encodage des données. Que soit enfin remercié Mr Couché, IR, pour la programmation relative à la mise en page des diagrammes de Lexis.

ACKERMANN M., WEBER H., WYLER R. Aspects of infectious bovine rhinotracheitis eradication programmes in a fattening cattle farm. *Prev. Vet. Med.*, 1990, **9**, 121-130.

ANDERSON R.M. et MAY R.M. Population biology of infectious diseases. *Nature*, 1979, **280**, 361-367.

COMMISSION EUROPÉENNE. Décision 2007/584/EC modifiant la Décision 2004/558/EC, implémentant la Directive du Conseil 64/432/EEC relative aux garanties additionnelles pour le commerce intra-communautaire des bovins en ce qui concerne la rhinotrachétie infectieuse bovine et l'approbation de programmes d'éradication présentés par certains Etats Membres (2007). [en ligne] (24/08/2007); Adresse URL : http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:219:0037:0041:EN:PDF, consulté le 04/03/09

BARKEMA H., BARTELS C., VAN WUIJCKHUISE L., HESSELINCK J., HOLZHAUER M., WEBER M., FRANKEN P., KOCK P., BRUSCHKE C., ZIMMER G. Outbreak of bovine virus diarrhea on Dutch dairy farms induced by a bovine herpesvirus 1 marker vaccine contaminated with bovine viral diarrhea virus type 2. *Diergeneeskd. Tijdschr.*, 2001, **126**, 158-165.

BLAND J.M., ALTMAN D.G. Multiple significance tests : the Bonferroni method. *Brit. Med. J.,* 1995, **310**, 170.

BOSCH J., KAASHOEK M., KROESE A., VAN OIRSCHOT J. An attenuated bovine herpes-virus 1 marker vaccine induces a better protection than two inactivated marker vaccines. *Vet. Microb.*, 1996, **52**, 223-234.

BOSCH J.C., KAASHOEK M.J., VAN OIRSCHOT J.T. Inactivated Bovine Herpesvirus 1 (BHV1) marker vaccines are more efficacious in reducing virus excretion after reactivation than a live marker vaccine. *Vaccine*, 1997, **15**, 1512-1517.

BOSCH J., DE JONG M., FRANKEN P., FRANKENA K., HAGE J., KAASHOEK M., MARIS-VELDHUIS M., NOORDHUIZEN J., VAN DER POEL W., VERHOEF J., WEERDMEESTER K., ZIMMER G., VAN OIRSCHOT J.T. An inactivated gE-negative marker vaccine and an experimental gD-subunit vaccine reduce the incidence of bovine herpesvirus 1 infections in the field. *Vaccine*, 1998, **16**, 265-271.

BRAR J.S., JOHNSON D.W., MUSCOPLAT C.C., SHOPE R.E., MEISKE J.C. Maternal immunity to infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhea viruses: duration and effect on vaccination in young calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1978, **39**, 241-244.

DE WERGIFOSSE B., LEMAIRE M., PASTORET P.-P., THIRY E. Etablissement d'un plan volontaire de contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine en Région wallonne de Belgique. *Ann. Med. Vet.*, 1997, **141**, 185-196.

DISPAS M., LEMAIRE M., SPEYBROEK N., BERKVENS D., DUPONT A., BOELAERT F., DRAMAIX M., VANOPDENBOSCH E., KERKHOFS P., THIRY E. Deux protocoles d'hyperimmunisation au moyen de vaccins marqués réduisent l'incidence de séroconversion envers l'herpèsvirus bovin de type 1 en cheptels laitiers : résultats d'une étude sur le terrain. *Ann. Med. Vet.*, 2004, **148**, 47-61.

HILL C., COM-NOUGUE C., KRAMAR A., MOREAU T., O'QUIGLEY J., SENOUSSI R., CHASTANG C. Comparaison de la survie de deux ou plusieurs groupes- approche non paramétrique. In : Hill C., Com-Nougué C., Kramar A., Moreau T., O'Quigley J., Senoussi R., Chastang C., Analyse statistique des données de survie. Flamarion Médecine-Sciences : Paris, 1996, 37-55.

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., VAN OIRSCHOT J.T. Early immunity induced by a live gE-negative bovine herpesvirus 1 marker vaccine. *Vet. Microb.*, 1996, **53**, 191-197.

KAPLAN E.L., MEIER P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Stat. Assoc.*, 1958, **53**, 457-481.

KERKHOFS P., RENJIFO X., TOUSSAINT J.-F., LETELLIER C., VANOPDENBOSCH E., WELLEMANS G. Enhancement of the immune response and virological protection of calves against bovine herpesvirus-1 with an inactivated gE-deleted vaccine. *Vet. Rec.,* 2003, **152**, 681-686.

KRAMPS J.A., PERRIN B., EDWARDS S., VAN OIRSCHOT J.T. A European inter-laboratory trial to evaluate the reliability of serological diagnosis of bovine herpesvirus 1 infections. *Vet. Microbiol.,* 1996, **53**, 153-161.

LEMAIRE M., MEYER G., ERNST E., VANHERREWHEGE 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., 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**, 1885-1884.

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.

MAKOSCHEY B., KEIL G.M. Early immunity induced by a glycoprotein E-negative vaccine for infectious bovine

rhinotracheitis. *Vet. Rec.*, 2000, **147**, 189-191.

MAKOSCHEY B., ZEHLE H.H., BUSSACCHINI M., VALLA G., PÁLFI V., FÖLDI J. Efficacy of a live bovine herpesvirus type 1 marker vaccine under field conditions in three countries. *Vet. Rec.*, 2007, **161**, 295-298.

MARS M.H., DE JONG M.C.M., FRANKEN P., VAN OIRSCHOT J.T. Efficacy of a live glycoprotein E-negative bovine herpesvirus 1 vaccine in cattle in the field. *Vaccine,* 2001, **19**, 1924-1930.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE Arrêté du 27 novembre 2006 fixant des mesures de prophylaxie collective de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR). [en ligne] (19/12/2006) Adresse URL : http://www.legifrance.gouv.fr/jopdf//jopdf/2006/1219/joe_20061219_0293_0016.pdf, consulté le 04/03/09.

MINISTERE DES CLASSES MOYENNES ET DE L'AGRICULTURE Arrêté royal relatif du 08 août 1997 relatif à la qualification des troupeaux dans la lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Monit. Belg.*, 1997, **F97-1821**, 22312-22314.

MUYLKENS B., MEURENS F., SCHYNTS F., DE FAYS K., POURCHET A., THIRY J., VANDERPLASSCHEN A., ANTOINE N., THIRY E. Biological characterization of bovine herpesvirus 1 recombinants possessing the vaccine glycoprotein E negative phenotype. *Vet. Microb.*, 2006, **113**, 283-291.

MUYLKENS B., THIRY J., KIRTEN P., SCHYNTS F., THIRY E. Bovine herpesvirus infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Res.*, 2007, **38**, 181-209

PASTORET P.-P., THIRY E., BROCHIER B., DERBOVEN G. Bovid herpesvirus 1 infection of cattle : pathogenesis, latency, consequences of latency. *Ann. Rech. Vet.,* 1982, **13**, 221-235.

PETO R., PETO J. Asymptotically efficient rank invariant test procedures (with discussion). *J. R. Stat. Soc.*, 1972, **135**, 185-207.

PETRIE A., WATSON P. Experimental design and clinical trials. In: Petrie A., Watson P., Statistics for veterinary and animal science. Blackwell Science : London, 2006, 54-72.

ROIZMAN B., PELLETT P. The family herpesviridae : a brief introduction. In: Knipe D.M., Howley P.M. (Eds), Fields Virology. Lippincott William & Wilkins : Philadelphia, 2001, 2381-2397.

SERVICE PUBLIC FEDERAL SANTE PUBLIQUE, SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT ET AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE Arrêté royal du 22 NOVEMBRE 2006, relatif au contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Monit. Belg.,* 2007, **3**, 147-164.

SCHYNTS F., LEMAIRE M., BARANOWSKI E., THIRY E. La glycoprotéine gE de l'herpèsvirus bovin de type 1 et les nouveaux vaccins marqués. *Ann. Med. Vet*., 1998, **142**, 21-32.

STRAUB O.C. Infectious bovine rhinotracheitis virus. In : Dinter Z., Morein B. (Eds), Virus infections of ruminants. Elsevier Science Publishers : Amsterdam, 1990, 71-108.

TAPINOS G. Les caractéristiques d'une population. In : Tapinos G., Eléments de Démographie. Armand Collin Editeurs : Paris, 1991, 29-44.

THIRY E., SALIKI J., SCHWERS A., PASTORET P.-P. Parturition as a stimulus of IBR reactivation. *Vet. Rec.*, 1985, **116**, 599-600.

THIRY E., SALIKI J., BUBLOT M., PASTORET P.-P. Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transport. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1987, **10**, 59-63.

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. Trav. Vet.,* 1997, **568**, 69-75.

TOMA B., DUFOUR B., SANAA M., BENET J.-J., SHAW A., MOUTOU F., LOUZA A. Le dépistage des maladies infectieuses animales. In : Toma B., Dufour B., Sanaa M., Benet J.-J., Shaw A., Moutou F., Louza A., Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. Association pour l'Etude de l'Epidémiologie des Maladies Animales : Maisons-Alfort, 2001, 41-95.

VAN OIRSCHOT J.T., KAASHOEK M.J., MARIS-VELDHUIS 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.

WOODBINE K.A., MEDLEY G.F., MOORE S.J., RAMIREZ-VILLAESCUSA A.M., MASON S., GREEN, L.E. A four year longitudinal sero-epidemiological study of bovine herpes-virus type-1 (BHV-1) in 107 unvaccinated herds in south west England. BMC Vet. Res., 2009, 5. [en ligne] Adresse URL : http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1746-6148-5-5.pdf, consulté le 26/06/09.