

MESURE DE L'EFFET DE L'HYPERIMMUNISATION POUR LE CONTROLE DE LA RHINOTRACHEITE INFECTIEUSE BOVINE DANS LES TROUPEAUX LAI TIERS EN BELGIQUE : ANALYSE DE SURVIE*

Marc Dispas¹, Pierre Kerkhofs¹, Etienne Thiry²

RESUME : En préfigurant un programme de contrôle de l'IBR basé sur l'hyperimmunisation à l'aide de vaccins marqués gE négatifs, le suivi sérologique individuel des animaux hébergés dans 32 exploitations laitières réparties en trois groupes expérimentaux fut réalisé durant 28 mois. Le premier groupe suivait un protocole de vaccination combinée (vaccins atténués puis inactivés) alors que le deuxième n'était vacciné qu'avec des formulations inactivées. Le troisième groupe servait de contrôle positif. Les groupes furent comparés par analyse de survie, l'événement considéré étant la séroconversion envers la glycoprotéine gE (gE) de l'herpesvirus bovin 1.

Les deux protocoles de vaccinations répétées ont permis une réduction significative de l'incidence de séroconversion envers gE par rapport au groupe contrôle.

Aucune différence significative entre protocoles d'hyperimmunisation ne fut mise en évidence. Bien qu'ils n'aient pas conféré une protection virologique totale, les deux protocoles de vaccinations pourraient être utilisés comme moyen de contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine dans les troupeaux laitiers.

SUMMARY : To prefigure an IBR control programme based on the hyperimmunization with marker vaccines the individual serological follow up of cattle held in 32 dairy herds, spread in three experimental groups, was performed during 28 months. The first group was vaccinated according to a protocol combining attenuated and inactivated vaccines. The second group was exclusively vaccinated with inactivated vaccine. The third group was a positive control group. The groups were compared by the mean of a survival analysis, the considered event was the seroconversion against the glycoprotein gE (gE) of the bovine herpesvirus 1.

Both protocols of hyperimmunization allowed for a significant decrease of seroconversion incidence against gE compared to the control group.

No significant difference was shown between hyperimmunization protocols. Although they failed in conferring a total virological protection, both hyperimmunization protocols might be used as control tool of infectious bovine rhinotracheitis in dairy herds.



* Communication présentée lors de la Journée AEEMA-AESA, 23 mai 2003

¹ Centre d'Etudes et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques, Groeselenberg 99, B - 1180 Bruxelles, Belgique. (Email : Marc Dispas : madis@var.fgov.be ; Pierre Kerkhofs : piker@var.fgov.be).

² Département des Maladies Infectieuses et Parasitaires, Virologie et Epidémiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Blvd de Colonster B43 bis, B - 4000 Liège, Belgique. (Email : etienne.thiry@ulg.ac.be)

I - INTRODUCTION

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR), maladie due à l'herpèsvirus bovin 1 (BoHV-1), occasionne des pertes économiques importantes [Wiseman *et al.*, 1979]. Sa distribution mondiale en fait une maladie majeure du bétail [Straub, 1990]. L'IBR est classée dans la liste B selon les critères de l'OIE. L'atteinte respiratoire est la forme la plus fréquemment rencontrée [Lemaire *et al.*, 1994]. Les formes affectant le système reproducteur sont les métrites après césarienne, la vulvo-vaginite infectieuse pustuleuse et la balanoposthite [Kahrs *et al.*, 1977]. Le BoHV-1 est également responsable d'encéphalites [Meyer *et al.*, 2000] et d'une forme systémique mortelle pour le veau dépourvu de protection colostrale [Thiry *et al.*, 1997].

Au sein de l'Union Européenne, plusieurs Etats membres ont acquis le statut officiellement indemne [Anonymous, 2000 ; Thiry *et al.*, 1999] alors que d'autres ont fait approuver un plan d'éradication : Allemagne, France et Pays-Bas [Franken, 2002]. Ces statuts sanitaires particuliers permettent à ces pays d'interdire l'importation de bovins sur pieds en provenance de pays de statut sanitaire inférieur.

Afin de préserver les filières commerciales d'exportation de bovins, le Gouvernement belge a élaboré un plan de lutte sur base volontaire pour contrôler l'IBR [Anonymous, 1997]. La dernière enquête réalisée en Belgique estimait la séroprévalence, à l'échelle des animaux, à 67,0% [Boelaert *et al.*, 2000], situation qui impose le recours à la vaccination comme moyen de contrôle de l'IBR. La mise à disposition de vaccins marqués, délétés dans le gène codant pour la glycoprotéine E (gE-) [Kaashoek *et al.* 1994 ; Kaashoek *et al.*, 1995], et des trousseaux ELISA de détection d'anticorps

anti-gE [Van Oirschot *et al.*, 1997] a permis d'élaborer des plans de contrôle de l'IBR basés sur la vaccination répétée (ou hyperimmunisation) associée au suivi sérologique des animaux.

Afin d'évaluer la faisabilité d'un plan de contrôle de l'IBR, une étude sur le terrain a été menée durant 28 mois. Deux protocoles d'hyperimmunisation par administrations répétées de vaccins marqués ont été comparés à un groupe témoin, de type contrôle positif [Petrie *et al.*, 1999], c'est-à-dire un groupe dans lequel les schémas habituels de vaccination sont inchangés. Les protocoles de vaccination testés diffèrent quant à la primo-vaccination. Le premier protocole (P1) s'inspire des recherches de Kerkhofs et collaborateurs [2003] en faisant usage de vaccins atténués gE- administrés par voie intra-nasale puis intramusculaire un mois plus tard. Le second (P2) utilise les vaccins inactivés administrés par voie sous-cutanée. Les rappels, vaccins inactivés uniquement, furent ensuite administrés tous les 6 mois environ.

Une analyse de survie, qui compare entre groupes l'apparition des séroconversions envers gE durant 28 mois, a permis de conclure à la plus grande efficacité des deux protocoles de vaccinations répétées sur la réduction de séroconversion envers gE, comparativement à celle observée dans le groupe témoin positif. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre protocoles de vaccination. Les deux protocoles de vaccination pourraient donc être utilisés sur le terrain comme moyen de contrôle de l'IBR en Belgique.

II - MATERIEL ET METHODES

1. SÉLECTION DES TROUPEAUX, PROTOCOLES DE VACCINATION ET CALENDRIER DU SUIVI SÉRO-LOGIQUE

Les protocoles furent assignés par tirage au sort au sein d'un groupe de 48 éleveurs volontaires sélectionnés au préalable par les médecins vétérinaires d'exploitation. La taille des troupeaux devait permettre à l'exploitant de vivre des seuls revenus de la ferme et ne pouvait excéder 160 animaux, pour permettre

le suivi d'un maximum d'exploitations tout en restant dans une enveloppe budgétaire fixe. Le protocole fut assigné au cheptel, c'est-à-dire que tous les animaux devaient subir le même protocole, qu'ils aient été présents dès le début du suivi, aient été achetés ou soient nés ensuite.

La répartition des fermes par protocole et les schémas de vaccinations sont détaillés au tableau I. Les vaccins atténués (Bayovac®

IBR-Marker vivum, Bayer AG ; Rhinobovin[®] Marker Live, Intervet) et inactivés (Bayovac[®] IBR-Marker inactivatum, Bayer AG; Rhinobovin[®] Marker inactivated, Intervet) furent utilisés selon les recommandations du fabricant.

Le suivi sérologique des animaux fut organisé selon un calendrier compatible avec la facilité de contention : au début de l'étude en janvier 1997, puis lors des sorties

des troupeaux pour les périodes de pâture et lors des retours pour la période de stabulation (figure 1).

Les inventaires de troupeaux furent extraits du registre national d'identification des bovins, ce qui a permis de définir les dates de naissance, d'achat et de vente de tous les animaux testés.

Tous les prélèvements furent analysés individuellement avec une trousse de diagnostic de détection d'anticorps dirigés contre la glycoprotéine gE du BoHV-1 (gE Antibody Test kit HerdCheck[®] IDEXX). Les résultats ininterprétables furent considérés comme positifs [de Wergifosse *et al.*, 1997].

Tableau I

Répartition par groupe expérimental des nombres de fermes sélectionnées et suivies, des effectifs testés au premier bilan sérologique et résumé des protocoles de vaccination

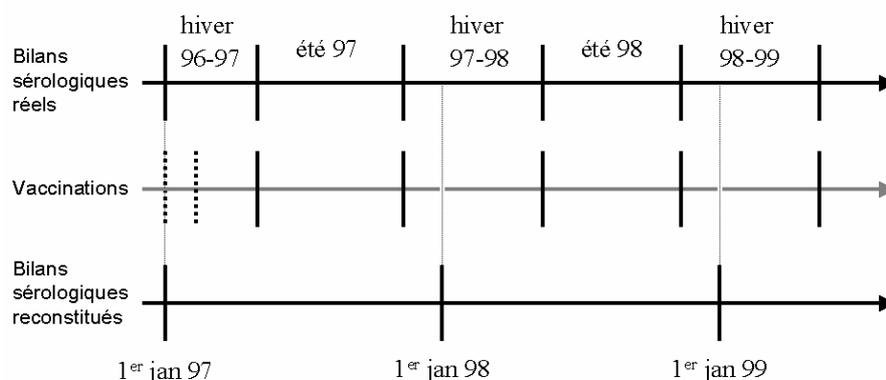
- a nombre d'exploitations ayant satisfait aux critères d'inclusion et ayant été suivies jusqu'à la fin de l'étude,
 b effectif : nombre d'animaux femelles au début de l'étude (janvier 1997) ,
 c atténué : première administration intra-nasale, seconde par voie intramusculaire,
 d inactivé : toujours administré par voie sous-cutanée.

Groupes	N (fermes) (tirage au sort)	N suivis ^a	Effectif ^b	Primo-vaccination	Rappels	Âge à l'entrée
Groupe 1	10	10	1112	V. atténué ^c	V. inactivé ^d	1 mois
Groupe 2	10	8	817	V. inactivé ^d	V. inactivé	3 mois
Groupe 3	16	12	1222	Libre	Libre	1 mois

Figure 1

Correspondances entre dates des bilans sérologiques réels (intervalles saisonniers) et date des bilans sérologiques reconstitués pour les trois groupes expérimentaux et les vaccinations dans les groupes P1 et P2.

Les dates de primovaccinations effectuées au début du suivi sont indiquées en pointillés.



2. ÉPIDÉMIOLOGIE DESCRIPTIVE

Les inventaires de troupeaux furent reconstitués pour trois échéances annuelles : les 1^{er} janvier 1997, 1998 et 1999. Le statut sérologique individuel pour chacune de ces échéances fut calqué sur le statut défini à la date du bilan sérologique la plus proche. A chaque échéance, les animaux furent regroupés en cinq classes d'âge : La première catégorie comprenait les animaux âgés de [0 à 1 an [(C1), la deuxième, les animaux âgés de [1 à 2 ans [(C2), la troisième, le groupe âgé de [2 à 3 ans [(C3), la quatrième celui âgé de [3 à 4 ans [(C4) et la cinquième, les animaux âgés de 4 ans accomplis et plus (C5).

Au sein de chaque classe, le taux de séroprévalence envers gE fut calculé. Les évolutions des taux de prévalence en fonction du temps et de la classe d'âge sont présentées

dans trois diagrammes à cinq entrées : un diagramme par groupe expérimental (figures 3, 4 et 5).

Le principe de ces diagrammes nécessite une explication préalable (figure 2). Au sein de chaque groupe expérimental, l'effectif de chaque classe d'âge est représenté par la surface totale de chaque symbolisation de vache. Cette surface est relative à la taille de l'effectif de la cinquième classe, considéré comme constant. Le taux de séroprévalence intra-classe est représenté par la surface grisée. Trois bilans sont reconstitués : ils correspondent à trois enquêtes transversales théoriques effectuées le premier janvier des années 1997, 1998 et 1999. Sur base de ces trois bilans, on peut suivre l'évolution de la séroprévalence au sein d'une cohorte (diagonales du diagramme) ou au sein d'une classe d'âge constante (lecture par colonnes).

Figure 2

Diagramme à 5 entrées : les animaux d'un groupe expérimental sont répartis en 5 classes d'âge lors de 3 bilans sérologiques.

La surface de chaque vache est proportionnelle à la taille de l'effectif au sein de la classe d'âge et relative à celle du groupe âgé de plus de 4 ans, considéré comme constant. L'aire colorée figure le taux de séroprévalence envers gE propre à la classe d'âge considérée.

Les incidences (nulle) figurent à droite entre chaque bilan sérologique.

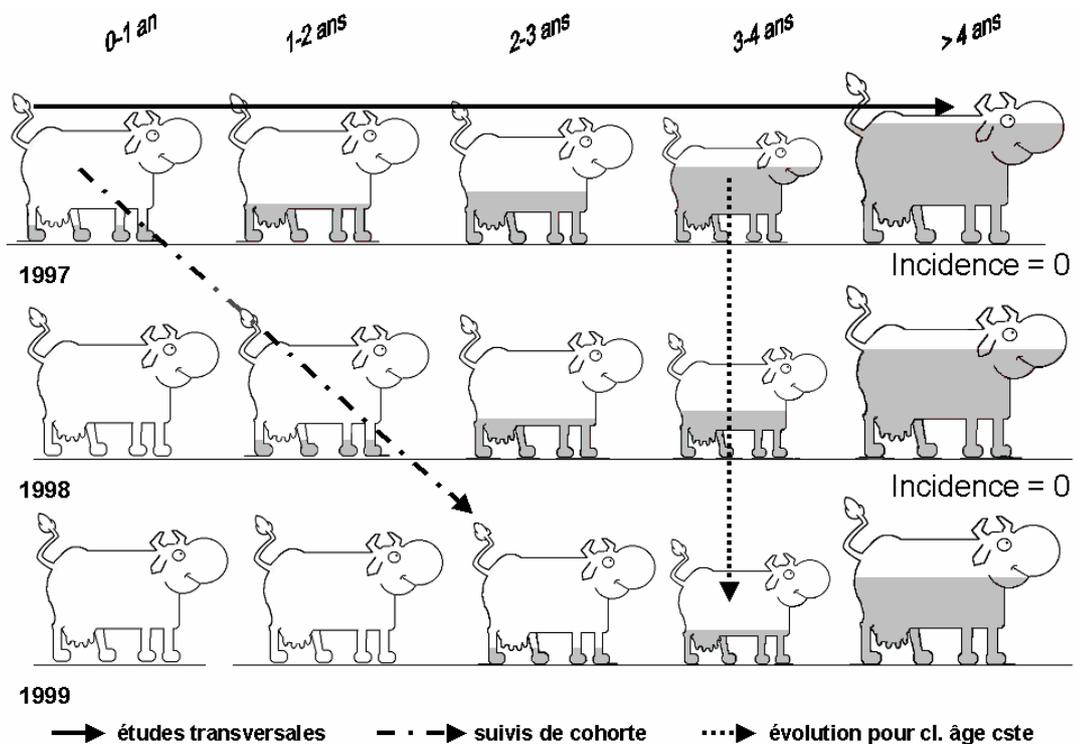


Figure 3

Evolution de la distribution de séroprévalence par classe d'âge en fonction du temps dans le groupe P1, estimée aux 1^{ers} janvier 1997, 1998 et 1999.
 Les effectifs par classe et les taux de prévalence sont indiqués sous chaque animal. Les incidences recensées dans tous les groupes expérimentaux durant les 2 intervalles figurent à droite entre chaque bilan sérologique.

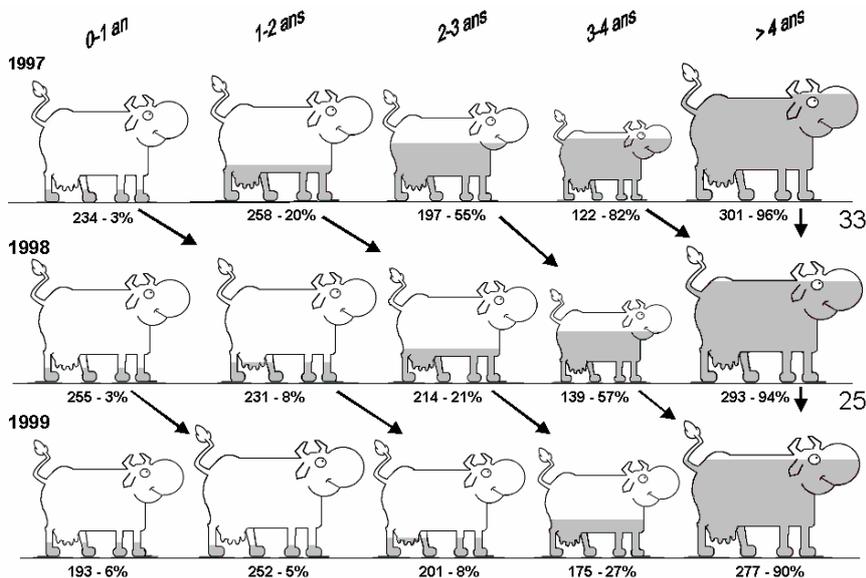


Figure 4

Evolution de la distribution de séroprévalence par classe d'âge en fonction du temps dans le groupe P2, estimée aux 1^{ers} janvier 1997, 1998 et 1999.
 Les effectifs par classe et les taux de prévalence sont indiqués sous chaque animal. Les incidences recensées dans tous les groupes expérimentaux durant les 2 intervalles figurent à droite entre chaque bilan sérologique.

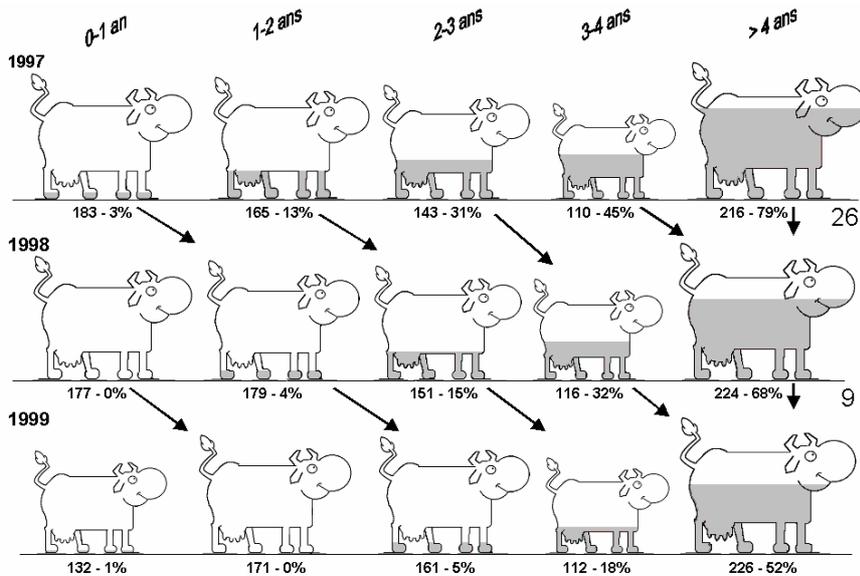
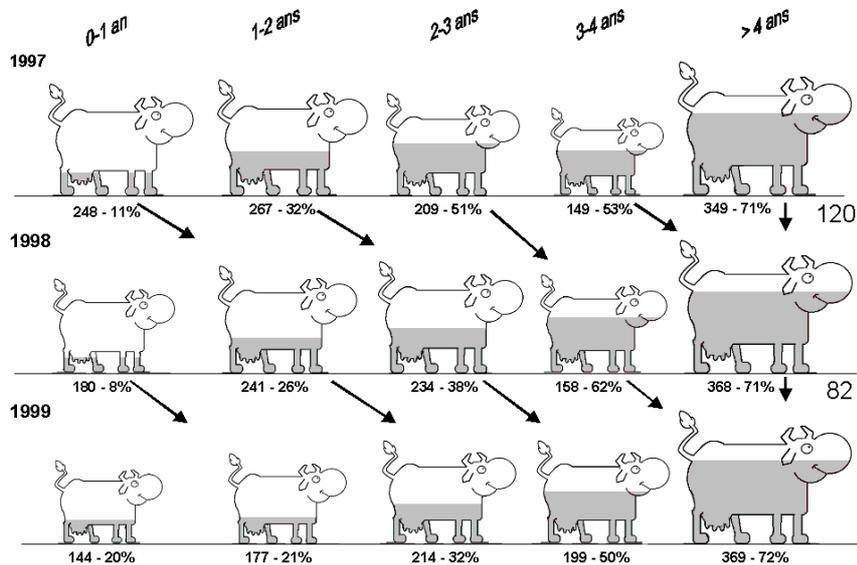


Figure 5

Evolution de la distribution de séroprévalence par classe d'âge en fonction du temps dans le groupe témoin, estimée aux 1^{ers} janvier 1997, 1998 et 1999.

Les effectifs par classe et les taux de prévalence sont indiqués sous chaque animal. Les incidences recensées dans tous les groupes expérimentaux durant les 2 intervalles figurent à droite entre chaque bilan sérologique.



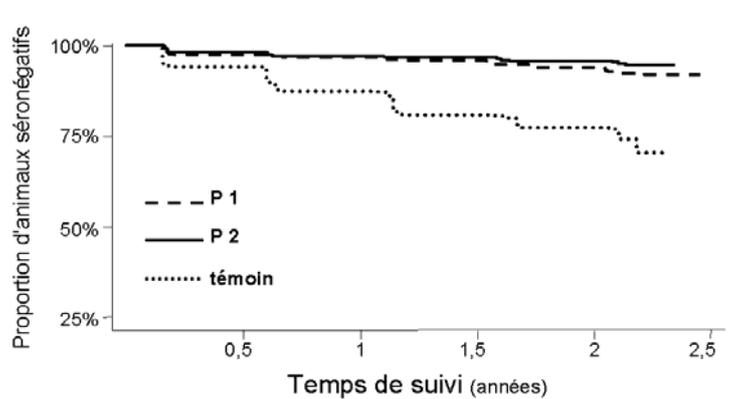
3. ÉPIDÉMIOLOGIE ANALYTIQUE

Les proportions d'animaux restés séronégatifs envers gE en fonction du temps passé dans l'étude sont comparées par une analyse de survie [Hill *et al.*, 1996]. Ces proportions sont portées en graphe selon Kaplan et Meier [1958] (figure 6) et sont comparées à chaque séroconversion au moyen du test du Logrank [Peto *et al.*, 1972]. N'ont été inclus dans

l'analyse que les troupeaux au sein desquels au moins une séroconversion fut observée [Mars *et al.*, 2001]. Les animaux achetés en cours d'étude et séronégatifs ont été pris en compte dès le jour officiel de leur entrée dans le troupeau. Les animaux déclarés séropositifs au premier test n'ont pu être intégrés à cette analyse. Les bovins mâles n'ont pas été inclus dans cette analyse.

Figure 6

Courbes de survie des animaux séronégatifs envers gE, en fonction du temps passé dans l'étude et du groupe expérimental



Le seuil de rejet d'hypothèse d'égalité des courbes de survie a été fixé à 5 %. Des différences significatives entre groupes ayant été mises en évidence, des comparaisons 2 à 2 des courbes de survie ont ensuite été effectuées. Pour ces comparaisons, la correction de Bonferroni a été appliquée [Bland

et al., 1995]. Les seuils corrigés α' étaient alors de $0,05 / 3 = 0,017$. Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel STATA 7.0 Special Edition® (2002, Stata Corporation, Texas, USA).

III - RÉSULTATS

1. ÉPIDÉMIOLOGIE DESCRIPTIVE

1.1. PROTOCOLE 1

L'évolution au cours du temps des effectifs présents et de la distribution de séroprévalence par classe d'âge est représentée à la figure 3. Lors du bilan de janvier 1997, la séroprévalence croît avec l'âge : elle vaut 3%, 20%, 55%, 82% et 96 % respectivement pour les CI1 à CI5. Durant l'année écoulée ensuite, 33 séroconversions sont recensées. Durant l'intervalle suivant, 25 séroconversions envers gE sont observées.

Durant ces deux années écoulées, on observe une réduction de la séroprévalence à classe d'âge constante. Les taux de prévalence restent faibles dans les cohortes nées après l'entrée en vigueur du protocole, mais une circulation virale résiduelle est observée : les taux de séroprévalence y sont compris entre 3 et 6%.

La cohorte d'animaux âgés de moins d'un an en janvier 1997 voit sa séroprévalence augmenter de 3 à 8% au cours des deux années suivantes. Au sein de la cohorte des animaux âgés de 1 à 2 ans en janvier 1997, la séroprévalence n'a crû que de 20% à 27%, durant la même période. Au sein de ces deux groupes d'animaux introduits dans le groupe d'animaux contenant le plus grand taux de porteurs latents du BoHV-1, la vaccination répétée a permis de faire diminuer le taux de prévalence de manière importante.

Ce graphe permet également d'apprécier la fraction de l'effectif du troupeau dans laquelle la séroprévalence a fortement été réduite.

1.2. PROTOCOLE 2

L'évolution au cours du temps des effectifs présents et de la distribution de séroprévalence par classe d'âge est représentée à la figure 4. A l'instar du groupe 1, lors du bilan de janvier 1997, la séroprévalence croît avec l'âge : elle vaut 3%,

13%, 31%, 45% et 79 % respectivement pour les CI1 à CI5. Au cours des deux années suivantes, 26 puis 9 séroconversions sont recensées.

Au sein des cohortes nées après l'entrée en vigueur du protocole de vaccination, les taux de séroprévalence restent très faibles, voire nuls. Au sein des cohortes entrées en production laitière durant l'étude, les taux évoluent également très peu : elles augmentent de 3% à 5% en deux ans pour la cohorte des animaux âgés de moins d'un an en janvier 1997 et de 13% à 18% pour les animaux âgés de 1 à 2 ans lors du même recensement et durant la même période.

Les réductions de taux de prévalence au sein des CI3 et CI4 ainsi que les très faibles taux mesurés dans les cohortes nées après janvier 1997 attestent de l'efficacité de ce protocole de vaccination.

1.3. GROUPE TÉMOIN POSITIF

L'évolution au cours du temps des effectifs présents et de la distribution de séroprévalence par classe d'âge est représentée à la figure 5.

Au sein de ce groupe, la distribution des taux de prévalence est également croissante avec l'âge des animaux : 11%, 32%, 51%, 53% et 71% dans les CI1 à CI5.

Au cours des deux années suivantes, 120 puis 82 séroconversions furent observées.

Au cours du temps, la distribution des taux de prévalence fluctue entre 8 et 20% dans la CI1, reste quasi constante dans les CI4 et CI5. Enfin, en deux ans, elle chute de 32 à 21% au sein de la CI2 et de 51% à 32% au sein de la CI3, durant le même intervalle.

Les protocoles de vaccination suivis par les éleveurs du groupe témoin positif n'ont réduit que de manière minimale les taux de séroprévalence au cours de la période d'observation.

2. ÉPIDÉMIOLOGIE ANALYTIQUE

L'analyse de survie a permis de comparer, entre groupes expérimentaux, les proportions d'animaux restant séronégatifs envers gE en fonction de leur temps passé dans l'étude. Les deux protocoles d'hyperimmunisation ont permis de réduire de manière significative ($p < 0,001$) l'incidence de séroconversion par rapport au groupe témoin : les courbes de survie, construites selon Kaplan et Meier, montrent une plus grande proportion

d'animaux sains restant séronégatifs dans les groupes hyperimmunisés que celle observée dans le groupe témoin. En effet, les courbes de survie des groupes P1 et P2 occupent la partie supérieure du graphique. Bien que la courbe décrivant la proportion d'individus restés sains dans le groupe vacciné selon P2 se situe au-dessus de celle décrivant la situation dans P1, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les deux protocoles de vaccinations répétées, après correction du seuil selon Bonferroni.

IV - DISCUSSION

Le suivi sérologique durant 28 mois de 30 troupeaux laitiers, répartis par tirage au sort dans trois groupes expérimentaux, a permis de conclure à l'efficacité des protocoles de vaccination testés comme moyen de réduire l'incidence de séroconversion envers gE. Cette efficacité est significativement supérieure à celle conférée par les protocoles de vaccinations moins fréquentes appliquées dans le groupe témoin positif.

Les résultats de cette étude confirment les observations d'une étude antérieure [Bosch *et al.*, 1998]. Néanmoins, cette étude est originale pour trois raisons : 1. le groupe témoin de type contrôle autorisant le traitement habituel plutôt qu'un placebo. 2. la durée du suivi (28 mois) ; et 3. l'essai sur le terrain d'un protocole de vaccination alternatif.

Le choix du type de groupe contrôle est lié au but de l'étude : il s'agissait de motiver le secteur agricole à initier un plan de lutte contre l'IBR, donc de démontrer une éventuelle différence entre l'administration répétée de vaccins et des administrations moins fréquentes. Les résultats permettent de définir les meilleurs protocoles connus [Petrie *et al.*, 1999].

La durée du suivi fut proche du cycle de trois ans de réactivation spontanée du BoHV-1 au sein d'un troupeau [Straub, 1990], ce qui en valide les conclusions. Les deux protocoles de vaccination prévoient un usage intensif des vaccins inactivés afin d'éviter les problèmes de contamination des souches vaccinales en cours de production ou dus à la circulation de souches vaccinales de BoHV-1 sur le terrain [Dispas *et al.*, 2003].

De plus, le suivi sérologique de tous les animaux du troupeau a permis de définir l'évolution de la distribution de la séroprévalence par classe d'âge au sein des groupes expérimentaux.

Ces distributions ne sont pas identiques entre groupes expérimentaux. Au début de l'étude, le groupe P1 présente la prévalence la plus élevée alors que le groupe P2 présente le taux le plus faible. Ces variations sont dues au nombre peu élevé de fermes suivies par groupe expérimental. Il n'est pas exclu qu'une différence entre protocoles d'hyperimmunisation puisse exister : le test a pu manquer de puissance. La comparaison entre groupes hyperimmunisés et groupe témoin positif ne laisse aucun doute, ni par le niveau de signification du test du Logrank, ni par l'observation des taux de prévalence élevés chez les animaux de moins d'un an. En effet, une partie importante de ces animaux ont été testés gE+ dès le plus jeune âge et le sont restés durant l'étude, attestant une infection précoce par le BoHV-1. Le taux de séroprévalence observé dans cette classe d'âge est toujours le plus élevé dans le groupe témoin. Ces animaux n'ont pas été comptabilisés dans les incidences et n'ont pas pu être inclus dans l'analyse de survie.

Le test sérologique a été considéré comme parfait, c'est-à-dire possédant une sensibilité et une spécificité égales à 100%. Les valeurs intrinsèques du test varient selon les auteurs [Van Oirschot *et al.*, 1997 ; Perrin *et al.*, 1997]. Toutefois, les tests ayant été répétés sur les mêmes animaux et les mêmes règles ayant été appliquées dans tous les groupes, aucune correction n'a été apportée aux séroprévalences mentionnées : il incombait à

l'étude de comparer des protocoles de vaccination et non de calculer la prévalence dans la population.

L'évolution de la distribution des taux de prévalence en fonction du temps n'est représentative de l'efficacité des protocoles de vaccination que si l'espérance de vie des animaux gE+ est identique à celle des animaux gE-. Cette éventualité fut écartée sur base de deux enquêtes en vis-à-vis menées au sein de chaque ferme. Par ailleurs, les détenteurs d'animaux n'avaient, lors de l'étude, aucun intérêt financier à effectuer ce type de réforme.

Cette étude a donc permis de confirmer l'efficacité de l'hyperimmunisation de tous les bovins d'un troupeau sur la réduction de l'incidence de séroconversion envers gE. Elle a permis de tester avec succès l'usage d'un protocole de vaccination mixte (vaccins atténué/inactivé) sur le terrain et de confirmer les résultats obtenus par l'administration répétée de vaccins inactivés. Bien qu'ils n'aient pu conférer une protection virologique parfaite, les deux protocoles d'hyperimmunisation testés pourraient donc être utilisés comme moyen de contrôle efficace de l'IBR en cheptels laitiers, en appui des mesures sanitaires toujours recommandées.

BIBLIOGRAPHIE

- Anonymous. - Ministère 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.
- Anonymous. - Décision de la Commission relative à des garanties supplémentaires concernant la rhinotrachéite infectieuse bovine pour les bovins. Office des publications officielles des Communautés européennes. CONSLEG: 1993D0042 - 08/08/2000, 1-4.
- Bland JM., Altman DG. - Multiple significance tests: the Bonferroni method. *Brit. Med. J.*, 1995, **310**, 170.
- Boelaert F., Biront P., Soumare B., Dispas M., Vanopdenbosch E., Vermeersch JP., Raskin A., Dufey J., Berkvens D., Kerkhofs P. - Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**, 285-295.
- 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. - 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.
- 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. Méd. Vét.*, 1997, **141**, 185-196.
- Dispas M., Shynts F., Lemaire M., Letellier C., Vanopdenbosch E., Thiry E., Kerkhofs P. - Isolation of a glycoprotein E deleted bovine herpesvirus-1 strain in the field. *Vet. Rec.*, 2003, **152**, 209-212.
- Franken P. - IBR-eradication plan in the Netherlands, 2002, 1-5.
<http://www.gd-dieren.nl/pages/English/cattle/ibeng/ibrpogr/franken1.htm>
consulté le 15 sept.2003.
- 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 : Analyse statistique des données de survie. Flammarion Médecine/Sciences : Paris, 1996, 37- 55.
- Kaashoek MJ., Moerman A., Madic J., Rijsewijck FA., Quak J., Gielkens AL., Van Oirschot JT. - A conventionally attenuated glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus type-1 is an efficacious and safe vaccine. *Vaccine*, 1994 **12**, 439-444.
- Kaashoek MJ., Moerman A., Madic J., Weerdmeester K., Maris-Veldhuis MA., Rijsewijck FA., Van Oirschot JT. - An inactivated vaccine based on a glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus type 1 induces protective immunity and allows serological differentiation. *Vaccine*, 1995, **13**, 342-346.
- Kahrs RF. - Infectious bovine rhinotracheitis: a review and update. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1977, **171**, 1055-1064.

- Kaplan E., Meier P. - Non parametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Stat. Assoc.*, 1958, **53**, 457-481.
- Kerkhofs P., Renjifo X., Toussaint JF., Letellier C. Vanopdenbosch E., Wellemans G. - Enhancement of the immune response and virological protection of calves against bovine herpesvirus type 1 with an inactivated gE-deleted vaccine. *Vet. Rec.*, 2003, **152**, 681-686.
- Lemaire M., Pastoret PP., Thiry E. - Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1994, **138**, 167-180.
- Mars MH., De Jong MCM., Franken P., Van Oirschot JT. - Efficacy of a live gE-negative BHV1 vaccine in cattle in the field. *Vaccine*, 2001, **19**, 1924-1930.
- Meyer G., D'Offay J., Thiry E. - Les encéphalites à herpèsvirus bovins. *Le Point Vét.*, 2000, **31**, 417-424.
- 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.*, 1997, **138**, 520.
- 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, 1999, 53-65.
- Straub OC. - Infectious bovine rhinotracheitis virus, In Z. Dinter and B. Morein (eds.), Virus infections of ruminants. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, 1990, 71-108.
- Thiry E., Lemaire M., Schynts F., Vanderheijden N., Meyer G., Dispas M., Pastoret PP. - La rhinotrachéite infectieuse bovine : caractéristiques du virus, l'infection et ses manifestations cliniques. *Bulletin des GTV*, 1997-4-B.559- 7-16.
- 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 Oirschot JT., Kaashoek MJ., Maris-Veldhuis MA., Weerdüester K., Rijsewijk FAM. - 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.
- Wiseman A., Selman IE., Msolla PM., Pirie HM., Allan E. - The financial burden of infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Rec.*, 1979, **105**, 469.



Remerciements

Les auteurs remercient vivement le Prof. Berkvens et le Prof. Speybroeck pour leur aide précieuse dans l'analyse statistique des données ainsi que le Fonds de la santé animale et de la qualité des produits animaux pour le financement intégral de cette étude. Que soient remerciés les sociétés Bayer et Intervet (alors Hoechst) pour avoir gracieusement offert les doses de vaccins nécessaires à la réalisation de ce projet. Que soient également remerciés les Services vétérinaires pour leur soutien sur le terrain et les conseils prodigués lors des réunions des Comités de suivi ainsi que les Directrice et Directeurs des Laboratoires des Provinces de West-Vlaanderen, du Limbourg, du Hainaut et de Liège qui furent d'une aide précieuse sur le terrain. Les auteurs remercient également les médecins vétérinaires d'exploitation pour l'efficacité de leur travail sur le terrain ainsi que les détenteurs d'animaux qui nous ont ouvert les portes de leur exploitation.

Les auteurs remercient Mme Hamande et Mrs Massart, Maindiaux et Sorgeloos pour les analyses sérologiques et l'encodage des résultats.