

INTERFERENCE DES ANTICORPS MATERNELS AVEC LA REPONSE DES VEAUX A LA VACCINATION PAR UN VACCIN INACTIVE CONTRE LE SEROTYPE 8 DU VIRUS DE LA FIEVRE CATARRHALE OVINE*

Damien Vitour¹, Jean Guillotin², Corinne Sailleau¹, Cyril Viarouge¹, Alexandra Desprat¹,
Frédéric Wolff⁵, Guillaume Belbis⁴, Benoit Durand³, Labib Bakkali-Kassimi¹,
Emmanuel Bréard¹, Stéphan Zientara¹ et Gina Zanella³

RESUME

Dans cette étude, nous avons évalué la durée et l'amplitude de la protection induite par les anticorps colostraux chez des veaux nés de mères vaccinées contre le sérotype 8 du virus de la fièvre catarrhale ovine (FCO ; BTV-8) ainsi que l'impact de l'interférence induite par les anticorps colostraux sur la vaccination chez ces veaux. Le temps médian estimé pour passer à un statut séronégatif était de 112 jours avec un test ELISA compétitif (cELISA) et 84 jours par séroneutralisation (SN). A l'âge de quatre mois environ, 13/22 veaux ont été immunisés avec un vaccin inactivé anti-BTV-8 et présentaient pour la plupart une faible réponse immune. Cette absence de réponse est attribuée à la persistance d'anticorps colostraux spécifiques du virus qui interfèrent avec l'induction de la réponse immune. En outre, l'intensité de la réponse humorale après vaccination était inversement proportionnelle aux niveaux d'anticorps mesurés avant vaccination.

Mots-clés : virus de la fièvre catarrhale ovine, anticorps maternels, interférence, vaccination.

SUMMARY

This study was designed to investigate the duration and scope of protection induced by colostrum antibodies in calves born to dams vaccinated against bluetongue virus serotype 8 (BTV-8) and the extent of interference by colostrum antibodies with vaccination in these calves. The median age at which calves became sero-negative for BTV was 84 and 112 days as determined by seroneutralisation test (SNT) and VP7 BTV competitive ELISA (cELISA), respectively.

.../..

* Texte de la communication orale présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA, 21 mai 2010

¹ UMR 1161 Virologie Anses-Inra-ENVA, Agence nationale de sécurité sanitaire (Anses), 23 avenue du Général de Gaulle, 94701 Maisons-Alfort, France

² Laboratoire départemental public, Domaine du Certia, 369 rue Jules-Guesde, BP 20039, 59651 Villeneuve d'Ascq cedex, France

³ Unité épidémiologie, Agence nationale de sécurité sanitaire (Anses), 23 avenue du Général de Gaulle, 94700 Maisons-Alfort, France

⁴ Pathologie du bétail (DPASP), Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA), 7 avenue du Général de Gaulle, 94701 Maisons-Alfort, France

⁵ Groupement départemental de défense sanitaire des animaux du Nord, Maison des éleveurs, Zone d'activités, 2 ter rue de l'Epau, 59230 Sars-et-Rosières, France

.../..

At the mean age of 118 days, 13/22 calves were immunized with inactivated BTV-8 vaccine. In most calves vaccination elicited a weak immune response, with seroconversion in only 3/13 calves. This lack of response was attributed to the persistence of virus-specific colostral antibodies that interfere with the induction of the immune response. Indeed, the level of immune response to vaccination was inversely proportional to the level of antibody prior to vaccination.

Keywords: Bluetongue virus, Maternal antibodies, Interference, Vaccination.



I - INTRODUCTION

La fièvre catarrhale ovine (FCO ou *Bluetongue* en anglais) est une maladie d'origine virale, non contagieuse, infectieuse, transmise par un arthropode vecteur. Elle affecte les moutons, certaines espèces de ruminants sauvages (daims...), et dans une moindre mesure les bovins et les caprins. La FCO revêt une importance majeure dans le commerce international des animaux et des produits animaux. Le virus de la FCO ou *Bluetongue virus* (BTV), l'agent étiologique de la maladie, est l'espèce prototype du genre *Orbivirus* au sein de la famille des *Reoviridae*. Il est transmis quasi exclusivement par des piqûres de moucheron du genre *Culicoides*. Depuis 1998, cinq sérotypes distincts de BTV (1, 2, 4, 9 et 16) se sont répandus à travers l'Europe [Mellor et Wittmann, 2002 ; Schwartz-Cornil *et al.*, 2008]. En août 2006, un sixième sérotype, BTV-8, a été identifié dans le nord de l'Europe et s'est rapidement propagé à travers les Pays-Bas, la Belgique, le Luxembourg, l'Allemagne et le nord de la France [Toussaint *et al.*, 2006 ; Darpel *et al.*, 2007 ; Elbers *et al.*, 2008 ; Saegerman *et al.*, 2008]. Le virus survécut à la période hivernale et se propagea ensuite au Royaume-Uni, au Danemark, à la Suisse et la république Tchèque en 2007. La souche de BTV-8 incriminée présente des propriétés inhabituelles, notamment sa capacité à provoquer une maladie parfois sévère et mortelle chez les bovins [Elbers *et al.*, 2008 ; Schwartz *et al.*, 2008]. Des campagnes de vaccination de masse ont rapidement été mises en place afin de limiter la propagation et les conséquences socio-économiques dramatiques de l'épizootie de FCO en Europe. Des vaccins inactivés commerciaux sont désormais largement

utilisés afin de contrôler l'épizootie, et depuis 2008 la vaccination des bovins est obligatoire dans la plupart des pays européens infectés.

Les veaux nouveau-nés acquièrent une immunité passive maternelle par ingestion et absorption des anticorps présents dans le colostrum. La durée et le bénéfice estimé de cette immunité humorale peuvent varier considérablement en fonction de la production de colostrum (quantité et qualité) et de la quantité des anticorps ingérés et absorbés. L'immunité dérivée de la mère peut conférer une protection contre une grande variété de pathogènes viraux incluant l'herpès virus bovin de type 1 (BHV-1), le virus de la diarrhée bovine virale (BVDV) et le virus respiratoire syncytial bovin (BRSV) [Mechor *et al.*, 1987 ; Howard *et al.*, 1989 ; Belknap *et al.*, 1991 ; Bolin et Ridpath, 1995 ; Cortese *et al.*, 1998]. L'immunité passive est aussi connue comme bloquant souvent la production d'anticorps sériques quand les immunogènes sont transmis aux veaux avec les anticorps maternels [Husband et Lascelles, 1975], même si dans certains cas les immunogènes peuvent induire une mémoire immunologique qui n'est pas sujette à la régulation des anticorps maternels [Brar *et al.*, 1978 ; Menanteau-Horta *et al.*, 1985]. De plus, la vaccination à l'aide de virus vivants modifiés anti-BHV-1 et BRSV peut générer des réponses immunes comme la blastogénèse lymphocytaire chez les veaux avec des anticorps maternels dirigés contre le BHV-1 et le BRSV [Ellis *et al.*, 1996]. Cependant, très peu de données sont disponibles sur la durée et l'impact de l'immunité maternelle acquise contre le BTV chez les veaux nés de mères vaccinées. Ce travail avait pour objectifs d'évaluer :

1. Le temps nécessaire aux veaux pour devenir séronégatifs ;

2. L'effet des anticorps colostraux sur la réponse humorale des veaux vaccinés avec un vaccin inactivé anti-BTV-8.

II - MATERIELS ET METHODES

1. ANIMAUX

Vingt-deux couples mères-veaux provenant de deux exploitations du nord de la France (Tour et Font) ont été inclus dans cette enquête. Toutes les vaches ont été vaccinées au cours de l'été 2008, quelques semaines avant vêlage. Le vaccin inactivé anti-BTV-8 d'Intervet (Bovilis BTV8) a été administré en sous-cutanée selon les recommandations du fabricant. La présence d'anticorps spécifiques du BTV a été recherchée avant vêlage par un test ELISA de compétition (cELISA) anti-VP7 (données non montrées). Aucun symptôme ni ARN viral n'a été détecté par RT-PCR en temps réel (BTVM – Kit TAQVET™ ; LSI, France ; données non montrées). Les veaux sont nés début octobre 2008. Des échantillons de sang ont été prélevés chez les veaux à cinq temps différents ; le premier prélèvement (S1) a été réalisé environ 48 jours post-vêlage (amplitude 36 – 60), le S2 à 80 jours (amplitude 70 - 90), le S3 à 111 jours (amplitude 102 - 122), le S4 à 139 jours (amplitude 127 - 150) et le S5 à 202 jours (amplitude 189 – 207). La présence d'anticorps anti-BTV a été recherchée chez les veaux par cELISA et par un test de séroneutralisation (SN). A l'âge moyen de 118 jours, 13/22 veaux ont été vaccinés avec le vaccin inactivé Bovilis BTV-8. Le vaccin a été administré en deux injections sous-cutanées consécutives à trois semaines d'intervalle.

2. cELISA

Les niveaux d'anticorps anti-BTV ont été mesurés par le test cELISA 'ID Screen® Bluetongue Competition' assay (ID VET, Montpellier, France) selon les instructions du fournisseur. Les résultats sont exprimés en % de négativité (PN) en comparaison avec un échantillon contrôle et sont convertis en résultat positif, douteux ou négatif en fonction des valeurs de seuil définies par le fabricant ($PN \leq 35$ est positif ; $35 < PN \leq 45$ est douteux ; $PN > 45$ est négatif). Les analyses statistiques ont été effectuées sur la base du seuil à 35 pour discriminer les échantillons

positifs ($PN \leq 35$) et négatifs ($PN > 35$) (voir ci-dessous).

3. SERONEUTRALISATION (SN)

La SN a été réalisée à partir de la souche de référence BTV-8 sud africaine et un antisérum contrôle spécifique du sérotype 8. Brièvement, 50µl de sérum ont été dilués (1/2 au 1/256) et titrés contre 100 TCID₅₀ (50µl) d'un virus BTV-8 de référence d'Afrique du Sud. Les plaques ont été incubées pendant 1h à 37°C, puis 100µl (2.10^4) d'une suspension de cellules Vero (*African green monkey kidney*) ont été ajoutés dans chaque puits. Après incubation à 37°C pendant 5-7 jours, les puits ont été contrôlés pour la présence d'un effet cytopathogène (ECP). Le titre de neutralisation a été défini comme la dilution sérique limite donnant une neutralisation de 50%. Les résultats ont été exprimés en log₁₀ de l'inverse de la dilution limite. Le seuil était de 0,9 (titre < 0,9 : négatif ; titre ≥ 0,9 : positif).

4. ANALYSES STATISTIQUES

Le délai nécessaire après la naissance pour que les veaux tétant leur mère deviennent séronégatifs a été déterminé en utilisant une méthode de survie non-paramétrique de type Kaplan-Meier. L'analyse de survie est utilisée pour définir la durée de survenue d'un événement. Dans cette étude, l'événement correspond au fait qu'un animal devienne séronégatif. Cet événement n'était pas observé chez certains veaux qui restaient séropositifs avant la vaccination : ces derniers ont été considérés comme des observations censurées. Les veaux vaccinés qui ne sont pas devenus négatifs avant la vaccination ont été censurés après cette date. Des analyses de survie indépendantes ont été effectuées à partir des résultats de SN et de cELISA. La valeur de Kappa a été calculée afin de comparer la concordance entre les tests de SN et cELISA dans les sérums d'animaux non vaccinés (les sérums d'animaux vaccinés collectés avant la date de vaccination ont

également été inclus). Les valeurs de Kappa ont été interprétées d'après Dohoo *et al.* [2003]. La probabilité de succès à la vaccination contre le BTV a été définie en fonction des résultats du test cELISA obtenus trois mois après la primo-vaccination. Une analyse de variance (ANOVA) a été employée pour évaluer l'existence d'un lien entre la probabilité de succès à la vaccination et la réponse cELISA à S1, S2 et S3.

Une analyse de type ROC (*receiver operating characteristic*) [Greiner *et al.*, 2000] a ensuite été réalisée pour modéliser la probabilité de réponse à la vaccination en fonction des valeurs de cELISA à S3. Le seuil cELISA qui

permet d'obtenir une prédiction optimale de réponse à la vaccination a été déterminé.

Enfin, afin d'établir la relation entre l'âge au moment de la vaccination et le succès de la vaccination, nous avons étudié l'intervalle de temps requis pour que le test cELISA devienne plus élevé que le seuil précédent (correspondant à un statut négatif relativement au seuil). La méthode d'analyse de survie Kaplan-Meier a permis de calculer l'âge des veaux pour lequel la vaccination marcherait dans 50% des cas.

Toutes les analyses statistiques et les graphiques ont été réalisés avec R [Team, 2009].

III - RESULTATS

1. CORRELATION ENTRE SN ET cELISA

Tous les veaux étaient séropositifs pour le BTV au moment du premier prélèvement, par SN et cELISA (S1, 36 – 60 jours). Vingt-deux paires de résultats ont été utilisées pour comparer le niveau de corrélation entre les tests cELISA et SN chez les veaux avant vaccination (tableau 1) ; la valeur de kappa globale (0,49 ; intervalle de confiance à 95% [IC]: 0,3 – 0,7) indiquait une corrélation modérée entre les tests. La concordance est meilleure pour les sérums BTV positifs comme indiquée dans la figure 1. Ce résultat est confirmé par les estimations de kappa calculées à chaque point avant la vaccination. A S1, la corrélation était parfaite puisque tous les animaux étaient positifs avec les deux tests. La corrélation était faible à S2 (0,07 ; 95% IC: -0,2 - 0,3) et modérée à S3 (0,24 ; 95% IC: -0,4 - 0,9).

2. EVOLUTION CINETIQUE DES ANTICORPS COLOSTRAUX

Les courbes de survie Kaplan Meier montrent que le délai nécessaire après la naissance pour observer une disparition des anticorps colostraux dépend du test sérologique employé, et intervient plus précocement par SN (figure 2). Spécifiquement, l'âge médian pour que les veaux deviennent séronégatifs était de 112 jours par cELISA (amplitude 70 à 173 jours) et 84 jours par SN (amplitude 70 à 113 jours).

3. REPONSE HUMORALE ANTI-BTV APRES VACCINATION DES VEAUX

Le tableau 1 montre les résultats de PN cELISA pour chaque veau à différents temps après la primo-vaccination et précise le statut sérologique à S5 (veaux âgés de 206 jours). Les données confirment l'existence de trois différents types de réponse : non répondeurs (valeurs de cELISA PN supérieures à celles observées avant vaccination), faibles répondeurs (diminution des valeurs de cELISA BTV après vaccination mais sans séroconversion) et les répondeurs forts (séroconversion après vaccination) (tableau 1 et figure 3). Au moment de la première prise de sang (S1, âge moyen de 48 jours), le niveau d'anticorps anti-BTV était élevé pour tous les animaux quel que soit leur groupe de réponse (résultats ANOVA non significatifs). Une association statistique était retrouvée entre la réponse après vaccination et le niveau de cELISA dans les groupes à S2 (âge moyen de 80 jours) et S3 (âge moyen de 111 jours) ($p < 0,001$). En outre, à S2, pendant que les faibles ou non répondeurs restaient tous séropositifs avec des valeurs de cELISA oscillant entre 5 et 23, tous les futurs répondeurs à la vaccination présentaient des niveaux d'anticorps très inférieurs au seuil donné par le test (tableau 1 et figure 3). Cette tendance était confirmée juste avant la vaccination, à S3, avec le groupe des répondeurs présentant des valeurs de cELISA PN > 103 tandis que les valeurs de PN chez les faibles et non répondeurs étaient < 76 (figure 3).

Tableau 1

**Niveaux d'anticorps anti-BTV mesurés par cELISA VP7
avant immunisation chez les veaux vaccinés.**

Les résultats sont exprimés en % de négativité (PN). PN ≤ 35 est positif ; 35 < PN ≤ 45 est douteux ; PN > 45 est négatif. L'âge moyen des veaux est donné en jours (j).

Les veaux ont été vaccinés à un âge moyen de 118 jours (entre S3 et S4).

Population	N#	S1 (48j)	S2 (80j)	S3 (111j)	S4 (139j)	S5 (206j)	Séroconversion ^a
Font	1	6	5	8	70	126	Nég
	2	6	14	41	76	114	Nég
	3	7	108	119	89	15	Pos
	4	5	8	44	95	115	Nég
	5	5	7	25	92	129	Nég
	6	4	8	16	96	111	Nég
	7	5	6	76	97	115	Nég
	8	6	23	75	99	97	Nég
	9	6	114	117	113	19	Pos
	10	11	90	103	110	9	Pos
Tour	A	7	17	62	78	43	Dtx
	B	8	18	57	84	45	Nég
	C	10	23	72	93	70	Nég
Total		8 (6-11)	104 (90-114)	113 (103-119)	104 (89-113)	14 (9-19)	Pos (3/13)
		6 (5-10)	13 (5-23)	48 (8-76)	88 (70-99)	96 (43-129)	Nég ou Dtx (10/13)
Répondeurs forts		6-11	90-114	103-119	89-113	< 19	Pos (3/3)
Faibles répondeurs		7-10	17-23	57-72	78-93	43-70	Pos (0/3)
Non répondeurs		5-6	5-24	8-76	70-99	> 96	Pos (0/7)

^aSéroconversion mesurée à S5 (environ 3 mois post-vaccination).

4. LE NIVEAU DES ANTICORPS COLOSTRAUX MESURES PAR cELISA EST PREDICTIF DE LA REPONSE HUMORALE POST-VACCINATION

En plus du fait d'être corrélées au type de réponse à la vaccination, les valeurs de cELISA mesurées juste avant la vaccination (S3) ont été utilisées pour réaliser une analyse ROC. Une sensibilité et une spécificité de 100% étaient obtenues pour des valeurs de cELISA comprises entre 76 et 103.

Afin d'établir la relation entre l'âge au moment de la vaccination et le succès à la vaccination,

nous avons étudié le délai nécessaire pour que les valeurs du test cELISA soient > 76 ou > 103. Les délais étaient ainsi plus courts avec le seuil de cELISA fixé à 76 qu'avec le seuil de 103, comme indiqué dans la figure 4. Le temps médian avec le seuil à 76 était de 148 jours (amplitude 76 à 188 jours). Pour le seuil de 103, le délai médian était de 180 jours (amplitude 76 à 197 jours). Ces résultats suggèrent que la vaccination aurait été efficace chez 50% des animaux s'ils avaient été vaccinés à un âge compris entre 148 et 180 jours.

Figure 1

Résultats de cELISA et SN (représentation en « box-plots » ou « boîtes à moustaches ») chez les veaux non vaccinés (la ligne indique la valeur médiane, la boîte indique l'intervalle interquartile et les barres indiquent l'amplitude des valeurs)

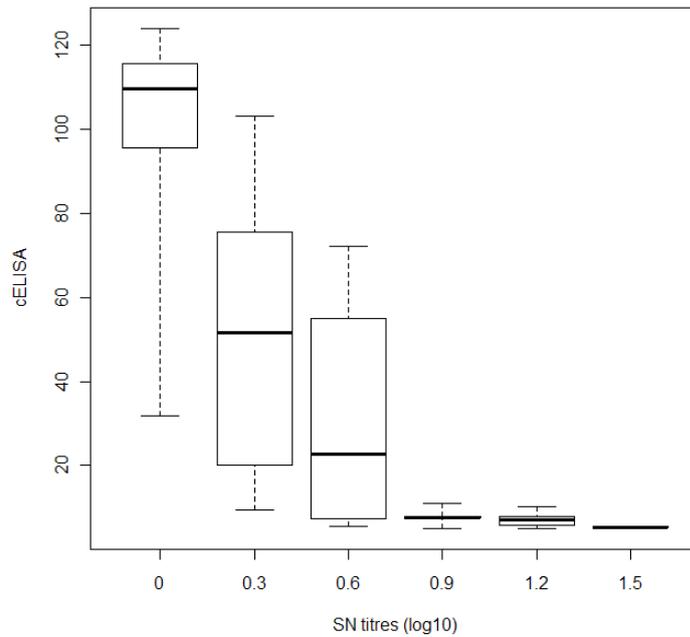


Figure 2

Courbes de survie Kaplan-Meier estimant le délai requis pour obtenir une disparition des anticorps maternels spécifiques du BTV parmi 22 veaux avec les tests cELISA ou SN

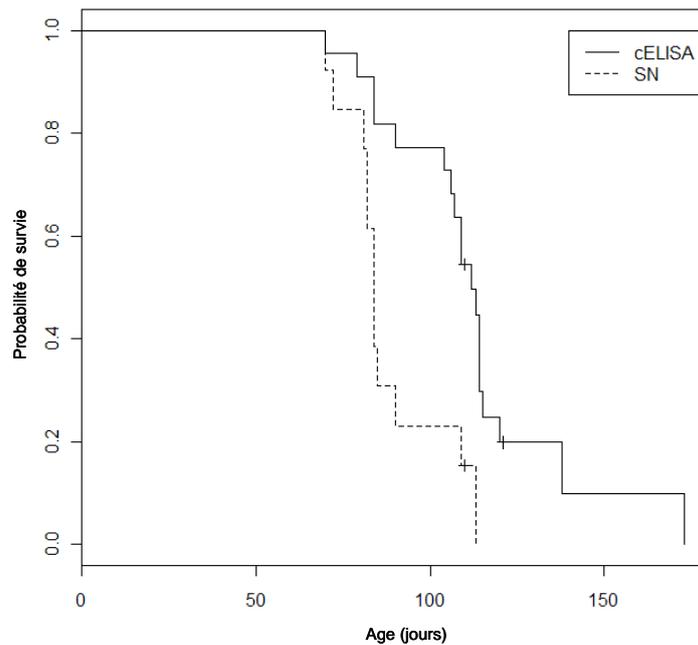


Figure 3

Cinétique d'évolution des anticorps anti-BTV mesurés par cELISA VP7.

Les résultats sont exprimés en % de négativité (PN). PN ≤ 35 est positif ; 35 < PN ≤ 45 est douteux ; PN > 45 est négatif. Les prélèvements ont été faits à cinq temps différents après la naissance (S1 à S5).

L'âge moyen des veaux est donné en jours (j).

Les veaux ont été vaccinés à un âge moyen de 118 jours (entre S3 et S4).

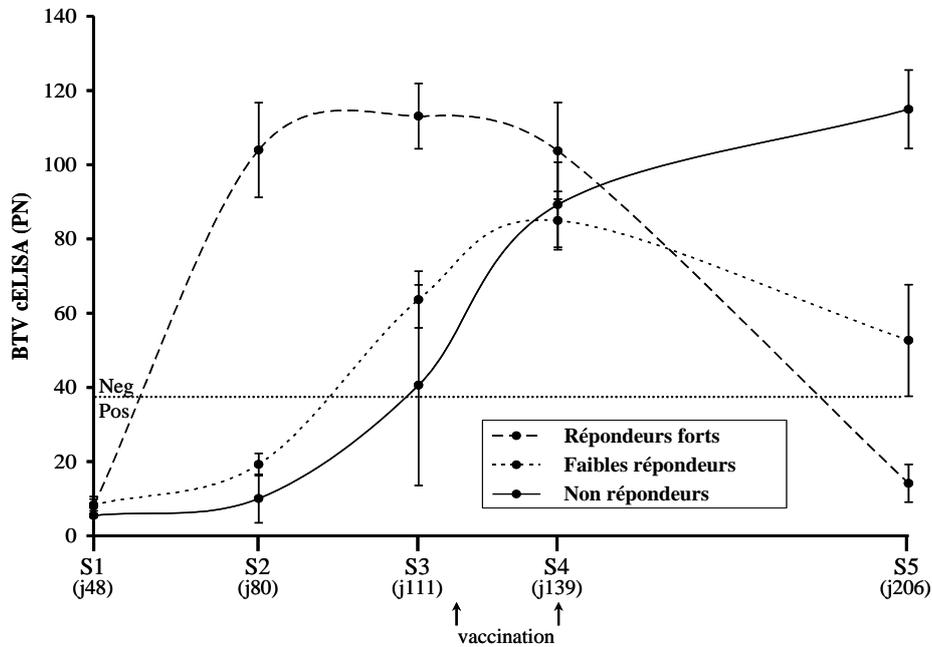
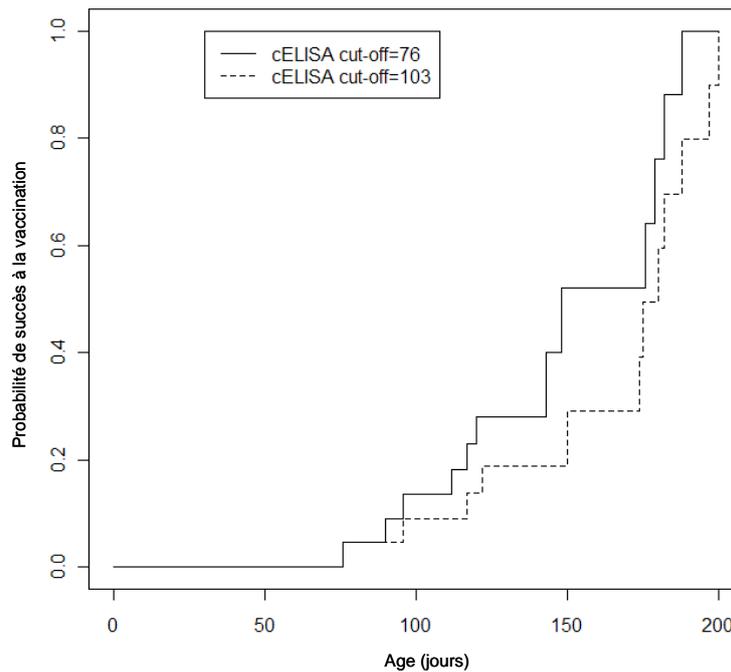


Figure 4

Probabilité de succès à la vaccination chez 22 veaux à partir de deux valeurs de seuil du test cELISA



IV - DISCUSSION

A la suite de l'apparition du BTV-8 en 2006 dans le nord de l'Europe, la FCO est devenue un problème majeur pour la santé et le commerce des animaux. Les producteurs de vaccins ont rapidement proposé des vaccins inactivés anti-BTV-8 sûrs et efficaces qui sont aujourd'hui largement utilisés avec succès à travers l'Europe pour maîtriser l'infection [Eschbaumer *et al.*, 2009 ; Oura *et al.*, 2009]. Cependant, peu de travaux ont été réalisés pour évaluer les effets de l'immunité passive transférée aux veaux à partir de mères immunisées sur la réponse humorale à la vaccination anti-BTV-8. Dans cette enquête, nous avons suivi l'évolution cinétique des anticorps colostraux spécifiques du BTV-8 chez les veaux nés de mères vaccinées à partir de tests cELISA et SN. La comparaison des niveaux d'anticorps mesurés par ces deux tests montrait une concordance modérée, ce qui peut s'expliquer en partie par le fait que ces deux méthodes mesurent des populations distinctes d'anticorps.

Récemment, le groupe de Chris Oura observa que 22/22 agneaux nourris avec le colostrum maternel de brebis vaccinées avec le vaccin Intervet Bovilis BTV-8 possédaient des anticorps neutralisants protecteurs à l'âge de 10 semaines et 14/22 (64%) à l'âge de 14 semaines [Oura *et al.*, 2010]. A la suite d'une épreuve virale avec du BTV-8 à l'âge de 13 à 14 semaines, tous les agneaux étaient protégés d'une maladie clinique. Ces données ajoutées à nos observations montrent que les anticorps anti-BTV dérivés de l'immunité maternelle peuvent conférer une protection à long terme contre l'infection par le BTV. Toutefois, dans une autre étude, cette durée était plus courte puisque aucun anticorps neutralisant n'était détecté chez veaux âgés de 39 jours, nés de mères vaccinées contre le BTV-2 [Savini *et al.*, 2004].

Afin de définir l'âge optimal pour la vaccination des veaux, il est crucial de connaître le délai requis pour avoir une réduction suffisamment importante des anticorps colostraux étant donné que cette immunité passive peut interférer avec la vaccination subséquente des veaux en bloquant la réponse immune à la vaccination. Dans cette étude, la vaccination de veaux âgés en moyenne de quatre mois,

nourris au colostrum, avec un vaccin inactivé induit une faible réponse humorale anti-BTV dans la plupart des cas (tableau 1 et figure 3). D'après les données obtenues, il apparaît que les niveaux d'anticorps mesurés par cELISA sont plus prédictifs de la réponse à la vaccination que la SN. Ainsi, quelques jours avant la vaccination, tous les veaux présentant une réponse humorale avaient une valeur de cELISA $PN \geq 103$ tandis que le groupe des non répondeurs présentaient des valeurs positives et négatives mais toutes avec un $PN < 76$. Tous les animaux étaient négatifs en SN. De plus, en combinant l'analyse de survie des anticorps colostraux spécifiques du BTV avec la réponse à la vaccination, on peut estimer le temps nécessaire pour obtenir une vaccination efficace à 50% entre un âge de 148 et 180 jours, en fonction du seuil de cELISA utilisé ; la probabilité la plus importante de succès à la vaccination serait atteinte vers l'âge de sept mois. Ces données confirment l'apparente durée prolongée d'une immunité humorale protectrice contre le BTV chez les veaux.

Etant donné qu'il n'est pas envisageable de mesurer les anticorps colostraux avant immunisation, afin de prendre en compte les niveaux élevés d'interférence produits par les anticorps colostraux, il est possible de proposer que :

1. Durant la période d'activité vectorielle (mai-octobre) et en présence d'une potentielle circulation virale, les veaux nés de mères vaccinées pourraient être vaccinés à deux occasions, avant l'âge de trois mois et ensuite une autre fois vers l'âge de six mois, afin d'assurer une protection maximale et prévenir les cas de mauvaise absorption de colostrum ou de vaccination inefficace des mères ;
2. En dehors de cette période, et sans circulation de BTV, il apparaît inutile de vacciner avant l'âge de cinq-six mois puisque l'immunité maternelle prévient la réponse humorale à la vaccination. Des investigations supplémentaires sur cette question méritent toutefois d'être menées afin d'affiner les recommandations actuelles.

BIBLIOGRAPHIE

- Belknap E.B., Baker J.C. *et al.* - The role of passive immunity in bovine respiratory syncytial virus-infected calves. *J. Infect. Dis.*, 1991, **163**(3), 470-476.
- Bolin S.R., Ridpath J.F. - Assessment of protection from systemic infection or disease afforded by low to intermediate titers of passively acquired neutralizing antibody against bovine viral diarrhoea virus in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1995, **56**(6), 755-759.
- Brar J.S., Johnson D.W. *et al.* - Maternal immunity to infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhoea viruses: duration and effect on vaccination in young calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1978, **39**(2), 241-244.
- Cortese V.S., West K.H., *et al.* - Clinical and immunologic responses of vaccinated and unvaccinated calves to infection with a virulent type-II isolate of bovine viral diarrhoea virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1998, **213**(9), 1312-1319.
- Darpe K.E., Batten C.A., *et al.* - Clinical signs and pathology shown by British sheep and cattle infected with bluetongue virus serotype 8 derived from the 2006 outbreak in northern Europe. *Vet. Rec.*, 2007, **161**(8), 253-261.
- Dohoo I., Martin W., *et al.*, - Veterinary epidemiologic research, 706 pages, Ed. AVC Inc Charlottetown, Prince Edward island, Canada, 2003.
- Elbers A.R., Backx A., *et al.* - Performance of clinical signs to detect bluetongue virus serotype 8 outbreaks in cattle and sheep during the 2006-epidemic in The Netherlands. *Vet. Microbiol.*, 2008, **129**(1-2), 156-162.
- Elbers A.R., Backx A., *et al.* - Field observations during the bluetongue serotype 8 epidemic in 2006. I. Detection of first outbreaks and clinical signs in sheep and cattle in Belgium, France and the Netherlands. *Prev. Vet. Med.*, 2008, **87**(1-2), 21-30.
- Ellis J.A., Hassard L.E., *et al.* - Effects of perinatal vaccination on humoral and cellular immune responses in cows and young calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1996, **208**(3), 393-400.
- Eschbaumer M., Hoffmann B., *et al.* - Efficacy of three inactivated vaccines against bluetongue virus serotype 8 in sheep. *Vaccine*, 2009, **27**(31), 4169-4175.
- Greiner M., Pfeiffer D., *et al.* - Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**(1-2), 23-41.
- Howard C.J., Clarke M.C., *et al.* - Protection against respiratory infection with bovine virus diarrhoea virus by passively acquired antibody. *Vet. Microbiol.*, 1989, **19**(3), 195-203.
- Husband A.J., Lascelles A.K. - Antibody responses to neonatal immunisation in calves. *Res. Vet. Sci.*, 1975, **18**(2), 201-207.
- Mechor G.D., Rousseaux C.G., *et al.* - Protection of newborn calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinated cows. *Can. J. Vet. Res.*, 1987, **51**(4), 452-459.
- Mellor P.S., Wittmann E.J. - Bluetongue virus in the Mediterranean Basin 1998-2001. *Vet. J.*, 2002, **164**(1), 20-37.
- Menanteau-Horta A.M., Ames T.R., *et al.* - Effect of maternal antibody upon vaccination with infectious bovine rhinotracheitis and bovine virus diarrhoea vaccines. *Can. J. Comp. Med.*, 1985, **49**(1), 10-14.
- Oura C.A., Wood J.L., *et al.* - Colostral antibody protection and interference with immunity in lambs born from sheep vaccinated with an inactivated Bluetongue serotype 8 vaccine. *Vaccine*, 2010, **28**(15), 2749-2753.
- Oura C.A., Wood J.L., *et al.* - Seroconversion, neutralising antibodies and protection in bluetongue serotype 8 vaccinated sheep. *Vaccine*, 2009, **27**(52), 7326-7330.
- R development Core Team. - R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing, (2009).
- Saegerman C., Berkvens D., *et al.* - Bluetongue epidemiology in the European

Union. Emerg. Infect. Dis., 2008, **14**(4),
539-544.

Savini G., Monaco F., *et al.* - Neutralising
antibody response in cattle after vaccination
with monovalent modified-live vaccine
against bluetongue virus serotype 2. *Vet.
Ital.*, 2004, **40**(4), 668-670.

Schwartz-Cornil I., Mertens P.P., *et al.* -
Bluetongue virus: virology, pathogenesis
and immunity. *Vet. Res.*, 2008, **39**(5), 46.

Toussaint J.F., Vandenbussche F., *et al.* -
Bluetongue in northern Europe. *Vet. Rec.*,
2006, **159**(10), 327.



Remerciements

Les auteurs remercient vivement les éleveurs et les vétérinaires qui ont pris part à cette étude.