

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

Résumé

Orientation : Médecine vétérinaire

Titre de la thèse en Français : Etude de l'efficacité de programmes de vaccinations répétées pour le contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine

Titre de la thèse en Anglais : Study of the efficacy of repeated vaccinations programmes for the control of infectious bovine rhinotracheitis

Candidat : Marc Dispas

Promoteur : Prof. Etienne Thiry

Département et Service: Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Service de Virologie, Epidémiologie et Pathologie des Maladies virales, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique

Date de la défense publique : 20 Février 2004

Composition du Jury :

Membres internes à la Faculté de Médecine vétérinaire :

J. Detilleux, F. Farnir, C. Hanzen, A. Linden, F. Rollin.

Membres externes à la Faculté de Médecine vétérinaire : D. Berkvens (Institut de Médecine tropicale Prince Léopold, Anvers), M. Dramaix (Ecole de Santé publique, ULB-Erasme, Bruxelles), P. Kerkhofs (Centre d'Etude et de Recherches vétérinaires et agrochimiques, Uccle), M. Sanaa (Ecole nationale de Médecine vétérinaire de Maisons-Alfort, France).

DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est une affection due à l'herpèsvirus bovin 1 (BoHV-1) (revue par Lemaire *et al.*, 1994). Ce même virus est également responsable de la vulvo-vaginite infectieuse pustuleuse (IPV). Les pertes économiques importantes qu'il engendre valent au BoHV-1 d'être classé dans la liste B des agents pathogènes de l'Office International des Epizooties. Les propriétés biologiques du BoHV-1, latence et couple réactivation/réexcrétion, permettent au virus d'infecter les troupeaux de manière persistante. Plusieurs Etats-membres de l'Union européenne sont actuellement indemnes d'IBR, alors que d'autres ont fait avaliser des plans d'éradication du BoHV-1 (Limbourg

et al., 2002). Ces Etats peuvent faire appliquer leur droit aux garanties additionnelles (DIR CEE 64/432), c'est-à-dire d'interdire l'importation d'animaux en provenance de pays ne disposant pas de statuts sanitaires équivalents. La mise sur le marché de vaccins marqués génétiquement par la délétion de la glycoprotéine gE (Kaashoek *et al.*, 1994 ; 1995) et de tests de dosage d'anticorps dirigés contre des antigènes du BoHV-1 (Kramps *et al.*, 1994 ; Van Oirschot *et al.*, 1997) ont permis d'élaborer de nouvelles stratégies de contrôle de l'IBR. En effet, il est possible, sur base des résultats sérologiques, de définir le statut sanitaire d'un animal et donc du troupeau qui l'héberge. Depuis août 1997 (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 1997), la Belgique dispose d'un plan de contrôle, basé sur la certification des troupeaux effectuée après examen sérologique individuel de tous les animaux du troupeau ou

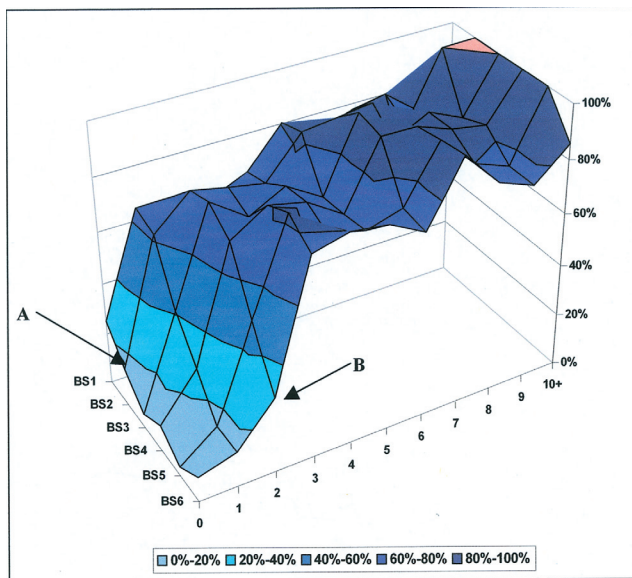


Figure 1. Evolution, au cours du temps, de la séroprévalence gE dans le groupe des femelles hébergées dans les troupeaux de type mixte lait/viande, vaccinées selon un protocole combinant l'usage de vaccins atténués puis inactivés. Les animaux sont répartis en 11 classes d'âge (« 0 années accomplies » à « plus de 10 ans ») lors de 6 bilans sérologiques saisonniers, étalés sur 28 mois (BS1 à BS6). A titre d'exemple, les points A et B mettent en évidence une augmentation de la prévalence dans la cohorte d'animaux âgés de moins d'1 an lors du BS2 et retestés 2 ans plus tard, alors qu'ils sont âgés de moins de 3 ans. L'effet de la vaccination est mis en évidence par le déplacement vers la droite des profils de prévalence, synchrone avec le vieillissement des animaux, et par l'apparition de groupes d'animaux, nés après la mise en œuvre du protocole, au sein desquels la prévalence est fortement diminuée. La surface rose figure une prévalence de 100 % durant la période considérée.

déclaration de vaccination. Les niveaux élevés de prévalence de l'IBR en Belgique (Boelaert *et al.*, 2000) ne permettent pas de concevoir un plan de contrôle sans faire appel à la vaccination des animaux. Des études de l'efficacité des protocoles de vaccinations répétées, réalisées aux Pays-Bas (Bosch *et al.*, 1998 ; Mars *et al.*, 2001), mais ne portant que sur 18 mois, avaient conclu à la meilleure efficacité de l'administration de vaccins atténués par voie intramusculaire comme moyen de contrôle de l'IBR.

Afin d'étudier la faisabilité d'un plan de contrôle de l'IBR en Belgique, dans des conditions d'élevage spécifiques et de définitions de statuts sanitaires spécifiques, une étude fut organisée sur le terrain durant 28 mois. Cette étude se basait sur des résultats expérimentaux qui attestaient d'une protection virologique efficace conférée par l'usage plus systématique de vaccins inactivés (Kerkhofs *et al.*, 2003). Deux types de cheptels furent étudiés : laitiers purs et mixtes, c'est-à-dire hébergeant simultanément animaux de type laitier et de type viandeux. Au sein de chaque type de cheptel, deux protocoles de vaccinations répétées furent mis en œuvre dans des groupes de fermes tirées au sort.

La différence entre les protocoles de vaccination portait uniquement sur la primovaccination des animaux : dans le premier cas, des vaccins atténués étaient administrés, par voie intra-nasale puis par voie intramusculaire, dans le second, des vaccins inactivés étaient administrés par voie sous-cutanée. Les rappels, effectués ensuite approximativement tous les 6 mois, consistaient en administrations sous-cutanées de vaccin inactivé. Afin de mettre en évidence le meilleur protocole de vaccination connu, la vaccination fut autorisée dans le groupe de contrôle, également composé de fermes tirées au sort. Une série de six bilans sérologiques, effectués selon un calendrier identique à celui de la vaccination, a permis de recenser le nombre d'animaux infectés par le BoHV-1 au cours des intervalles successifs, l'infection se traduisant par une séroconversion envers gE. Cette étude longitudinale a mis en évidence la plus grande efficacité des protocoles de vaccinations sur le contrôle de la circulation virale comparativement au groupe témoin et a permis de mettre en évidence une série de facteurs de risque d'infection qui diminuent l'efficacité de la protection vaccinale.

RÉSULTATS

Les résultats seront présentés en trois sections. La première comparera la séroprévalence gE, qui représente le taux d'animaux infectés et porteurs latents du virus, entre les troupeaux laitiers et mixtes laitiers/viandeux. Cette section reprendra également les résultats de l'étude démographique des populations hébergées dans les troupeaux en fonction du type de production. La seconde section décrira l'efficacité des programmes de vaccinations répétées dans les cheptels laitiers purs ainsi que les résultats d'une analyse de facteurs de risque d'infection par le BoHV-1. La troisième section procédera de la même démarche dans les cheptels de type mixte laitiers/viandeux.

Comparaison des cheptels laitiers et mixtes laitiers / viandeux : approche démographique. Afin de définir la composition des troupeaux et le taux de séroprévalence gE, un premier bilan sérologique fut réalisé sur tous les animaux présents en ferme au début de l'étude, au mois de janvier 1997. Les troupeaux avaient été classés selon le type de production renseigné par le registre SANITEL bovin (Ministère de la Santé publique), qui permet de réaliser un inventaire continu des troupeaux. La composition des troupeaux fut représentée graphiquement par deux pyramides de population, établies par type de production. D'importantes différences entre ratio sexuel, saison de vêlage, et espérance de vie des vaches furent ainsi mises en évidence entre les cheptels laitiers et mixtes. D'autres différences existaient encore entre les deux types de production : les taux de séroprévalence observés dans différentes catégories d'âge étaient généralement plus élevés au sein des troupeaux de type mixte. Sur base de ces observations, une étude de la composition de chaque troupeau fut réalisée, afin de classer

les troupeaux sur base de la structure réelle de la population plutôt que sur le type renseigné dans le registre officiel d'identification des troupeaux.

Etude de l'efficacité de programmes de vaccinations répétées dans les cheptels laitiers Cette étude fut basée sur l'hypothèse que les protocoles de vaccinations répétées réduisaient significativement la circulation virale au sein des troupeaux, comparativement à un groupe contrôle positif, c'est-à-dire un groupe témoin dans lequel les protocoles de vaccination usuels étaient autorisés (Petrie et Watson, 1999)

La dynamique d'infection au sein des trois groupes expérimentaux fut suivie au niveau individuel en réalisant un suivi sérologique individuel des animaux tout au long de l'étude. Tous les animaux présents en ferme et en âge d'être inclus dans les protocoles expérimentaux furent ainsi régulièrement testés. Afin de faciliter la contention des animaux pour les prises de sang et l'administration des vaccins après le début de l'étude, les bilans sérologiques furent organisés au début et la fin des périodes de stabulation, durant la période allant du printemps 1997 au printemps 1999. Au cours de cette période, deux visites systématiques de chaque ferme permirent de remplir, en tête-à-tête avec l'éleveur et le vétérinaire d'exploitation, deux questionnaires détaillés portant sur la gestion de l'exploitation. Les informations recueillies furent utilisées pour étudier les facteurs de risque d'infection par le BoHV-1. L'étude de l'efficacité de programmes de vaccinations répétées fut réalisée selon deux approches complémentaires : une analyse de survie et une étude de l'incidence de séroconversion envers gE (nombre de nouvelles infections) entre deux bilans sérologiques saisonniers. Le principe de l'analyse de survie est ici de comparer, entre les groupes expérimentaux, la probabilité de rester séronégatif envers gE. Si la protection vaccinale était parfaite, aucun animal ne présenterait de séroconversion envers gE. La probabilité de rester séronégatif serait donc maximale et constante au cours du temps. La protection conférée par les vaccins n'étant pas parfaite, les vaccinations auront pour but de maintenir élevée la probabilité de rester séronégatif au cours du temps. L'étude de l'incidence fut réalisée en élaborant un modèle statistique intégrant le nombre de cas recensés dans chaque classe d'âge, au sein de chaque troupeau, au cours des intervalles successifs, tout en tenant compte des facteurs de risque d'infection recensés et de la taille de la population à risque. Seules les variables explicatives significatives (facteurs de risque identifiés dans cette étude) ont été retenues dans le modèle final. Les deux protocoles de vaccinations ont permis de réduire le nombre d'infections par le BoHV-1 au cours de l'étude. Cette réduction est significative si les vaccinations sont répétées durant plus d'un an. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les deux protocoles de vaccinations répétées testés ici. Deux facteurs de risque ont pu être identifiés : le taux de séroprévalence calculé dans

chaque classe d'âge au début de l'intervalle de mesure, qui reflète la proportion d'individus porteurs latents ré-excréteurs potentiels du virus, et un âge supérieur à 6 mois, qui serait à mettre en rapport avec la fréquence accrue des stress liés aux cycles de production au sein de ces groupes d'animaux (changement de conditions d'hébergement liés à la gestation, à la mise-bas, au tarissement par exemple).

Etude de l'efficacité de programmes de vaccinations répétées dans les cheptels mixtes. L'analyse des données collectées fut réalisée selon une démarche identique à celle menée en cheptels laitiers. Dans ce type de production, les résultats obtenus chez les femelles et chez les mâles furent analysés séparément : ils constituent deux sous-groupes distincts dans les cheptels. Dans le sous-groupe des femelles, les deux protocoles de vaccinations répétées ont également réduit le nombre de nouveaux cas par rapport au groupe témoin. Cette réduction est devenue significative après un an de vaccination. Aucune différence significative ne fut mise en évidence entre les deux protocoles de vaccinations testés. Trois facteurs de risques d'infection furent mis en évidence : le taux de séroprévalence au début de l'intervalle considéré, au sein de la classe d'âge étudiée, un âge supérieur à 6 mois et le taux de prévalence calculé dans le sous-groupe des mâles, au début de l'intervalle considéré. Dans le sous-groupe des mâles, aucune différence significative ne fut observée entre les groupes expérimentaux. La vaccination y est cependant de mise, afin de limiter les risques de contagion d'un sous-groupe à l'autre au sein d'une même exploitation.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La présente étude a permis de démontrer la plus grande efficacité de programmes de vaccinations répétées sur la réduction de la circulation virale au sein des exploitations, comparativement aux protocoles habituellement suivis par les éleveurs. Dans les groupes vaccinés de façon répétée, la réduction de circulation virale s'est accompagnée d'une forte réduction de la prévalence dans les groupes d'animaux nés après le début de l'étude. La réduction d'incidence et le renouvellement des effectifs au cours du temps permettraient donc une éradication du BoHV-1 en quelques années. Le contrôle des facteurs de risque mis en évidence dans le présent travail, mais également dans d'autres études, augmenterait l'efficacité des protocoles de vaccination et réduirait la durée et le coût global du plan d'éradication.

Du présent travail se dégagent deux axes de travail, l'un pratique, l'autre théorique. D'un point de vue pratique, la méthodologie élaborée pour le suivi des exploitations peut être appliquée au suivi de l'évolution d'un plan de contrôle de l'IBR. Le secteur agricole dispose des moyens de contrôle de l'infection (différents protocoles de vaccination), des trousse de diagnostic (kits ELISA gE et gB) et de la

législation permettant la certification des troupeaux. Plus rien ne s'oppose donc à la mise en œuvre du plan de contrôle. D'un point de vue théorique, le présent travail peut être poursuivi par un approfondissement de l'étude des modèles d'analyse de survie. En effet, l'approche effectuée dans ce cadre doit être complétée par une modélisation de nombreuses incertitudes inhérentes au protocole expérimental mais qui ne pouvaient être évitées : intervalles de plusieurs mois entre les bilans sérologiques, imperfections des tests biologiques et entrées dans le protocole d'animaux déjà séropositifs envers gE, par exemple. Un modèle plus

général pourrait ensuite être appliqué au suivi d'autres pathologies infectieuses.

REMERCIEMENTS

Que soient remerciés 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 Intervet (Hoechst) qui ont fourni tous les vaccins utilisés durant l'étude.

RÉFÉRENCES

- BOELAERT F., BIRONT P., SOUMARE B., DISPAS M., VANOPDENBOSCH E., VERMEERSCH J.-P., RASKIN A., DUFÉY J., BERKVEN 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.
- Directive 64/432/CEE du Conseil, du 26 juin 1964, relative à des problèmes de police sanitaire en matière d'échanges intracommunautaires d'animaux des espèces bovine et porcine. *Journal officiel n° 121 du 29/07/1964 p. 1977 – 2012*. http://www.adminet.com/eur/loi/leg_euro/fr_364L0432.html. Consulté le 30 janvier 2003.
- KAASHOEK M.J., MOERMAN A., MADIC J., RIJSEWIJK F.A., QUAK J., GIELKENS A.L., VAN OIRSCHOT J.T. A conventionally attenuated glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus type 1 is an efficacious and safe vaccine. *Vaccine*, 1994, **12**, 439-444.
- KAASHOEK M.J., MOERMAN A., MADIC J., RIJSEWIJK F.A., WEERDMEESTER K., MARIS-VELDHUIS M.A., RIJSEWIJK F.A.M., VAN OIRSCHOT J.T. An inactivated vaccine based on a glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus 1 induces protective immunity and allows serological differentiation. *Vaccine*, 1995, **13**, 343-346.
- 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 type 1 with an inactivated gE-deleted vaccine. *Vet. Rec.*, 2003, **152**, 681-686.
- KRAMPS J.A., MAGDALENA J., QUAK J., WEERDMEESTER K., KAASHOEK M.J., MARIS-VELDHUIS M.A., RIJSEWIJK F.A., KEIL G., VAN OIRSCHOT J.T. A simple, specific and highly sensitive blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine herpesvirus 1. *J. Clin. Microbiol.*, 1994, **32**, 2175-2181.
- LEMAIRE M., PASTORET P.-P., THIRY E. Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1994, **138**, 167-180.
- LIMBOURG B., KERKHOFS P., MASSARD C., MICHELET S., SAEGERMAN C., THIRY E. Avantages et inconvénients d'un plan de lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine en Belgique. *Ann. Méd. Vét.*, 2002, **147**, 57-69.

- 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 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.
- 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.
- VAN OIRSCHOT J.T., KAASHOEK M.J., MARISVELDHUIS M.A., WEERDMEESTER K., RIJSEWIJK F.A.M. An enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against glycoprotein gE of bovine herpesvirus 1 allows differentiation between infected and vaccinated cattle. *J. Virol. Methods*, 1997, **67**, 23-34.

PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE

- DISPAS M., KERKHOFS P., THIRY E. Mesure de l'effet de l'hyperimmunisation pour le contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine dans les troupeaux laitiers en Belgique : analyse de survie. *Epidemiol. Santé Anim.*, 2003, **44**, 95-104.
- DISPAS M., SCHYNTS F., LEMAIRE M., LETELLIER C., VANOPDENBOSCH E., THIRY E., KERKHOFS P. Isolation of a glycoprotein E-deleted bovine herpesvirus type 1 strain in the field. *Vet. Rec.*, 2003, **153**, 209-212.
- DISPAS M., LEMAIRE M., SPEYBROECK N., BERKVEN 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 1 en cheptels laitiers : résultats d'une étude sur le terrain. *Ann. Méd. Vét.*, 2004, **148**, 47-61.