



## COMITÉ SCIENTIFIQUE DE L'AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE

### AVIS 07-2007

**Objet:** Evaluation de la possibilité de réapparition de la fièvre catarrhale ovine (FCO, Bluetongue) au printemps 2007, évaluation de propositions de mesures préventives et de lutte contre cette maladie, notamment la vaccination, et détermination d'un niveau de surveillance de la faune sauvage (dossier Sci Com 2007/05)

Le Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire,

Vu la loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire, en particulier l'article 8 ;

Vu l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Considérant le règlement d'ordre intérieur visé en article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 27 mars 2006 ;

Vu la demande au Comité scientifique d'évaluer la possibilité de réapparition de la fièvre catarrhale ovine (FCO, Bluetongue) au printemps 2007, d'évaluer des propositions de mesures préventives et de lutte contre cette maladie, notamment la vaccination, et de déterminer un niveau de surveillance de la faune sauvage;

Considérant les discussions menées lors des réunions de groupe de travail des 29 janvier et 6 février 2007, et des séances plénières des 9 février et 9 mars 2007;

**donne l'avis suivant :**

#### **1. Termes de référence**

Au vu de la menace que constitue la FCO pour la santé animale et des répercussions sur les échanges communautaires engendrées par la découverte de cas positifs en Belgique, il convient de prendre les mesures les plus adaptées à l'épidémiologie particulière de la souche du virus de la FCO qui sévit en Belgique depuis le mois d'août 2006.

Depuis l'apparition du virus en Belgique en 2006, des mesures de lutte contre cette maladie sont en vigueur dans les zones concernées. Ces mesures sont prises en application de l'arrêté ministériel du 20 novembre 2001, basé sur la Directive 2000/75/CE et des Décisions européennes publiées à intervalles réguliers (la Décision 2005/393/CE de base, et les décisions la modifiant : Décision 2006/577/CE, Décision 2006/591/CE, Décision

2006/633/CE, Décision 2006/650/CE, Décision 2006/693/CE, Décision 2006/761/CE, Décision 2006/858/CE).

La DG Politique de Contrôle a soumis au Comité scientifique plusieurs questions concernant la gestion de la FCO. Une première question concernant l'emploi des insecticides dans la lutte contre la FCO a fait l'objet d'un premier avis (Avis 05-2007 ; [http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/2007-03-09\\_AVIS052007\\_fr.pdf](http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/2007-03-09_AVIS052007_fr.pdf)).

Les autres questions sont traitées dans cet avis et sont les suivantes :

1. Existe-t-il à l'heure actuelle des éléments qui permettent de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse de la réapparition de la maladie au printemps prochain ?
2. La vaccination constitue-t-elle un moyen de lutte efficace contre la FCO? Dans l'affirmative, est-il possible de définir des recommandations quant:
  - 2.1. aux objectifs envisageables (éradication de la maladie ou protection clinique des animaux) ;
  - 2.2. les critères à prendre en compte pour décider d'entamer une campagne de vaccination ;
  - 2.3. aux espèces à vacciner ;
  - 2.4. au type de vaccin à utiliser ?
3. Hormis les traitements à base d'insecticides et la vaccination, d'autres mesures préventives sont-elles indiquées pour éviter la propagation de la maladie, dans l'hypothèse où celle-ci réapparaîtrait au cours du printemps prochain ?
4. Suite aux résultats sérologiques positifs pour la FCO observés chez des cervidés tirés cet automne dans notre pays, quel est le niveau de surveillance souhaitable pour la FCO dans la faune sauvage?

Cet avis contient une introduction reprenant la base théorique (point 2), et une partie « avis » (point 3) contenant la réponse aux questions sur base des données présentées dans l'introduction.

Les mesures applicables en cas de réapparition de la FCO pourraient être adaptées en fonction des conclusions formulées par le Comité scientifique et des recommandations contenues dans l'avis de l'EFSA (à paraître à la fin du mois de mars).

## **2. Introduction**

### **2.1. Épidémiologie de la fièvre catarrhale ovine**

La FCO est une infection virale (virus de la Bluetongue, genre Orbivirus, famille des Reoviridae) qui se transmet par les Culicoïdes, qui sont des moucherons piqueurs. Elle se manifeste surtout chez les moutons, mais peut également affecter les bovins et les chèvres. De manière générale, le virus est plus pathogène pour les ovins que pour les bovins, et certaines races d'ovins semblent plus sensibles que d'autres.

Un ruminant infecté par le virus de la FCO constitue un risque épidémiologique très important pour la dissémination de l'infection, car il peut transmettre le virus au vecteur Culicoïdes compétent durant un repas de sang.

La maladie ne touche que les ruminants. Elle n'affecte pas l'homme et n'a aucune incidence sur la sécurité des denrées alimentaires.

Quatre espèces connues de Culicoïdes sont actuellement potentiellement vectrices de la maladie en Belgique ainsi que dans les pays voisins: les Culicoïdes du groupe *obsoletus*, *C. dewulfi*, *C. pulicaris* et *C. scoticus*, sans exclure la capacité vectorielle d'autres espèces.

Plus de deux mille cas de FCO ont été mis en évidence en Europe du Nord à partir du 17 août 2006, liés à l'émergence du sérotype viral 8, jusqu'alors inconnu en Europe. Les trois Etats membres les plus touchés sont la Belgique, l'Allemagne et les Pays-Bas. Le nord de la France et le Grand-Duché de Luxembourg sont aussi touchés.

Recensés à partir du 18 août 2006 en Belgique, le nombre de cas de FCO a considérablement augmenté à la fin du mois de septembre 2006, pour connaître une diminution à partir de la mi-novembre 2006. Les identifications belges les plus récentes datent des 3, 9 et 15 janvier 2007, et des identifications de FCO chez des ruminants ont également été établies en Allemagne fin janvier 2007 (EFSA, bulletin 15 du 2 février 2007; exposé SCOFCAH, 2007). Pour ces deux situations, il s'agit vraisemblablement d'infections datant de décembre 2006 (diagnostics sérologiques tardifs).

En date du 2 février 2007, 695 foyers étaient confirmés en Belgique, dont 399 concernaient des ovins, et 296 des bovins.

En 2006, les mesures d'application en Belgique suite à la confirmation de nouveaux foyers étaient, en résumé, une autorisation du mouvement des animaux d'une zone à risque élevé (20 km) vers une zone de risque moins élevé (100-150 km) que sous des conditions strictes en fonction des conditions épidémiologiques, et un traitement aux insecticides des animaux et des étables appartenant à la zone à risque (20 km) entourant ces foyers.

## **2.2. Critères à prendre en compte pour l'évaluation du risque de réapparition de la FCO en Belgique au printemps 2007**

Deux types de critères sont à prendre en compte :

- des critères concernant la survie et l'activité des Culicoïdes :
  - o la fin de la période d'activité des Culicoïdes
  - o les conditions météorologiques (température et luminosité),
  - o les possibilités de transmissions transovarienne (ou verticale, transmission via les œufs) et trans-stadiale (persistance du virus dans les larves de Culicoïdes, d'un stade larvaire à l'autre, notamment durant la diapause hivernale),
- des critères concernant l'infection par le virus chez les espèces animales réceptives :
  - o la durée de la virémie chez les différentes espèces animales réceptives que sont les bovins, ovins, caprins et les ruminants sauvages,
  - o la date des derniers cas déclarés de FCO chez ces espèces,
  - o la prévalence de la maladie au niveau des troupeaux et au niveau des animaux (bovins).

L'évaluation du risque est rendue difficile par le manque de connaissances scientifiques concernant certains de ces critères.

### 2.2.1. Fin de la période d'activité des Culicoïdes

D'après le monitoring des Culicoïdes à l'aide du piégeage extérieur, un grand nombre de Culicoïdes a été retrouvé jusqu'au mois d'octobre 2006. Ensuite, ce nombre a diminué et des résultats assez irréguliers ont été observés jusqu'à l'obtention de résultats négatifs. En Flandre, de jeunes individus ont été capturés à l'extérieur à partir de janvier 2007. Il s'agirait d'éclosions précoces pouvant se produire pendant l'hiver lorsque la température le permet, et non de Culicoïdes ayant survécu à l'hiver.

Il est également nécessaire de tenir compte de la possibilité de survie des Culicoïdes adultes pendant l'hiver à l'intérieur des bâtiments. Il y a une méconnaissance de l'espèce du vecteur concernée, et donc de sa biologie et de sa propension à pénétrer dans les étables. En Wallonie, lors d'une enquête longitudinale effectuée dans la province de Liège, des

Culicoïdes adultes (*C. obsoletus* et *C. scoticus*) ont été capturés à l'intérieur des étables jusqu'au 12 mars 2007. Il s'agit probablement d'insectes adultes ayant survécu à l'hiver et non de nouvelles éclosions. Seuls deux individus males de *C. dewulfi* ont été trouvés. Il est possible que des adultes de *C. obsoletus* et de *C. scoticus* aient une période d'activité plus longue et étaient les seules espèces encore présentes au moment où les enquêtes à l'intérieur des étables ont commencé.

### 2.2.2. Conditions météorologiques

- Les conditions météorologiques déterminent la survie et l'activité des Culicoïdes pendant l'hiver.

D'après des experts d'Italie du Nord, les Culicoïdes meurent lorsque les conditions suivantes sont rencontrées (communication personnelle, OIE):

- soit une température inférieure à 10°C pendant 2 semaines ;
- soit une température de moins de 10°C pendant une semaine accompagnée d'une température inférieure à 0°C pendant 3 jours. Il n'y a cependant pas de données exactes publiées à ce sujet. De plus, le climat de l'Italie du Nord n'est pas exactement le même que celui de la Belgique.

En Flandre, en date du 1<sup>er</sup> mars, de telles conditions de température ont presque été rencontrées. Il est impossible de prédire si des périodes de gel suffisantes pour tuer le vecteur seront encore atteintes durant l'hiver, voire au printemps 2007. L'espèce de Culicoïde vectrice en cause est présente en Belgique et dans plusieurs pays européens, ce qui laisse penser qu'elle est adaptée aux conditions météorologiques de nos pays.

Sur base de l'expérience des experts en Italie du Nord, il est postulé que, à partir du moment où il y a moins de 10 Culicoïdes par piège (activité diminuée), il n'y a plus de risque de dispersion de ceux-ci ni de transmission du virus. L'hypothèse basée sur l'avis des experts en Italie du nord sur le lien entre la température extérieure et la transmission du virus devra cependant être confirmée par des études menées spécifiquement en Belgique. En effet, durant l'hiver 2006-2007 caractérisé par des températures anormalement élevées, il a été possible de capturer à certains moments, et temporairement, plusieurs dizaines de Culicoïdes par piège, alors qu'habituellement les captures en hiver donnent des résultats négatifs ou très faibles. Dans les circonstances actuelles, les Culicoïdes peuvent donc être actifs en petit nombre (par exemple, le 23 février 2007, 7 Culicoïdes ont été capturés en Campine).

Dans certaines régions du sud de l'Afrique, pour lesquelles la situation climatique peut être comparée à celle de la Belgique, il y a, lorsque les conditions météorologiques le permettent, une augmentation de la population des Culicoïdes permettant une transmission suffisante du virus pour amplifier l'infection et provoquer une épidémie. Un overwintering se produit dans les régions au niveau desquelles il y a une persistance du virus pendant l'hiver.

- Les conditions météorologiques déterminent également le moment de la reprise de l'activité des Culicoïdes au printemps.

Il est difficile de prédire l'évolution des conditions météorologiques et par conséquent d'estimer cette période de reprise de l'activité des Culicoïdes.

### 2.2.3. Possibilité de transmissions transovarienne et trans-stadiale au sein du vecteur Culicoïdes

Des éventuelles transmissions trans-ovarienne et transstadiale du virus au sein du vecteur Culicoïdes pourraient représenter des facteurs importants de persistance de l'infection durant l'hiver. En effet, alors que les Culicoïdes adultes meurent à des températures

inférieures à 0°C, les stades larvaires peuvent persister pendant l'hiver dans les étables et également dans les matières organiques et fécales des animaux.

La littérature scientifique indique l'absence de transmissions trans-ovarienne et transstadiale chez les Culicoïdes (Mellor, 2001 ; Mullen, 2002). Cette absence a notamment été démontrée expérimentalement pour *C. variipennis* (Nunamaker *et al.*, 1990). Comme ceci peut être considéré comme une propriété biologique fondamentale partagée par l'ensemble des espèces d'un groupe, il est très peu probable qu'une transmission verticale existe chez les espèces de Culicoïdes vectrices présentes en Belgique.

#### 2.2.4. Durée de la virémie

Les ruminants peuvent présenter une virémie durant une période variable, et qui est généralement longue (infection chronique). Il est par ailleurs nécessaire de définir la durée de cette virémie en fonction du sérotype viral ainsi que de la méthode de diagnostic utilisée : la virémie infectieuse se réfère à l'isolement de virus infectieux à partir du sang, car la détection d'acide nucléique viral dans le sang par reverse transcriptase PCR (RT-PCR) ne signifie pas nécessairement la présence de virus infectieux. Les données publiées sur les périodes de virémie ne concernent pas le sérotype 8 :

- la virémie peut être transitoire chez les ruminants (Bonneau *et al.*, 2002) ;
- la durée maximale de virémie infectieuse pour le sérotype 17 transmis par *C. sonorensis* a été déterminée à 21 jours chez les bovins et les moutons (Bonneau *et al.*, 2002) ;
- la durée maximale de virémie infectieuse est de 27 à 54 jours après l'inoculation du sérotype viral 4 chez des moutons et des chèvres (Koumbati *et al.*, 1999) ;
- la durée maximale de virémie détectée par RT-PCR dans les érythrocytes est de 140 jours après l'inoculation du sérotype viral 10 chez des bovins (McLachlan, 1994) ;
- la durée maximale de virémie détectée par RT-PCR dans les érythrocytes est de 222 jours chez des ruminants après inoculation du sérotype 4 (Bonneau *et al.*, 2002).

Chez les ovins, la virémie ne semble pas excéder 40 jours (Katz *et al.*, 1993).

Chez les bovins, le pic de virémie se situerait à la deuxième semaine après l'infection. La durée de la virémie est variable selon les études. Dans 95 % des cas, il semblerait qu'elle soit comprise entre 15 jours et 2 mois (Melville *et al.*, 1996). D'autres auteurs ont chiffré ce délai entre 50 et 102 jours selon les sérotypes (Luedke *et al.*, 1977).

Une incertitude persiste donc à cause du fait que l'on ne connaît pas exactement la durée de la virémie pour le sérotype 8. Les résultats préliminaires d'une étude longitudinale (toujours en cours) réalisée par l'Université de Liège en collaboration avec le CERVA-CODA indiquent que pour le sérotype 8, la durée de la virémie détectée par RT-PCR quantitative est au moins égale à 105 jours.

#### 2.2.5. Date des derniers cas déclarés de FCO

Comme mentionné plus haut, l'identification des cas belges de FCO les plus récents date des 3, 9 et 15 janvier 2007 (bovins qui auraient été infectés en décembre 2006 et diagnostiqués tardivement à cause de la difficulté de diagnostic). Ces données indiquent que des virémies ont débuté tardivement au cours de l'hiver 2006-2007. Elles renforcent l'hypothèse de la possibilité de persistance du virus chez les ruminants au cours de l'hiver 2006-2007.

#### 2.2.6. Prévalence de la maladie au niveau des troupeaux et au niveau des animaux (bovins)

Selon les résultats préliminaires d'un screening sérologique réalisé en janvier 2007 dans 300 troupeaux bovins belges (14 000 échantillons), la prévalence de la FCO est haute (infections antérieures à janvier). Selon la province, des animaux séropositifs sont trouvés dans 47 à

100 % des troupeaux testés. La prévalence au niveau des animaux varie également fort selon la province, entre 3 et 48 % (moyenne : 19 %). Les plus hautes prévalences se trouvent dans les provinces du Limbourg et de Liège. Le fait que la prévalence soit supérieure à celle attendue en fonction du nombre de cas déclarés peut être expliqué soit par des infections sub-cliniques (souche peu virulente, signes cliniques frustrés rendant le diagnostic clinique difficile), soit par un problème de sous-déclaration. Cette haute prévalence renforce également l'hypothèse de la possibilité de persistance du virus chez les ruminants au cours de l'hiver 2006-2007.

## 2.3. La vaccination

### 2.3.1. Avantages et justifications de l'utilisation de la vaccination comme stratégie de lutte contre la FCO.

- De manière générale, la vaccination réduit l'intensité et la durée de la virémie qui font suite au contact entre un animal vacciné et la souche sauvage du virus, menant à une réduction progressive de la transmission du virus.
- La vaccination est recommandée comme moyen de lutte contre les maladies enzootiques (Erasmus, 1980). La situation épidémiologique belge serait considérée comme enzootique si le virus persistait pendant l'hiver et si l'année 2007 connaissait une incidence relativement constante de nouveaux foyers de FCO au cours du temps.
- La FCO est une maladie vectorielle dont la maîtrise du vecteur est difficile. La vaccination permettrait d'agir à la fois sur le vecteur et sur l'animal (contrairement aux insecticides par exemple, qui n'agissent que sur le vecteur).
- Elle reste un moyen de lutte important pour réduire les pertes économiques dues à la maladie (morbidité, mortalité) (Giovannini *et al.*, 2004).
- La détection clinique ne se fait que chez des animaux qui sont déjà virémiques depuis plusieurs jours, et il y a également de nombreuses infections sub-cliniques qui échappent à la déclaration obligatoire. Sans vaccination, ces situations contribuent à entretenir le cycle de transmission du virus.
- Selon la littérature, le seul moyen efficace de lutte contre la FCO serait la vaccination (Ramakrishnan *et al.*, 2006).

### 2.3.2. Objectifs envisageables par la vaccination.

Deux objectifs peuvent être envisagés par la vaccination : protection clinique ou éradication. L'efficacité de celle-ci dépend de l'objectif recherché :

- Si l'objectif primaire de la vaccination est une protection clinique (lutte contre les signes cliniques et limitation des pertes économiques), celui-ci sera atteint à condition que des vaccins efficaces soient utilisés (protection contre la virémie).
- Si l'objectif est une éradication de la FCO, cela est encore possible à l'aide de la vaccination pour autant que la diminution de la virémie puisse être suffisante pour interrompre le cycle de transmission du virus (éventuellement avec l'aide de périodes de gel pendant l'hiver) et que l'introduction de nouveaux types de virus à partir de zones infectées soit rendue impossible. Il y a cependant deux points d'attention :
  - si la faune sauvage est reconnue comme réservoir de l'infection (voir points 2.5. et 3.4.), cela risque de rendre l'éradication difficile, voire impossible ;
  - il y a nécessité de vérifier l'absence de transmissions transovarienne et transstadiale du virus chez le vecteur en cause, ce qui n'est pas encore connu à l'heure actuelle avec certitude (voir point 2.2.).

L'éradication à long terme de la FCO est donc théoriquement possible, mais avec les différents points d'attention mentionnés ci-dessus comme restriction.

### 2.3.3. Critères à prendre en considération pour la décision de la vaccination

Il s'agit de critères opérationnels :

- la vaccination est recommandée principalement pour protéger les animaux sensibles non immunisés dans la population au moment où la campagne de vaccination est planifiée (fin de l'hiver). Si une faible proportion des animaux des troupeaux sont infectés avant l'hiver, cela laisse pour le printemps une population comprenant un grand nombre d'animaux non immunisés. Par contre, si une grande proportion des animaux des troupeaux sont infectés avant l'hiver, la population au printemps suivant comprend une grande proportion d'animaux immunisés. Selon les résultats préliminaires du screening sérologique menée en Belgique dans les troupeaux bovins en janvier 2007, il semble que la prévalence troupeau soit élevée (de 47% à 100% des troupeaux infectés selon les provinces) et que la prévalence individuelle varie selon la province (3% à 48% d'animaux positifs). Ces données préliminaires suggèrent l'intérêt d'une vaccination qui conférerait une immunité protectrice aux nombreux animaux non immunisés ;
- la vaccination est recommandée en général pour lutter contre une infection enzootique. Il sera nécessaire, comme mentionné plus haut, de déterminer si la FCO sera enzootique en Europe du Nord au moment où une campagne de vaccination pourra être envisagée ;
- la vaccination ne doit pas être envisagée dans les régions où la présence de vecteur compétent n'est pas confirmée ;
- en ce qui concerne la période de l'année où la vaccination est recommandée, celle-ci doit être réalisée avant la période de début de l'activité printanière du vecteur Culicoïdes, c'est à dire à la fin de l'hiver.

### 2.3.4. Les différents types de vaccins contre le sérotype 8

Actuellement, seul un vaccin vivant atténué est produit contre le sérotype 8, en Afrique du Sud. Plusieurs firmes sont occupées à développer un vaccin inactivé contre le sérotype 8 du virus de la FCO. Ceux-ci ne seront vraisemblablement pas disponibles avant 2008. Les vaccins recombinants contenant les protéines structurales majeures du virus ne sont pas encore au point actuellement.

Selon Murray *et al.* (1996), Dungu *et al.* (2004) et Saegerman *et al.* (*in press*), les avantages et les inconvénients des vaccins vivants atténués et des vaccins inactivés actuels contre la FCO peuvent être résumés comme suit :

	<b>Vaccins vivant atténués</b>	<b>Vaccins inactivés</b>
<b>Avantages</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- efficacité d'induction de l'immunité, vu la multiplication dans l'hôte</li> <li>- seul disponible actuellement et seule alternative en cas d'inexistence de vaccins inactivés envers le sérotype 8</li> <li>- moins chers que les vaccins inactivés</li> <li>- facilité de production et délai acceptable en cas d'urgence</li> <li>- se multiplie chez l'animal → dose unique suffisante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- pas de retour vers la virulence</li> <li>- pas d'induction d'effets cliniques</li> <li>- possibilité d'administration aux femelles gestantes</li> <li>- pas de transmission du virus vaccinal d'un animal à l'autre</li> </ul>

<b>Inconvénients</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- possibilité de virulence résiduelle</li> <li>- possibilité de retour à une virulence encore plus importante que celle du virus sauvage</li> <li>- pas de possibilité de stratégie DIVA (Discrimination between Infected and Vaccinated Animals) actuellement<sup>1</sup></li> <li>- pas d'administration aux femelles gestantes (téatogénicité, avortement) en première moitié de gestation</li> <li>- risque de réassortiment de segments du génome entre le virus vaccinal et le virus sauvage → naissance d'un nouveau virus avec propriétés biologiques différentes et risque de dissémination</li> <li>- possibilité de circulation du virus vaccinal chez les animaux non vaccinés (femelles gestantes par exemple (téatogénicité et avortement))</li> <li>- risque d'introduction de sérotypes exotiques dans un écosystème en cas d'utilisation de vaccins polyvalents</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- pas disponible avant 2008</li> <li>- moins efficaces que les vaccins atténués dans l'induction de l'immunité (ne se multiplient pas dans l'hôte) → nécessité d'un rappel + adjuvant</li> <li>- pas de possibilité de stratégie DIVA actuellement</li> <li>- plus cher</li> </ul>
----------------------	--	---

Même avec la vaccination, il peut toujours y avoir introduction d'un autre sérotype du virus de la FCO en Belgique. Cette introduction peut avoir lieu via le transport des animaux et/ou de Culicoides lié au transport de biens, de personnes ou d'animaux. Le risque de réintroduction du sérotype 8, s'il était éradiqué, n'est pas non plus écarté, dans la mesure où le mécanisme de son introduction en Europe du nord en août 2006 n'a pas été élucidé. Ces deux considérations ne remettent cependant pas en cause l'utilité de la vaccination.

#### **2.4. Autres mesures préventives (hormis la vaccination et l'utilisation des insecticides)**

D'autres mesures préventives possibles pour la lutte ou la prévention contre la FCO sont les suivantes:

- 1) l'abattage des animaux présentant des signes cliniques. Bien que cette option puisse contribuer à diminuer la charge infectieuse, elle présente également des restrictions d'utilisation :
  - a. lorsqu'il y a détection clinique, l'animal est déjà virémique depuis plusieurs jours et a largement eu le temps de transmettre le virus par le biais d'une piqûre par le vecteur. La transmission du virus est dans ce cas limitée, mais pas interrompue ;
  - b. il existe des cas sub-cliniques qui ne sont par conséquent pas abattus, mais qui peuvent être piqués par le vecteur et transmettre la maladie. La transmission du virus n'est dans ce cas pas interrompue ;

<sup>1</sup> En Italie, une stratégie a récemment été développée pour distinguer certains vaccins vivants des virus sauvages.



- c. l'abattage en période d'enzootie peut être considéré comme une mesure disproportionnée dans le cadre de la FCO, maladie vectorielle non contagieuse ;
  - d. Il faut connaître la prévalence dans les foyers avant de décider d'abattre, car l'abattage ne peut concerner que des troupeaux dans lesquels la prévalence de l'infection est faible. Dans le cas de troupeaux fortement infectés, l'abattage peut être considéré comme une mesure disproportionnée ;
- 2) l'autorisation des mouvements et du transport des animaux à partir de zones à risque déterminé vers des zones à risque inférieur uniquement sous des conditions strictes en fonction des conditions épidémiologiques, telle qu'appliquée actuellement (Arrêté Ministériel du 20 novembre 2001 et Directives et Décisions européennes) ;
  - 3) la surveillance épidémiologique des espèces animales réceptives (durée de la virémie, isolement des cas positifs, détermination des derniers cas) ;
  - 4) le monitoring des vecteurs, afin de déterminer, entre autre, la période de reprise de leur activité au printemps. Parmi les outils à disposition, il existe un piège à succion qui fonctionne en continu et qui permettra de signaler la reprise d'activité de vol des Culicoïdes ;
  - 5) idéalement, tous les animaux en phase de virémie infectieuse devraient être confinés à l'intérieur des bâtiments afin de prévenir les contacts avec le vecteur (Erasmus, 1975). Cependant, cette proposition de mesure possède plusieurs inconvénients :
    - a. il est impossible, en pratique, d'identifier tous les animaux virémiques ;
    - b. si seul un certain pourcentage de ces animaux sont confinés, les autres continuent à transmettre l'infection, et
    - c. il y a de plus en plus de preuves de la pénétration des Culicoïdes à l'intérieur des étables.
  - 6) à condition qu'une étude approfondie soit réalisée, la lutte biologique au moyen de *Heleidomermis*, un nématode parasite des Culicoïdes, pourrait être considérée comme une alternative aux traitements chimiques par les insecticides dans la lutte contre les populations de vecteurs (Paine *et al.*, 1994). Il s'agit d'une option à long terme nécessitant beaucoup de temps, de recherche et de moyens.

## 2.5. Epidémiosurveillance de la faune sauvage

Les ruminants sauvages peuvent jouer le rôle de réservoir sauvage du virus de la FCO, et méritent à ce titre une attention particulière.

L'épidémiosurveillance de la FCO chez les ruminants sauvages constitue également un indicateur de la présence de la maladie.

### Echantillonnage actuel de la faune sauvage en Belgique.

La faune sauvage belge a été analysée pour la présence de la FCO à partir des échantillons suivants : une collection de 262 sérums datant de 2005, ainsi que les sérums de 684 ruminants sauvages en 2006, soit un total de 946 sérums. Les espèces suivantes sont représentées : cerf, chevreuil, mouflon et daim, dans les proportions suivantes : 2 cerfs pour un chevreuil, 8 mouflons et 3 daims. Les rapports mâles/femelles et adultes/sub-adultes+juvéniles sont de 1. Il s'agit de sérums prélevés sur animaux présumés sains tirés à la chasse pendant les mois d'octobre, novembre et décembre, dans 20 communes de Wallonie sur une surface assez large. Les rates de la plupart des animaux ont également été prélevées. Il n'y a pas de prélèvements disponibles couvrant la période des mois d'août et septembre, période du début de l'épidémie de FCO en Belgique.

En Flandre, il y a peu de cerfs, mais il y a des chevreuils. Il n'y a pas eu d'échantillons prélevés dans la faune sauvage en Flandre pour l'instant. Il est cependant possible de prélever des échantillons de cette faune sauvage en 2007.

### Tests de diagnostic.

Le diagnostic sérologique est réalisé sur sérum au moyen d'un test ELISA de compétition (ID. VET ; détection des anticorps dirigés contre la protéine VP-7) à l'Université de Liège. Les rates des animaux positifs sont envoyées au Laboratoire National de Référence (CERVA) pour le diagnostic virologique de confirmation au moyen d'une RT-PCR en temps réel.

La spécificité du test ELISA a été validée sur base d'un sérum de ruminant domestique de haute qualité et est de 99,9%. Or, pour les ruminants sauvages, les sérums sont de moins bonne qualité (hémolyse) parce qu'ils ont été prélevés sur des animaux morts et qui, en général, ont couru avant la mort. La spécificité des tests de diagnostic risque de ce fait d'être diminuée.

L'échantillonnage est donc biaisé, pour les raisons suivantes :

- il est limité à la période d'octobre/novembre/décembre ;
- il est limité à une certaine fraction de la population (animaux tirés pour la chasse) ;
- le sang prélevé est hémolysé.

### Résultats.

- Tous les échantillons de 2005 étaient séronégatifs.
- En novembre 2006, deux échantillons séropositifs (cerfs) ont été identifiés sur 450 animaux prélevés à cette époque, ce qui donne une séroprévalence de 0,4 % (intervalle de confiance de 95 % compris entre 0,05 % et 1,6 %). Cependant, la rate de l'un de ces cas a donné un résultat vironégatif par PCR, et la rate de l'autre cas n'était pas disponible. Trois hypothèses existent pour expliquer le premier cas :
  - soit il s'agit d'un animal infecté depuis longtemps (vieux séropositif devenu vironégatif ; le virus persiste moins longtemps que les anticorps) ;
  - soit il s'agit d'un ELISA faux positif ;
  - soit il s'agit d'un problème de PCR (faux négatif).

Un argument en faveur d'un vrai positif est que ce cerf positif a été tiré dans une zone coïncidant avec une zone où la maladie est présente au niveau des ruminants domestiques.

Un argument en faveur d'un faux positif peut être le pourcentage d'hémolyse plus important dans les sérums prélevés sur animaux sauvages, ce qui diminue la spécificité du test.

- Par la suite, deux échantillons (cerfs) ont encore été identifiés comme séropositifs par ELISA, mais doivent encore être confirmés.
- Au total, 4 échantillons sont séropositifs sur un total de 684 analysés pour 2006. La séroprévalence est donc de 0,58 % (intervalle de confiance de 95 % compris entre 0,16 et 1,49 %).

Si l'on considère que la population recensée de cerfs en Région wallonne est de 10 000 (dont un tiers est abattu chaque année), la fraction d'échantillonnage est de 6,84%.

### Situation dans la faune sauvage à l'étranger.

En Allemagne, dans les régions jouxtant la Belgique et les Pays-Bas, 13 cas ont été identifiés parmi les ruminants sauvages (mouflons, rennes, cerfs) (EFSA, bulletin 15 du 2 février 2007 ; exposé SCOFCAH, 2007).

### **3. Avis (réponses aux questions)**

#### **3.1. Existe-t-il à l'heure actuelle des éléments qui permettent de confirmer ou d'infirmier l'hypothèse de la réapparition de la maladie au printemps 2007?**

Ces éléments ont été cités et discutés au point 2.2.

##### Worst-case scénario

Le Comité scientifique estime que le risque de réapparition de la maladie au printemps 2007 existe. En effet :

- si l'on tient compte de la date des derniers cas chez les ruminants en Belgique et en Allemagne (fin décembre 2006, voire janvier 2007),
- si l'on tient compte d'une durée de virémie de 100\* jours chez les bovins ,
- si les conditions météorologiques au printemps permettent une reprise de l'activité des Culicoïdes avant la fin de la période de virémie des derniers cas de FCO (période de reprise théoriquement possible dès le début du mois de mars),

le risque que des ruminants en phase de virémie puissent encore être présents au moment de la reprise de l'activité des Culicoïdes au printemps existe.

Ce scénario est renforcé par :

- la possibilité de non obtention de températures capables de provoquer une mortalité de tous les Culicoïdes adultes au cours de l'hiver 2006-2007 (voir point 2.2.2) ;
- la possibilité de survie des vecteurs à l'intérieur des étables (voir point 2.2.1) ;
- la haute prévalence de la maladie au niveau des troupeaux et dans la population bovine au cours de l'automne - hiver 2006-2007 (voir point 2.2.6) ;
- la comparaison avec la situation dans d'autres régions telles que le sud de l'Afrique où la possibilité d'overwintering existe, et
- bien que cela soit très peu probable, la possibilité de transmissions transovarienne et trans-stadiale du virus chez le vecteur (voir point 2.2.3).

##### Autre scénario possible

Si les conditions météorologiques ne permettent pas la reprise de l'activité des Culicoïdes avant la fin du mois de mars, considérant une durée de virémie de 100 jours chez les bovins et la date actuelle des derniers cas, la possibilité de réapparition de la FCO au printemps devient plus faible. Le risque ne peut cependant pas être considéré comme négligeable, du fait de la possibilité de survie des vecteurs au cours de l'hiver, notamment à l'intérieur des étables, et de la haute prévalence de la FCO en Belgique au cours de l'automne - hiver 2006-2007.

Le Comité scientifique recommande de continuer la surveillance de l'activité des Culicoïdes au niveau des pièges même en hiver afin de déterminer avec exactitude le moment de leur reprise d'activité (seuil de 10 Culicoïdes par piège). Il est recommandé de prendre des mesures de lutte à cette période, notamment l'utilisation préventive d'insecticides à large échelle afin d'enrayer la première vague de reprise d'activité vectorielle et éviter leur contact avec les animaux en éventuelle phase finale de virémie (voir avis 05-2007 ; [http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/2007-03-09\\_AVIS052007\\_fr.pdf](http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/2007-03-09_AVIS052007_fr.pdf)).

Il recommande également de continuer l'épidémiosurveillance (détection passive des cas cliniques et dépistage actif des animaux virémiques selon un plan d'échantillonnage) de la FCO chez les ruminants en hiver afin d'identifier d'éventuels cas tardifs, et pour éventuellement prendre des mesures (traitement aux insecticides, par exemple) concernant ces animaux afin de diminuer la probabilité de résurgence de la maladie au printemps.

---

\* Chez les bovins, le pic de virémie se situe à la deuxième semaine après l'infection. La durée de la virémie est variable selon les études. Dans 95 % des cas, il semblerait qu'elle soit comprise entre 15 jours et 2 mois (Melville *et al.*, 1996). D'autres auteurs ont chiffré ce délai entre 50 et 102 jours selon les sérotypes (Luedke *et al.*, 1977).

### **3.2. La vaccination constitue-t-elle un moyen de lutte efficace contre la FCO?**

Le Comité scientifique estime que la vaccination peut constituer, lorsque des vaccins inactivés efficaces contre le sérotype 8 seront disponibles, et si la FCO est présente à l'état enzootique à ce moment, une option de lutte efficace et intéressante contre cette maladie, pour les raisons évoquées au point 2.3.1. On s'attend à ce qu'elle mène à une réduction progressive de la transmission du virus et qu'elle réduise les pertes économiques dues à la morbidité et à la mortalité.

Cependant, elle n'est envisageable que si elle est associée à une possibilité de contrôle du transport et du commerce des animaux car elle devra être appliquée pendant une durée assez longue.

#### **3.2.1. Recommandations selon les objectifs envisageables**

La réponse à cette question est rédigée conjointement avec la réponse à la question traitant des recommandations quant aux espèces animales à vacciner (voir point 3.2.3.).

#### **3.2.2. Recommandations quant aux critères à prendre en considération pour décider d'entamer une campagne de vaccination**

La vaccination est recommandée avant la période de reprise de l'activité des Culicoïdes, c'est à dire à la fin de l'hiver, si l'infection est enzootique et si l'effectif des animaux non-immunisés est important selon les résultats des screenings sérologiques menés au cours de l'automne - hiver précédant l'éventuelle campagne de vaccination. La vaccination ne doit pas être envisagée dans les régions où la présence de vecteur compétent n'est pas confirmée (voir point 2.3.3.).

#### **3.2.3. Recommandations quant aux espèces et types (âge) d'animaux à vacciner**

Ces recommandations dépendent des objectifs qui sont envisagés.

- Si l'objectif est la lutte/contrôle contre les signes cliniques de la maladie (protection clinique des espèces sensibles), il est uniquement nécessaire de vacciner les espèces qui montrent des signes cliniques (bovins et ovins domestiques).
- Si l'objectif est l'éradication, il est nécessaire de vacciner toutes les espèces réceptives : bovins, ovins, caprins, cervidés semi-sauvages et sauvages, ruminants des parcs et jardins zoologiques. Les chèvres sont incluses car, malgré le fait qu'aucun cas n'a été observé chez cette espèce dans les 5 pays touchés par le sérotype 8, on ne peut pas exclure le fait que ces chèvres puissent être résistantes (infection sub-clinique), jouer un rôle de réservoir et alimenter le cycle de transmission du virus.

Le Comité scientifique recommande, si une politique de vaccination est décidée, une vaccination généralisée. En effet, selon la loi de Charles Nicolle, il est nécessaire que, de manière générale, 75% des animaux soient immuns pour que l'évolution d'une maladie sous forme d'épizootie ne soit plus possible.

Il recommande aussi une vaccination de l'ensemble des zones infectées en Europe du nord.

Cette vaccination doit être associée à un contrôle des mouvements des animaux afin d'éviter l'introduction éventuelle de nouveaux virus à partir de zones infectées.

Le Comité scientifique émet cependant une réserve quant à la possibilité d'éradication si la faune sauvage est reconnue comme réservoir de FCO.

- En ce qui concerne l'âge des animaux à vacciner, une attention particulière devrait être portée aux jeunes animaux, les animaux plus âgés ayant probablement été déjà en contact avec le virus l'année précédente et par conséquent naturellement immunisés par cette exposition antérieure (voir les résultats du screening sérologique, point 2.2.6.).

Pour rappel, la vaccination des animaux gestants avec des vaccins vivants atténués n'est pas recommandée du fait du risque tératogène et d'avortement.

### **3.2.4. Recommandations quant au type de vaccin à utiliser**

Le Comité scientifique recommande l'utilisation d'un vaccin :

- disponible officiellement ;
- offrant une garantie de protection contre la virémie et donc par conséquent contre les signes cliniques, si l'objectif est économique (protection clinique des espèces sensibles) ;
- dirigé au minimum contre le sérotype circulant ;
- offrant des garanties d'efficacité et une durée d'immunité de minimum un an ;
- actuellement, l'utilisation de vaccins inactivés classiques est préconisée. Il faut néanmoins savoir que la stratégie DIVA n'est pas applicable actuellement avec un vaccin inactivé classique, ce qui peut avoir des conséquences sur, par exemple, le contrôle du transport des animaux (impossibilité de différencier animaux infectés et animaux vaccinés) (voir point 2.3.4.);

Vu la possibilité d'introduction de nouveaux sérotypes viraux via les mouvements, une recommandation quant au type de vaccin à utiliser serait de vacciner à l'aide d'un vaccin protégeant contre tous les sérotypes de virus de la FCO. Vu qu'il existe des protections croisées, un vaccin dirigé contre 10 à 12 sérotypes serait suffisant pour protéger les animaux contre tous les sérotypes. Il n'existe cependant pas actuellement de tels vaccins multivalents.

### **3.3. Hormis les traitements à base d'insecticides et la vaccination, d'autres mesures préventives sont-elles indiquées pour éviter la propagation de la maladie, dans l'hypothèse où celle-ci réapparaîtrait au cours du printemps prochain ?**

Le Comité scientifique estime que, idéalement, tous les animaux en phase de virémie infectieuse (virus transmissible) devraient être confinés afin d'éviter leur contact avec le vecteur et limiter la transmission du virus (Erasmus, 1975). Cependant, pour les raisons évoquées au point 2.4., il ne paraît pas opportun de recommander cette mesure.

Le Comité scientifique recommande cependant la permission du transport des animaux uniquement sous des conditions strictes, telle que déjà d'application selon l'arrêté ministériel du 20 novembre 2001, ainsi que la surveillance épidémiologique des espèces animales réceptives et le monitoring des vecteurs.

Afin de pouvoir planifier une lutte adéquate contre le vecteur (limitation des populations de vecteurs), des études sur la biologie et l'habitat larvaire des vecteurs sont essentielles. L'élimination de tous les habitats possibles des Culicoïdes est irréaliste et aurait un impact considérable sur la biodiversité de ces milieux, mais une meilleure connaissance de ces gîtes offrira des possibilités d'élaborer une lutte biologique ou chimique au niveau de ces habitats tout en tenant compte de l'impact écologique des mesures proposées.

### **3.4. Suite aux résultats sérologiques positifs pour la FCO observés chez des cervidés tirés cet automne dans notre pays, quel est le niveau de surveillance souhaitable pour la FCO dans la faune sauvage?**

Les résultats de l'épidémiosurveillance de la faune sauvage sont préliminaires. Actuellement, un maximum de 4 échantillons sont positifs ou douteux en sérologie (test ELISA ID. VET). Cela donne un total de maximum 4 cas sur 684 animaux prélevés en 2006, et donc une séroprévalence très faible, de 0,58 % (intervalle de confiance de 95 % compris entre 0,16 et 1,49 %). Il n'y a donc pas d'indication d'une infection massive des cervidés sauvages à l'heure actuelle en Belgique. Même si ceux-ci peuvent potentiellement constituer un réservoir sauvage d'infection à l'avenir, ils ne jouent pas un rôle épidémiologique important dans la situation actuelle. Cette affirmation peut être modulée à l'avenir en fonction de l'évolution éventuelle de la situation épidémiologique dans cette faune sauvage, d'autant plus que 13 cas chez des cervidés sauvages ont été identifiés en Allemagne.

Si l'objectif est l'utilisation des cervidés comme indicateurs de la présence de la maladie, il est alors nécessaire de continuer l'épidémiosurveillance de la FCO chez ces cervidés, selon un plan d'échantillonnage validé. La disponibilité des prélèvements est un facteur limitant pour l'épidémiosurveillance, mais il est cependant possible de l'élargir, en 2007, par:

- la couverture de la Flandre, et
- le prélèvement systématique de la rate des cervidés sauvages trouvés morts et amenés à l'Université de Liège pour autopsie.

### **4. Conclusion**

En conclusion, le Comité scientifique estime que la possibilité de persistance du virus pendant l'hiver et sa réapparition au printemps 2007 existe, selon le « worst case scénario ». Cela dépendra beaucoup de la durée de la virémie chez les espèces réceptives et des conditions météorologiques. Vu les conditions propices pour les Culicoïdes observées en 2006, la population larvaire prête à éclore en 2007 est probablement importante. Si au moment de cette éclosion, la température permet la multiplication du virus dans le vecteur, on peut s'attendre à la réapparition de la maladie chez les animaux non-immunisés lors de la première épidémie.

Pour cette raison, il recommande de continuer l'épidémiosurveillance active et passive de la FCO chez les ruminants d'une part, ainsi que le monitoring de l'activité vectorielle d'autre part. Il recommande aussi de tenir ces ruminants hors de contact avec les Culicoïdes lors de la reprise d'activité de ceux-ci, via notamment l'utilisation d'insecticides.

Selon le Comité scientifique, la vaccination des bovins et ovins domestiques à l'aide d'un vaccin inactivé, lorsque celui-ci sera disponible, est recommandée dans le but de diminuer l'impact économique de la maladie (lutte contre les signes cliniques). Cette vaccination doit être envisagée dans un contexte d'enzootie. Son application correcte mènera à une réduction progressive de la transmission du virus, pour autant que la faune sauvage ne constitue pas un réservoir du virus. La vaccination doit être généralisée et étendue à toutes les zones infectées en Europe du nord. Il recommande également la mise au point d'un vaccin efficace contre plusieurs sérotypes de FCO.

Par ailleurs, le Comité scientifique recommande également d'assurer un monitoring de l'espèce caprine afin de mieux évaluer le rôle épidémiologique de cette espèce dans la persistance de la maladie.

Le confinement des animaux en phase de virémie infectieuse présente plusieurs inconvénients. Il est également recommandé de continuer à n'autoriser les mouvements des animaux que sous des conditions strictes (voir l'arrêté ministériel du 20 novembre 2001).

Il est recommandé de continuer, et d'étendre à la Flandre, l'épidémiologie de la FCO chez ces cervidés sauvages, qui pourraient être des indicateurs de la présence de la maladie.

Au nom du Comité scientifique,  
Le Président,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert  
Bruxelles, le 2 avril 2007

### **Bibliographie**

Bonneau K.R., DeMaula C.D., Mullens B.A., and McLachlan N.J. Duration of viraemia infectious to *Culicoides sonorensis* in bluetongue virus-infected cattle and sheep. *Vet. Microbiol.*, **2002**, 88, 115-25.

Dungu B., Potgieter C., Von Teichman B., and Smit T. Vaccination in the control of bluetongue in endemic regions: the South African experience. *Dev. Biol.*, **2004**, 119, 463-72.

EFSA, Bluetongue Serotype 8 Epidemic Bulletin, by EFSA BTV Epidemiology Working Group. Bulletin 15 of 2 februari **2007** (period until 1 februari 2007 ([http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/in\\_focus/bluetongue.Par.0041.File.dat/bluetongue%20update%201%20Februari%202007.pdf](http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/in_focus/bluetongue.Par.0041.File.dat/bluetongue%20update%201%20Februari%202007.pdf))).

Erasmus B.J. The control of bluetongue in an enzootic situation. *Aust. Vet. J.*, **1975**, 51, 209-10.

Erasmus B.J. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, **1980**, 92, 461.

Giovannini A., Paladini C., Calistri P., Conte A., Colangeli P., Santucci U., Nannini D., and Caporale V. Surveillance system of bluetongue in Italy. *Vet. Ital.*, **2004**, 40, 369-84.

Katz J.B., Gustafson G.A., Alstad A.D., Adler K.A., and Moser K.M. Colorimetric diagnosis of prolonged bluetongue viremia in sheep, using an enzyme-linked oligonucleotide sorbent assay of amplified viral nucleic acids. *Am. J. Vet. Res.*, **1993**, 54, 2021-6.

Koumbati M., Mangana O., Nomikou K., Mellor P.S., and Papadopoulos O. Duration of bluetongue viraemia and serological responses in experimentally infected european breeds of sheep and goats. *Vet. Microbiol.*, **1999**, 64, 277-85.

Luedke A.J., Jochim M.M., and Jones R.H. Bluetongue in cattle: Effects of *Culicoides variipennis*-transmitted bluetongue virus on pregnant heifers and their calves. *Am. J. Vet. Res.*, **1977**, 38, 1687-95.

McLachlan N.J. The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **1994**, 17, 197-206.

Mellor P.S. Bluetongue virus. In: *The Encyclopedia of arthropod-transmitted infections*. Ed. M.W. Service, CABI Publishing, London, **2001**, pp. 78-83.

Melville L.F., Weir R., Harmsen M., et al. Characteristics of naturally occurring bluetongue viral infections of cattle. In: Bluetongue disease in Southeast Asia and the Pacific. St-George T.D. & Kegao P. (Eds), Proceedings n°66, ACIAR (Canberra), **1996**, pp. 245-50.

Mullen G.R. Biting midges (Ceratopogonidae). In: Medical and Veterinary Entomology. Edrs. G. Mullen et L. Durden, Academic Press London, **2002**, p.163.

Murray P.K., and Eaton B.T. Vaccines for bluetongue. Aust. Vet. J., **1996**, 73, 207-10.

Nunamaker R.A., Sieburth P.J., Dean V.C., Wigington J.G., Nunamker C.E., and Mecham J.O. Absence of transovarial transmission of bluetongue virus in *Culicoides variipennis*: immunogold labelling of bluetongue virus antigen in developing oocytes from *Culicoides variipennis* (Coquillett). Comp. Biochem. Physiol. A., **1990**, 96, 19-31.

Paine E.O., and Mullens B.A. Distribution, seasonal occurrence, and patterns of parasitism of *Heleidormis magnapapula* (Nematoda, Mermithidae), a parasite of *Culicoides variipennis* (Diptera, Ceratopogonidae) in California. Environ. Entomol., **1994**, 23, 154-60.

Ramakrishnan M.A., Pandey A.B., Singh K.P., Singh R., Nandi S., and Mehrotra M.L. Immune Responses and Protective Efficacy of Binary Ethylenimine (BEI)-Inactivated Bluetongue Virus Vaccines in Sheep. Vet. Res. Commun., **2006**, 30, 873-80.

Saegerman C., Hubaux M., Urbain B., Lengelé L., and Berkvens D. Regulatory aspects concerning temporary authorisation of animal vaccination in case of an emergency situation: example of bluetongue in Europe. In: Animal vaccination. Part. 2: scientific, economic, regulatory and socio-ethical aspects. Chapter 4: Regulatory aspects. Co-ordinator and Editor: P. -P. Pastoret, A. Schudel & M. Lombard. Rev. Sc. Tech. O.I.E.(special issue), 26 (2), **in press**.

SCOFCAH (Standing Committee on the Food Chain and Animal Health). Bluetongue – update on the situation in the Federal Republic of Germany. Exposé des 10 et 11 janvier **2007**.