



**WETENSCHAPPELIJK COMITÉ VAN HET FEDERAAL
AGENTSCHAP VOOR DE VEILIGHEID VAN DE VOEDSELKETEN**

ADVIES 07-2007

Betreft: Evaluatie van de kans dat de blauwtongziekte (bluetongue, BT) opnieuw opduikt in het voorjaar van 2007, evaluatie van voorstellen voor maatregelen ter preventie en ter bestrijding van deze ziekte, met name vaccinatie, en vaststelling van een bewakingsniveau voor in het wild levende dieren (dossier Sci Com 2007/05)

Het Wetenschappelijk Comité van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen,

Gelet op de wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8 ;

Gelet op het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen ;

Overwegende het huishoudelijk reglement bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 27 maart 2006 ;

Gelet op het verzoek aan het Wetenschappelijk Comité om de kans dat bluetongue (BT) in het voorjaar van 2007 opnieuw opduikt te evalueren, om voorstellen voor maatregelen ter preventie en ter bestrijding van deze ziekte, met name vaccinatie, te evalueren en om een bewakingsniveau voor in het wild levende dieren vast te stellen;

Overwegende de besprekingen die werden gevoerd op de vergaderingen van de werkgroep van 29 januari en 6 februari 2007 en op de plenaire vergaderingen van 9 februari en 9 maart 2007;

geeft het volgende advies :

1. Referentietermen

Gelet op de dreiging die van BT uitgaat voor de diergezondheid en de weerslag die de vaststelling van positieve gevallen in België heeft op het communautaire handelsverkeer moeten de maatregelen worden getroffen die het beste zijn aangepast aan de bijzondere epidemiologie van de BT-virusstam die sinds augustus 2006 in België woedt.

Sinds het virus in 2006 in België is opgedoken, gelden in de betreffende gebieden maatregelen ter bestrijding van deze ziekte. Die maatregelen zijn getroffen in uitvoering van het ministerieel besluit van 20 november 2001 dat steunt op Richtlijn 2000/75/EG en op de

met geregelde tussenpozen gepubliceerde Europese Beschikkingen (de basis Beschikking 2005/393/EG, en de wijzigende beschikkingen: Beschikking 2006/577/EG, Beschikking 2006/591/EG, Beschikking 2006/633/EG, Beschikking 2006/650/EG, Beschikking 2006/693/EG, Beschikking 2006/761/EG, Beschikking 2006/858/EG).

DG Controlebeleid legde aan het Wetenschappelijk Comité een aantal vragen voor in verband met de beheersing van BT. Een eerste vraag met betrekking tot het gebruik van insecticiden bij de bestrijding van BT, werd beantwoord in een eerste advies (Advies 05-2007; http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/2007-03-09_ADVIES052007_nl.pdf).

De andere vragen worden in dit advies behandeld en luiden als volgt :

1. Bestaan er thans elementen om de hypothese dat de ziekte in de lente terugkeert te bevestigen of te weerleggen ?
2. Is vaccinatie een doeltreffend middel om bluetongue te bestrijden ? Indien ja, is het mogelijk aanbevelingen te verwoorden met betrekking tot:
 - 2.1. de te overwegen doelstellingen (ziekte uitroeien of dieren klinisch beschermen) ;
 - 2.2. de criteria op basis waarvan tot een vaccinatiecampagne kan worden beslist ;
 - 2.3. de soorten die gevaccineerd moeten worden ;
 - 2.4. het te gebruiken type vaccin ?
3. Zijn, behalve behandelingen met insecticiden en vaccinatie, nog andere preventiemaatregelen aangewezen om verspreiding van de ziekte te voorkomen, in de veronderstelling dat deze in de lente terug opduikt ?
4. Wat is, met het oog op de positieve resultaten van serologie voor BT bij herten, die afgelopen herfst in ons land werden geschoten, het wenselijk niveau van bewaking voor BT bij in het wild levende dieren ?

Dit advies bestaat uit een inleiding waarin de theoretische grondslag wordt uiteengezet (punt 2) en uit een « advies »-deel (punt 3) waarin op basis van de in de inleiding weergegeven informatie antwoord wordt gegeven op de vragen.

De maatregelen die kunnen worden toegepast bij heropflakking van BT zouden kunnen worden aangepast al naargelang de conclusies van het Wetenschappelijk Comité en de aanbevelingen van EFSA (die eind maart 2007 worden bekendgemaakt).

2. Inleiding

2.1. Epidemiologie van de blauwtongziekte

BT is een virale infectie (bluetonguevirus (BTV), geslacht Orbivirus, familie Reoviridae) die wordt overgebracht door Culicoides, een soort van stekende knijten. De infectie treedt vooral op bij schapen maar kan ook runderen en geiten treffen. Algemeen is het zo dat het virus meer pathogeen is voor schapen dan voor runderen. Bovendien lijken sommige schapenrassen gevoeliger te zijn dan andere.

Een met het BTV besmette herkauwer vormt een zeer groot epidemiologisch risico voor verspreiding van de infectie omdat hij het virus op de betreffende Culicoides- vector kan overbrengen terwijl die bloed zuigt.

De ziekte treft alleen herkauwers. Ze treft niet de mens en heeft geen weerslag op de voedselveiligheid.

Er zijn thans vier Culicoides- soorten gekend die de ziekte potentieel kunnen overbrengen in België en in onze buurlanden : Culicoides van de groep obsoletus, C. dewulfi, C. pulicaris en

C. scoticus, waarbij het vermogen van andere soorten om als vector op te treden niet mag worden uitgesloten.

Vanaf 17 augustus 2006 werden in Noord Europa meer dan tweeduizend gevallen van BT vastgesteld die te maken hebben met het optreden van virusserotype 8 dat tot dan toe onbekend was in Europa. De drie lidstaten die het ergst werden getroffen zijn België, Duitsland en Nederland. Er waren ook gevallen in het noorden van Frankrijk en in het Groothertogdom Luxemburg.

Het aantal BT-gevallen, dat vanaf 18 augustus 2006 in België werd geteld, was tegen eind september 2006 aanzienlijk gestegen en vertoonde een daling vanaf medio november 2006. De recentste identificaties van BT werden in België vastgesteld op 3, 9 en 15 januari 2007, en eind januari werd nog BT bij herkauwers geïdentificeerd in Duitsland (EFSA, bulletin 15 van 2 februari 2007; uiteenzetting SCOFCAH, 2007). Betreffende deze twee situaties gaat het waarschijnlijk om infecties die opgetreden zijn in tot december 2006 (late serologische diagnoses).

Op 2 februari 2007 waren in België 695 uitbraken bevestigd, waarvan 399 bij schapen en 296 bij runderen.

Samengevat bestonden de maatregelen die in 2006 in België van toepassing werden na de bevestiging van nieuwe uitbraken erin dat het slechts onder strikte voorwaarden en al naargelang van de epidemiologische omstandigheden toegestaan was om dieren van een zone met een groot risico (20 km-zone) over te brengen naar een zone met een kleiner risico (100-150 km) en dat de dieren en stallen in een risicozone (20 km) rond die uitbraken met insecticiden moesten worden behandeld.

2.2. Criteria die in aanmerking moeten worden genomen bij de beoordeling van het risico dat BT in het voorjaar van 2007 opnieuw optreedt in België

Er moeten twee soorten van criteria in aanmerking worden genomen :

- criteria met betrekking tot het overleven en tot de activiteit van *Culicoides* :
 - o het einde van de activiteitsperiode van *Culicoides*
 - o de weersomstandigheden (temperatuur en licht),
 - o de mogelijkheid op transovariële (of verticale overdracht, via de eieren) en transstadiale overdracht (persistentie van het virus in de larven van *Culicoides*, van het ene larvenstadium naar het andere, met name tijdens de winterdiapauze),
- criteria met betrekking tot de infectie met het virus bij vatbare diersoorten :
 - o de duur van de viremie bij de verschillende vatbare diersoorten, nl. bij runderen, schapen, geiten, en bij in het wild levende herkauwers,
 - o de datum waarop de laatste gevallen van BT bij die soorten werden gemeld,
 - o de prevalentie van de ziekte op beslagniveau en op dierniveau (runderen).

De risico-evaluatie wordt bemoeilijkt door het gebrek aan wetenschappelijke kennis betreffende sommige van deze criteria.

2.2.1. Einde van de activiteitsperiode van *Culicoides*

De bewaking van *Culicoides* met behulp van buitenvallen gaf aan dat tot in oktober 2006 grote aantallen *Culicoides* werden aangetroffen. Daarna is dit aantal gaan dalen en werden eerst vrij onregelmatige en uiteindelijk negatieve resultaten verkregen. In Vlaanderen werden vanaf januari 2007 in open lucht jonge exemplaren gevangen. Ze zijn afkomstig van larven die tijdens de winter vroegtijdig kunnen uitkomen als de temperatuur dat toestaat en niet van *Culicoides* die de winter hebben overleefd.

Verder moet ook rekening worden gehouden met de mogelijkheid dat volwassen Culicoides binnenin de gebouwen de winter overleven. Er is weinig bekend over de betreffende vectorsoort en dus ook over de biologie van die soort en de neiging die zij vertoont om stallen binnen te dringen. In Wallonië werden, tijdens een in de provincie Luik uitgevoerd longitudinaal onderzoek, tot 12 maart 2007 binnenin stallen volwassen Culicoides (*C. obsoletus* en *C. scoticus*) gevangen. Het gaat wellicht om volwassen insecten die de winter hebben overleefd en niet om pas uitgekomen exemplaren. Enkel twee exemplaren van *C. dewulfi* werden daarbij aangetroffen. Het is mogelijk dat de volwassen exemplaren van *C. obsoletus* en *C. scoticus* langer actief blijven en de enige soorten waren die nog voorkwamen wanneer het onderzoek binnenin de stallen van start ging.

2.2.2. Weersomstandigheden

- De weersomstandigheden zijn bepalend voor het overleven en voor de activiteit van Culicoides tijdens de winter.

Volgens Noord Italiaanse deskundigen sterven Culicoides als de volgende omstandigheden zich voordoen (persoonlijke mededeling, OIE):

- ofwel gedurende 2 weken een temperatuur van minder dan 10°C ;
- ofwel gedurende één week een temperatuur van minder dan 10°C en daarbij gedurende 3 dagen een temperatuur van minder dan 0°C. Er werden hierover echter geen exacte gegevens gepubliceerd. Bovendien is het klimaat in Noord Italië niet helemaal hetzelfde als in België.

In Vlaanderen hebben zich tot 1 maart bijna gelijkaardige temperatuursvoorwaarden voorgedaan. Het is onmogelijk te voorspellen of in de winter, of zelfs in de lente van 2007 nog voldoende perioden met vorst zullen voorkomen om de vector te doden. De betreffende Culicoides- vectorsoort komt voor in België en in een aantal Europese landen, wat doet veronderstellen dat ze aangepast is aan de weersomstandigheden in ons land.

Op grond van de door de deskundigen in Noord Italië opgedane ervaring, wordt gesteld dat van zodra er per val minder dan 10 Culicoides worden gevangen (verlaagde activiteit), geen risico meer is voor verspreiding van de Culicoides en evenmin voor overdracht van het virus. De hypothese aangaande het verband tussen de buitentemperatuur en de overdracht van het virus die steunen op het advies van de deskundigen in Noord Italië zou evenwel moeten worden bevestigd door specifiek in België uitgevoerde studies. Tijdens de winter 2006-2007, die werd gekenmerkt door abnormaal hoge temperaturen, konden op bepaalde tijdstippen en tijdelijk immers per val tientallen Culicoides worden gevangen, terwijl de vangstresultaten in de winter gewoonlijk negatief of zeer laag zijn. In de huidige omstandigheden kunnen Culicoides dus in kleine aantallen actief zijn (op 23 februari 2007 werden in de Kempen bijv. 7 Culicoides gevangen)

In sommige gebieden in zuidelijk Afrika, waar de klimatologische omstandigheden met deze van België kunnen vergeleken worden, groeit de Culicoides populatie aan waardoor virusoverdracht in voldoende mate plaatsvindt om infectie te verspreiden en een epidemie te veroorzaken, wanneer de weersomstandigheden het toelaten. Overwintering geschiedt in gebieden waar persistentie van het virus gedurende de winter bestaat.

- De weersomstandigheden bepalen tevens het tijdstip waarop Culicoides hun activiteit in het voorjaar hervatten.

Het schatten van het tijdstip waarop Culicoides hun activiteit hernemen is, gezien de evolutie van de weersomstandigheden, moeilijk te voorspellen.

2.2.3. Mogelijkheden voor transvariële en transstadiale overdracht bij de Culicoides- vector

Eventuele transvariële en transstadiale overdrachten van het virus bij de Culicoides- vector zouden belangrijke factoren kunnen zijn met betrekking tot de persistentie van de infectie tijdens de winter. Terwijl volwassen Culicoides sterven bij temperaturen onder 0°C kunnen de larven immers 's winters in de stallen alsook in organisch materiaal en fecaliën van dieren overleven.

Volgens de wetenschappelijk literatuur komen geen transvariële en transstadiale virus overdrachten voor bij Culicoides (Mellor, 2001; Mullen, 2002). Dat werd met name proefondervindelijk aangetoond voor *C. variipennis* (Nunamaker *et al.*, 1990). Omdat dit een fundamenteel biologische eigenschap is die alle soorten van een groep met elkaar gemeen hebben, is het erg weinig waarschijnlijk dat verticale overdracht wel voorkomt bij de in België aanwezige Culicoides- vectorsoorten.

2.2.4. Duur viremie

Herkauwers kunnen gedurende een veranderlijke tijd een viremie vertonen; meestal gaat het om een lange periode (chronische infectie). De duur van deze viremie is afhankelijk van het virusserotype alsook van de gebruikte diagnostische methoden: infectieuze viremie verwijst naar de isolatie van het infectieuze virus uit bloed aangezien het vinden van viraal nucleïnezuur in het bloed bij middel van reverse transcriptase – PCR (RT-PCR) niet noodzakelijk betekent dat infectieuze virussen aanwezig zijn. De in verband met de duur van de viremie gepubliceerde gegevens hebben geen betrekking op serotype 8:

- de viremie kan bij herkauwers van voorbijgaande aard zijn (Bonneau *et al.*, 2002);
- de maximumduur van infectieuze viremie voor het door *C. sonorensis* overgebrachte serotype 17 werd vastgesteld op 21 dagen bij runderen en schapen (Bonneau *et al.*, 2002);
- de maximumduur van infectieuze viremie bedraagt 27 tot 54 dagen na inoculatie van virusserotype 4 bij schapen en geiten (Koumbati *et al.*, 1999);
- de door RT-PCR op de rode bloedcellen vastgestelde maximumduur van viremie is gelijk aan 140 dagen na inoculatie van virusserotype 10 bij runderen (McLachlan, 1994);
- de door RT-PCR op de rode bloedcellen vastgestelde maximumduur van viremie is gelijk aan 222 dagen bij herkauwers, na inoculatie van serotype 4 (Bonneau *et al.*, 2002).

Bij schapen lijkt de viremie niet langer dan 40 dagen te duren (Katz *et al.*, 1993).

Bij runderen kent de viremie een piek in de tweede week na besmetting. De duur van de viremie is in de studies veranderlijk. In 95 % van de gevallen, zou die schijnbaar tussen 15 dagen en 2 maand begrepen zijn (Melville *et al.*, 1996). Andere auteurs becijferden deze termijn op 50 tot 102 dagen al naargelang van de serotypes (Luedke *et al.*, 1977).

Er blijft dus onzekerheid bestaan vanwege het feit dat de duur van de viremie voor serotype 8 niet precies bekend is. De eerste resultaten van een (nog steeds lopende) longitudinale studie die wordt uitgevoerd aan de Universit  de Liège, in samenwerking met het CERVA-CODA geven aan dat voor serotype 8 de door middel van kwantitatieve RT-PCR vastgestelde duur van de viremie ten minste 105 dagen bedraagt.

2.2.5. Datum laatste gemelde gevallen van BT

Zoals reeds hierboven vermeld, werden de recentste identificaties van BT in België vastgesteld op 3, 9 en 15 januari 2007 (waarschijnlijk infecties die opgetreden zijn in december 2006, d.w.z. runderen waarbij de diagnose laattijdig werd gesteld als gevolg van moeilijkheden bij de diagnose). Deze gegevens wijzen erop dat de viremie n laat in de winter van 2006-2007 zijn begonnen en zetten de veronderstelling kracht bij dat persistentie van het virus bij herkauwers mogelijk is in de winter van 2006-2007.

2.2.6. Prevalentie van de ziekte op beslagniveau en op dierniveau (runderen)

Volgens de eerste resultaten van een serologische screening die in januari 2007 werd uitgevoerd in 300 Belgische rundveebeslagen (14 000 monsters) ligt de prevalentie van BT hoog (infecties die opgetreden zijn vóór januari 2007). Al naargelang van de provincie worden in 47 tot 100 % van de geteste beslagen seropositieve dieren aangetroffen. De prevalentie bij dieren verschilt ook sterk al naargelang van de provincie, nl. van 3 tot 48 % (met een gemiddelde van 19 %). De hoogste prevalenties vindt men in de provincies Limburg en Luik. Het feit dat de prevalentie hoger is dan de verwachte prevalentie in functie tot het aantal gemelde gevallen kan worden verklaard door ofwel de aanwezigheid van subklinische infecties (weinig virulente stam, onduidelijke klinische tekenen die de klinische diagnose bemoeilijken), ofwel het negeren van de meldingsplicht. Deze hoge prevalentie zet eveneens de veronderstelling kracht bij dat persistentie van het virus bij herkauwers mogelijk is in de winter van 2006-2007.

2.3. Vaccinatie

2.3.1. Voordelen en rechtvaardigingen van het toepassen van vaccinatie als BT-bestrijdingsstrategie

- In het algemeen vermindert vaccinatie de intensiteit en de duur van de viremie die optreedt na contact tussen een gevaccineerd dier en de wilde virusstam, wat een geleidelijke vermindering van de virusoverdracht tot gevolg heeft.
- Vaccinatie wordt aanbevolen als middel ter bestrijding van enzoötische ziekten (Erasmus, 1980). De epidemiologische situatie in België zou als enzoötisch worden beschouwd als het virus tijdens de winter persisteert en er in 2007 een in de tijd vrij constante incidentie is van nieuwe BT-uitbraken.
- BT is een vectorziekte met een moeilijk te beheersen vector. Vaccineren zou het mogelijk maken tegelijk op de vector en op het dier in te werken (in tegenstelling tot, bijvoorbeeld, insecticiden die enkel op de vector inwerken).
- Vaccinatie blijft een belangrijk middel om de aan de ziekte te wijten economische verliezen (morbiditeit en mortaliteit) te beperken (Giovannini *et al.*, 2004).
- Klinische vaststelling gebeurt bij dieren die reeds enkele dagen viremisch zijn en er zijn ook veel subklinische infecties die aan de meldplicht ontsnappen. Als niet wordt gevaccineerd, dragen dergelijke situaties ertoe bij dat de cyclus van virusoverdracht in stand wordt gehouden
- Volgens de literatuur zou vaccinatie het enige efficiënte middel zijn om BT te bestrijden (Ramakrishnan *et al.*, 2006).

2.3.2. Doelstellingen die met vaccinatie kunnen worden nagestreefd.

Met de vaccinatie kunnen twee doelstellingen worden nagestreefd : klinische bescherming of uitroeijing. De doeltreffendheid van de vaccinatie hangt af van het nagestreefde doel:

- Als de primaire doelstelling van vaccinatie klinische bescherming (klinische symptomen te bestrijden en economische verliezen te beperken) is, dan is deze haalbaar, mits efficiënte vaccins worden gebruikt (bescherming tegen de viremie).
- Als de doelstelling eruit bestaat om BT uit te roeien, dan is dit mogelijk van zover de viremie in voldoende mate kan worden teruggedrongen om de cyclus van virusoverdracht te doorbreken (eventueel door toedoen van perioden met vorst in de winter) en het binnenbrengen van nieuwe virustypes vanuit besmette gebieden onmogelijk wordt gemaakt. Er moet hierbij evenwel aan twee punten aandacht worden besteed :

- als de in het wild levende fauna een relevant infectiereservoir (zie punten 2.5. en 3.4.) is, dreigt uitroeiing moeilijk, of zelfs onmogelijk te worden ;
- het is noodzakelijk na te gaan of geen transovariële en transstadiale virusoverdracht voorkomt bij de betreffende vector ; dit is thans nog niet met zekerheid bekend (zie punt 2.2.).

Uitroeiing van BT op lange termijn is dus theoretisch mogelijk, maar bovenvermelde aandachtspunten gelden daarbij als beperkingen.

2.3.3. Criteria die bij het besluit om te vaccineren in aanmerking moeten worden genomen

Het gaat hierbij om operationele criteria :

- vaccinatie wordt vooral aanbevolen om de gevoelige niet-geïmmuniseerde dieren in een populatie te beschermen op het tijdstip waarop de vaccinatiecampagne gepland wordt (op het einde van de winter). Als maar een klein deel van de dieren van de beslagen vóór de winter besmet was, zal de populatie in de lente een groot aantal niet-immune dieren tellen. Als daarentegen een groot deel van de dieren van de beslagen vóór de winter besmet waren, zal een groot deel van de populatie in de lente immuun zijn. Volgens de eerste resultaten van de serologische screening die in januari 2007 bij rundveebeslagen werd uitgevoerd, lijkt de prevalentie op beslagniveau hoog te zijn (47% tot 100% van de beslagen besmet, al naargelang van de provincie), en de prevalentie op dierniveau te variëren al naargelang van de provincie (3% tot 48% positieve dieren). Deze eerste gegevens doen denken aan de belangstelling van een vaccinatie die een beschermende immuniteit zou geven aan het grote aantal niet-geïmmuniseerde dieren ;
- vaccinatie wordt in het algemeen aangeraden om een enzoötische infectie te bestrijden. Zoals hoger vermeld zal moeten worden uitgemaakt of BT in Noord Europa enzoëtisch is op het ogenblik dat een vaccinatiecampagne gepland wordt ;
- Vaccinatie moet niet worden overwogen in gebieden waar geen aanwezigheid van competente *Culicoides* bevestigd wordt ;
- wat de periode van het jaar betreft waarin vaccinatie wordt aanbevolen, is het zo dat de vaccinatie moet plaatsvinden vóórdat de *Culicoides*- vector zijn activiteit in het voorjaar hervat, dus op het einde van de winter.

2.3.4. Verschillende types vaccins tegen serotype 8

Thans wordt, in Zuid-Afrika, alleen een verzwakt levend virus tegen serotype 8 geproduceerd. Een aantal bedrijven werken aan de ontwikkeling van een geïnactiveerd vaccin tegen serotype 8 van het BTV. Dergelijke vaccins zullen waarschijnlijk niet beschikbaar zijn vóór 2008. Recombinante vaccins die de belangrijkste structureiwitten van het virus bevatten, zijn thans nog niet klaar voor gebruik.

Volgens Murray *et al.* (1996), Dungu *et al.* (2004) en Saegerman *et al.* (in druk), kunnen de voor- en nadelen van de huidige levende verzwakte vaccins en van geïnactiveerde vaccins tegen Bluetongue als volgt worden samengevat:

	Levend verzwakte vaccins	Geïnactiveerde vaccins
Voordelen	<ul style="list-style-type: none"> - efficiënt inductie van de immuun respons gezien de vermeerdering van het virus in de gastheer - het enige wat thans beschikbaar is en enig alternatief als geen geïnactiveerde vaccins tegen serotype 8 bestaan 	<ul style="list-style-type: none"> - geen terugkeer naar virulentie - geen inductie van ziekte tekens - kan worden toegediend aan drachtige dieren - geen vaccin virus overdracht van dier op dier

	<ul style="list-style-type: none"> - minder duur dan geïnactiveerde vaccins - vlotte productie en aanvaardbare termijn in spoedeisende gevallen - vermenigvuldigt zich in het dier → één enkele dosis volstaat 	
Nadelen	<ul style="list-style-type: none"> - mogelijke residuele virulentie - mogelijke terugkeer naar nog grotere virulentie dan die van het wilde virus - thans geen DIVA (Discrimination between Infected and Vaccinated Animals)- strategie mogelijk¹ - niet toedienen aan drachtige dieren (teratogeniciteit, abortus) in de eerste helft van de dracht - risico voor herschikking van genoomsegmenten tussen vaccivirus en wild virus → ontstaan van nieuw virus met andere biologische eigenschappen en risico voor verspreiding - mogelijk circuleren van vaccivirus bij niet gevaccineerde runderen (op drachtige dieren bijv. (teratogeniciteit en abortus)) - risico van insleep van exotische serotypes in een ecosysteem bij gebruik van polyvalente virussen 	<ul style="list-style-type: none"> - niet beschikbaar vóór 2008 - minder efficiënt dan verzwakte vaccins bij opwekken van immuniteit (vermenigvuldigen zich niet in de gastheer) → herhaling noodzakelijk + hulpstof - thans geen DIVA- strategie mogelijk - hogere kostprijs

Zelfs met vaccinatie is insleep van een andere serotype van het BTV in België nog steeds mogelijk. Insleep kan zich voordoen bij het transport van dieren en/of van Culicoides tijdens het transport van goederen, mensen of dieren. Het risico voor herinsleep van serotype 8, na een eventuele uitroeiing, is evenmin uitgesloten in de mate waarin weinig bekend is over het mechanisme van de insleep van dit type in Noord Europa in augustus 2006. Deze twee overwegingen stellen het nut van de vaccinatie evenwel niet in vraag.

2.4. Andere preventiemaatregelen (dan vaccinatie en gebruik van insecticiden)

Andere mogelijke preventiemaatregelen bij de bestrijding van BT zijn:

- 1) opruimen van dieren met klinische symptomen. Hoewel dit kan bijdragen tot een verlaging van de infectiedruk, gelden ook beperkingen bij de toepassing van deze maatregel :
 - a. als klinische symptomen worden vastgesteld, is het dier reeds enkele dagen viremisch en heeft het al ruim de tijd gehad om het virus over te dragen als het door de vector werd gestoken. De virusoverdracht wordt in dat geval gelimiteerd, maar niet uitgesloten ;

¹ In Italië is er recent wel een strategie ontwikkeld om bepaalde levende vaccins te onderscheiden van veldvirus.

- b. er bestaan ook subklinische gevallen die bijgevolg niet worden opgeruimd maar die wel door de vector kunnen worden gestoken en de ziekte kunnen overdragen. De virusoverdracht wordt in dat geval niet doorbroken ;
 - c. slachten tijdens een enzoötie kan in samenhang met BT als een maatregel buiten proportie worden beschouwd ; BT is immers een niet-besmettelijke vectorziekte ;
 - d. de prevalentie in de uitbraken moet bekend zijn voordat wordt besloten om dieren op te ruimen aangezien het opruimen enkel beslagen mag betreffen waarin de prevalentie van de infectie gering is. In het geval van sterk besmette beslagen kan slachten als een maatregel buiten proportie worden beschouwd ;
- 2) de toestemming om dieren van een zone met een bepaald risico naar een zone met een kleiner risico over te brengen, en dit slechts onder strikte voorwaarden en al naargelang van de epidemiologische omstandigheden, zoals die thans wordt toegepast (ministerieel besluit van 20 november 2001 en Europese Richtlijn en Beschikkingen) ;
 - 3) de epidemiologische bewaking van receptieve diersoorten (duur van de viremie, het isoleren van positieve gevallen, het vaststellen van laatste gevallen) ;
 - 4) de bewaking van vectoren om, onder meer, de periode van hervatting van de activiteit in het voorjaar te bepalen. Eén van de beschikbare middelen is een zuigval die continu werkt en aan de hand waarvan het hervatten van de vliegactiviteit van *Culicoides* kan worden gemeld ;
 - 5) idealiter zouden alle dieren, die in fase van infectieuze viremie zijn, op stal dienen geplaatst te worden, om het contact met vectoren te vermijden (Erasmus, 1975). De doeltreffendheid van deze maatregel wordt echter ondermijnd door meerdere factoren:
 - a. het is in de praktijk moeilijk alle viremische dieren te identificeren;
 - b. als slechts een gedeelte van deze dieren op stal wordt gezet, kunnen de andere dieren de infectie verder overbrengen;
 - c. er bestaan meer en meer bewijzen dat *Culicoides* de stallen binnendringen.
 - 6) mits een grondige studie wordt uitgevoerd, zou biologische bestrijding bij middel van *Heleidomermis*, een worm dat *Culicoides* parasiteert, kunnen worden beschouwd als een alternatief voor de chemische behandelingen met insecticiden bij de bestrijding van de vectorenpopulaties (Paine *et al.*, 1994). Dit is een optie op termijn die nog heel wat tijd, onderzoek en middelen vergt.

2.5. Epidemiologische bewaking van in het wild levende fauna

In het wild levende herkauwers kunnen als reservoir van het BTV optreden en verdienen daarom bijzondere aandacht.

De epidemiologische bewaking voor BT bij in het wild levende herkauwers geldt eveneens als een indicator voor de aanwezigheid van de ziekte.

Huidige bemonstering van in het wild levende fauna in België.

De in het wild levende fauna in België werd op grond van de volgende monsters onderzocht op de aanwezigheid van BT : een verzameling van 262 sera uit 2005 alsook sera van 684 in het wild levende herkauwers uit 2006, of in totaal 946 sera. De volgende soorten zijn hierbij vertegenwoordigd : hert, ree, moeflon en damhert, in de volgende verhouding : 2 herten voor een ree, 8 moeflons en 3 damherten. De verhoudingen tussen mannelijke en vrouwelijke dieren en tussen volwassen/bijna volwassen + jonge dieren zijn gelijk aan 1. Het gaat om sera die genomen zijn in de maanden oktober, november en december op geschoten gezonde dieren in 20 Waalse gemeenten verspreid over een vrij grote oppervlakte. De milt van de meeste dieren werd eveneens bemonsterd. Er zijn geen monsters beschikbaar uit de perioden augustus en september, de periode waarin BT in België opdook.

In Vlaanderen zijn er weinig herten, maar er zijn wel reeën. Er werden totnogtoe in Vlaanderen geen bemonsteringen op in het wild levende fauna uitgevoerd. Het is echter wel mogelijk om deze dieren in 2007 te bemonsteren.

Diagnosetests

De serologische diagnose wordt aan de Universiteit van Luik uitgevoerd op serum bij middel van een competitie-Elisatest (ID. VET ; opsporing van tegen VP-7 eiwit gerichte antistoffen). De milt van positieve dieren wordt met het oog op de bevestigende virologische diagnose bij middel van een real time RT-PCR overgebracht naar het Nationale Referentielaboratorium (CODA).

De specificiteit van de ELISA-test werd gevalideerd op basis van een serum van goede kwaliteit van een gedomesticeerde herkauwer en bedraagt 99,9%. Voor in het wild levende herkauwers zijn de sera echter van minder goede kwaliteit (hemolyse) omdat zij werden genomen van dode dieren die, doorgaans, hebben gelopen voordat ze zijn gestorven. De specificiteit van de diagnosetests kan daardoor verminderd zijn.

De bemonstering vertoont dus om de volgende redenen een systematische bias :

- ze is beperkt tot de periode oktober/november/december ;
- ze is beperkt tot een bepaalde gedeelte van de populatie (tijdens de jacht neergeschoten dieren) ;
- het afgenomen bloed is gehemolyseerd.

Resultaten.

- Alle monsters van 2005 waren seronegatief.
- In november 2006 werden twee seropositieve monsters (van herten) geïdentificeerd op een totaal van 450 toen bemonsterde dieren, wat neerkomt op een seroprevalentie van 0,4 % (95 % betrouwbaarheidsinterval begrepen tussen 0,05 % en 1,6 %). De milt van één van deze gevallen gaf evenwel een virusnegatief resultaat met PCR en de milt van het andere geval was niet beschikbaar. Als verklaring van het eerste geval zijn er drie veronderstellingen :
 - het gaat om een reeds lang besmet dier (vroeger seropositief virusnegatief geworden; virus is minder lang aanwezig dan antistoffen) ;
 - of het gaat om een vals positieve ELISA ;
 - of het gaat om een probleem met de PCR (vals negatief).

Een argument voor een echt positief geval is dat het hert werd neergeschoten in een gebied dat samenvalt met een gebied waar de ziekte voorkomt bij als huisdier gehouden herkauwers.

Een argument voor een vals positief geval kan zijn dat het hemolysepercentage groter is bij de sera afkomstig van in het wild levende dieren, waardoor de specificiteit van de test geringer is.

- Daarna werden nog twee monsters (van herten) als seropositief geïdentificeerd door middel van ELISA, maar die moeten nog worden bevestigd.
- Er zijn alles samen 4 monsters seropositief op een totaal van 684 geanalyseerde monsters van 2006. De seroprevalentie bedraagt dus 0,58 % (95 % betrouwbaarheidsinterval begrepen tussen 0,16 en 1,49 %).

Als men aanneemt dat de in het Waalse Gewest aanwezige populatie bestaat uit 10 000 herten (waarvan elk jaar een derde wordt gedood), is het bemonsteringspercentage gelijk aan 6,84%.

Toestand bij in het wild levende fauna in het buitenland.

In Duitsland werden, in de grensstreken met België en Nederland, 13 gevallen vastgesteld bij in het wild levende herkauwers (moeflons, rendieren, herten) (EFSA, bulletin 15 van 2 februari 2007 ; uiteenzetting SCOFCAH, 2007).

3. Advies (antwoorden op vragen)

3.1. Bestaan er thans elementen om de hypothese dat de ziekte in de lente van 2007 terugkeert te bevestigen of te weerleggen?

Deze elementen werden in punt 2.2. aangehaald en besproken.

Worst-case scenario

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat het risico bestaat dat de ziekte in de lente van 2007 terugkeert. Op basis van volgende vaststellingen bestaat het risico dat er nog viremische herkauwers aanwezig zijn op het tijdstip dat de *Culicoides* hun activiteit in de lente hervatten :

- als men rekening houdt met de datum van de laatste gevallen bij herkauwers in België en Duitsland (eind december 2006, of zelfs januari 2007),
- als men rekening houdt met een viremieduur van 100* dagen bij runderen ,
- als de weersomstandigheden in het voorjaar een hervatting van de activiteit van de *Culicoides* mogelijk maakt voordat de viremie ten einde is bij de laatste gevallen van BT (hervatting is theoretisch mogelijk vanaf begin maart).

Dat scenario wordt nog kracht bijgezet als gevolg van :

- de mogelijkheid dat in de winter 2006-2007 geen temperaturen worden gehaald waarbij al de volwassen *Culicoides* afsterven (zie punt 2.2.2);
- de mogelijkheid dat vectoren binnenin de stallen overleven (zie punt 2.2.1);
- de hoge prevalentie van de ziekte op beslagniveau en op runderpopulatie-niveau in de herfst en de winter 2006-2007 (zie punt 2.2.6);
- de vergelijking met de situatie in andere gebieden, zoals bepaalde gebieden in zuidelijk Afrika, waar de mogelijkheid van overwintering bestaat, en
- de mogelijkheid van transvariële en transstadiale overdracht van het virus bij de *Culicoides*-vector, alhoewel het zeer weinig waarschijnlijk is (zie punt 2.2.3.).

Ander mogelijk scenario

Als de weersomstandigheden de hervatting van de activiteit van de *Culicoides* verhinderen vóór eind maart, wordt de mogelijkheid dat BT in het voorjaar terugkeert kleiner, gelet op het feit dat de viremie bij runderen 100 dagen duurt en op de datum waarop de laatste gevallen tot nu toe zich hebben voorgedaan. Dit risico mag echter niet als verwaarloosbaar worden beschouwd omdat het mogelijk is dat de vectoren de winter overleven, met name in stallen, en vanwege de hoge prevalentie van BT in België tijdens de herfst en de winter 2006-2007.

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan de bewaking van de activiteit van de *Culicoides* bij middel van vallen ook in de winter voort te zetten om het tijdstip waarop de activiteit wordt hervat nauwkeurig te kunnen bepalen (drempelwaarde van 10 *Culicoides* per val). Er wordt aanbevolen in die periode bestrijdingsmaatregelen te treffen, met name op grote schaal preventief insecticiden te gebruiken om de eerste golf van hervatte vectoractiviteit tot staan te brengen en contact tussen de vectoren en dieren die nog in de laatste fase van de viremie kunnen zitten, te vermijden (zie advies 05-2007; http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/2007-03-09_ADVIES052007_nl.pdf).

* Bij runderen kent de viremie een piek in de tweede week na besmetting. De duur van de viremie is in de studies veranderlijk. In 95 % van de gevallen, zou die schijnbaar tussen 15 dagen en 2 maand begrepen zijn (Melville *et al.*, 1996). Andere auteurs becijferden deze termijn op 50 tot 102 dagen al naargelang van de serotypes (Luedke *et al.*, 1977).

Het Comité raadt ook aan de epidemiologische bewaking voor BT bij herkauwers in de winter voort te zetten (passieve opsporing van klinische gevallen en actieve opsporing van viremische dieren volgens een bemonsteringsplan) om eventuele laattijdige gevallen te kunnen vaststellen, en eventueel maatregelen (behandeling met insecticiden, bijv.) te nemen bij deze dieren om de kans op virusoverdracht in het voorjaar te verminderen.

3.2. Is vaccinatie een doeltreffend middel om BT te bestrijden ?

Het Wetenschappelijk Comité meent dat vaccinatie, wanneer doeltreffende geïnactiveerde vaccins tegen serotype 8 beschikbaar zullen zijn en BT dan enzoötisch voorkomt, een efficiënte en interessante mogelijkheid voor bestrijding van deze ziekte kan zijn en dat om de in punt 2.3.1. aangehaalde redenen. Het is te verwachten dat vaccinatie tot een geleidelijke verlaging van de virusoverdracht zal leiden en de economische verliezen als gevolg van morbiditeit en mortaliteit zal doen dalen.

Vaccinatie kan echter alleen in overweging worden genomen als daarnaast wordt voorzien in een mogelijkheid om het transport van en de handel in dieren te controleren omdat ze gedurende een vrij lange tijd zal toegepast moeten worden.

3.2.1. Aanbevelingen met betrekking tot de in aanmerking te nemen doelstellingen

Het antwoord op deze vraag wordt samen met het antwoord op de vraag aangaande de aanbevelingen voor de te vaccineren diersoorten (zie punt 3.2.3.) gegeven.

3.2.2. Aanbevelingen met betrekking tot de criteria op basis waarvan tot een vaccinatiecampagne kan worden beslist

Vaccinatie wordt aanbevolen vóór het tijdstip waarop de Culicoides weer actief worden, d.w.z. op het einde van de winter, als de infectie enzoötisch is en als er volgens de resultaten van de serologische screening voorafgaand aan de eventuele vaccinatiecampagne, veel niet-geïmmuniseerde dieren zijn. Vaccinatie moet niet worden overwogen in gebieden waar geen aanwezigheid van competente Culicoides bevestigd wordt (zie punt 2.3.3.).

3.2.3. Aanbevelingen met betrekking tot de soorten en types (leeftijd) van dieren die gevaccineerd moeten worden

Deze aanbevelingen hangen af van de in aanmerking genomen doelstellingen.

- Als het doel erin bestaat de ziekte te bestrijden/onder controle te krijgen (klinische bescherming van vatbare soorten) moeten alleen de soorten die klinische tekenen vertonen (runderen en schapen) gevaccineerd worden.
- Als het doel erin bestaat de ziekte uit te roeien, moeten alle receptieve soorten worden gevaccineerd : runderen, schapen, geiten, halfwilde en wilde hertachtigen, herkauwers in dierenparken en dierentuinen. Geiten worden hier vermeld omdat het, ofschoon bij deze soort in de 5 door serotype 8 getroffen landen geen enkel geval werd vastgesteld, niet uitgesloten is dat deze geiten resistent zijn (subklinische infectie), als reservoir optreden en de cyclus van virusoverdracht in stand houden.

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om, wanneer tot vaccinatie wordt besloten, een algemene vaccinatie uit te voeren. Volgens de wet van Charles Nicolle moeten immers, in het algemeen, 75% van de dieren immuun zijn om de verdere evolutie van een ziekte in epizoötische vorm onmogelijk te maken.

Het Comité raadt ook aan om in alle besmette gebieden in Noord Europa te vaccineren.

Vaccinatie moet samengaan met controle van dierenbewegingen om de eventuele insleep te vermijden van nieuwe virussen vanuit besmette gebieden.

Het Wetenschappelijk Comité maakt evenwel een voorbehoud met betrekking tot de mogelijkheid van uitroeiing als blijkt dat de wilde fauna een reservoir van BT is.

- Wat de leeftijd van de te vaccineren dieren betreft, zou bijzondere aandacht moeten worden besteed aan de jonge dieren aangezien oudere dieren waarschijnlijk reeds het voorafgaand jaar met het virus in aanraking zijn gekomen en derhalve als gevolg van die voorgaande blootstelling, natuurlijk geïmmuniseerd zijn (zie resultaten van de serologische screening, punt 2.2.6.).

Er wordt aan herinnerd dat het vaccineren van drachtige dieren met verzwakte levende vaccins niet wordt aanbevolen vanwege het gevaar voor teratogeniciteit en abortus.

3.2.4. Aanbevelingen met betrekking tot het te gebruiken type vaccin

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan een vaccin te gebruiken dat :

- officieel beschikbaar is ;
- een gegarandeerde bescherming biedt tegen de viremie en bijgevolg tegen het optreden van klinische symptomen, als een economisch doel wordt nagestreefd (klinische bescherming van vatbare soorten) ;
- ten minste gericht is tegen het aanwezige serotype ;
- gegarandeerd doeltreffend is en ten minste gedurende een jaar immuniteit verleent ;
- thans wordt het gebruik van klassieke geïnactiveerde vaccins aangeraden. Men moet echter weten dat de DIVA-strategie thans niet kan worden toegepast met een klassiek geïnactiveerd vaccin, wat gevolgen kan hebben voor bijv. de controle op het transport van dieren (het is niet mogelijk een onderscheid te maken tussen geïnfecteerde en gevaccineerde dieren) (zie punt 2.3.4.);

Vanwege de mogelijkheid dat via het transport nieuwe serotypes worden binnengebracht, is het aanbevolen te vaccineren met een vaccin dat bescherming biedt tegen alle serotypes van het BTV. Gelet op het bestaan van kruisbescherming zou een vaccin dat gericht is tegen 10 tot 12 serotypes volstaan om de dieren tegen alle serotypes te beschermen. Er bestaat thans echter geen multivalent vaccin.

3.3. Zijn, behalve behandelingen met insecticiden en vaccinatie, nog andere preventiemaatregelen aangewezen om verspreiding van de ziekte te voorkomen, in de veronderstelling dat deze in de lente terug opduikt ?

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat idealiter, alle dieren die in fase van infectieuze viremie (overdraagbaar virus) zijn op stal zouden moeten gezet worden om het contact met vectoren te vermijden en virusoverdracht te beperken (Erasmus, 1975). Echter, voor de redenen die in punt 2.4. vermeld worden is de aanbeveling van deze maatregel niet geschikt.

Het Wetenschappelijk Comité raadt echter aan om het transport van dieren slechts onder strikte voorwaarden toe te laten, zoals reeds bepaald is in het ministerieel besluit van 20 november 2001, om een epidemiologische bewaking uit te voeren op vatbare diersoorten alsook om een monitoring op de vectoren te verwezenlijken.

Om een adequate bestrijding van de vector te kunnen plannen (beperking van de vectorenpopulaties) zijn studies van de biologie en de habitat van de larven van vectoren van

essentieel belang. Een uitschakeling van alle mogelijke habitats van Culicoides is niet realistisch en zou een aanzienlijke weerslag hebben op de biodiversiteit van het milieu. Een betere kennis van die verblijfplaatsen zal echter mogelijkheden bieden om een biologische of chemische bestrijding ter hoogte van de habitats uit te werken, daarbij rekening houdend met het milieu-effect van de voorgestelde maatregelen.

3.4. Wat is – met het oog op de positieve resultaten van serologie voor BT bij herten, die afgelopen herfst in ons landen werden geschoten – een wenselijk niveau van bewaking voor BT bij in het wild levende dieren ?

De resultaten van de epidemiologische bewaking van de in het wild levende fauna zijn preliminair. Thans zijn ten hoogste 4 serologische monsters positief of twijfelachtig positief (ELISA-test ID. VET). Dat geeft in totaal ten hoogste 4 gevallen op 684 in 2006 bemonsterde dieren en dus een zeer lage seroprevalentie van 0,58 % (95 % betrouwbaarheidsinterval begrepen tussen 0,16 en 1,49 %). Er is dus thans geen aanwijzing voor een massale infectie van in het wild levende hertachtigen in België. Alhoewel zij in de toekomst eventueel een infectiereservoir kunnen worden, spelen zij in de huidige situatie geen belangrijke rol in de epidemiologie. Deze stelling kan in de toekomst worden aangepast al naargelang van de epidemiologische situatie bij de in het wild levende fauna, temeer daar in Duitsland 13 gevallen werden vastgesteld bij in het wild levende hertachtigen.

Als het de bedoeling is hertachtigen te gebruiken als indicatoren voor de aanwezigheid van de ziekte moet de epidemiologische bewaking op BT bij die hertachtigen worden voortgezet volgens een gevalideerd bemonsteringsplan. De beschikbaarheid van monsters is een beperkende factor voor de epidemiologische bewaking. Die kan in 2007 echter worden vergroot door:

- Vlaanderen erbij te betrekken en
- door systematisch de milt weg te nemen bij wilde hertachtigen die dood worden gevonden en voor autopsie naar de Universiteit van Luik worden gebracht.

4. Conclusie

In conclusie meent het Wetenschappelijk Comité dat de mogelijkheid bestaat dat het virus in de winter persisteert en in het voorjaar van 2007 terugkeert, volgens het « worst case scenario ». Veel zal afhangen van de duur van de viremie bij de receptieve soorten en van de weersomstandigheden. Gelet op de in 2006 voor Culicoides vastgestelde gunstige voorwaarden, is de populatie van larven die in 2007 klaar zijn om uit te komen waarschijnlijk groot. Als op het tijdstip van het ontlukken de temperatuur zodanig is dat het virus zich in de vector kan vermenigvuldigen, valt te verwachten dat de ziekte zal optreden bij dieren die bij de eerste epidemie niet geïmmuniseerd waren.

Het Comité raadt daarom aan de actieve en de passieve epidemiologische bewaking op BT bij herkauwers voort te zetten, net als de monitoring op de vectoractiviteit. Het Comité raadt ook aan om contact tussen herkauwers en Culicoides te vermijden wanneer deze laatste hun activiteit hervatten (gebruik van insecticiden, bijv.).

Volgens het Wetenschappelijk Comité is vaccinatie van runderen en schapen met een geïnactiveerd vaccin aan te raden, zodra dit beschikbaar is, om de economische weerslag van de ziekte te verminderen (bestrijding van klinische tekenen). Die vaccinatie moet worden overwogen binnen een enzoötische context. Een correcte uitvoering ervan zal leiden tot een geleidelijke afname van de overdracht van het virus, voor zover de in het wild levende fauna geen virusreservoir vormt. De vaccinatie moet algemeen worden toegepast en zich uitstrekken over alle besmette gebieden in Noord Europa. Het Comité raadt tevens aan dat een efficiënt vaccin tegen meerdere serotypes van BT zou ontwikkeld worden.

Het Wetenschappelijk Comité raadt ook aan een monitoring op geiten uit te voeren om de rol die deze soort in epidemiologisch opzicht speelt in de persistentie van de ziekte beter te kunnen inschatten.

Het op stal zetten van de dieren die in fase van infectieuze viremie zijn gaat gepaard met meerdere bezwaren. Het wordt ook aangeraden om dierbewegingen slechts onder strikte voorwaarden (zie ministerieel besluit van 20 november 2001) toe te laten.

Het is aan te raden de epidemiologische bewaking op BT bij in het wild levende herten, die als indicatoren voor de aanwezigheid van de ziekte zou kunnen gelden, voort te zetten en uit te breiden naar Vlaanderen.

Namens het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert
Brussel, 2 april 2007

Literatuuropgave

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%20February%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 *Heleidomermis 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**.