

Prévention de l'excrétion de *Coxiella burnetii* à l'aide d'un vaccin dit phase I (Coxevac®) en troupeaux bovins laitiers infectés

GUATTEO R. (1), JOLY A. (2), RODOLAKIS A. (3), COCHONNEAU D. (3), SARRADIN P. (4), SEEGER S H. (1), REMMY D. (4), BEAUDEAU F. (1)

(1) UMR ENVN-INRA 1300 BIOagression EPidémiologie et Analyse de Risque en santé animale - 44307 Nantes Cedex 3

(2) Union bretonne des groupements de défense sanitaire - BP 110 - 6 avenue Edgar Degas - 56000 Vannes - France

(3) INRA UR1282 Infectiologie animale et santé publique - 37380 Nouzilly

(4) INRA UE1277 PFIE - Nouzilly

(5) CEVA Santé animale - ZI de la Ballastière - 33501 Libourne Cedex

RESUME - Cette étude visait à évaluer l'efficacité d'un vaccin constitué de bactéries en phase I pour réduire le risque d'excrétion de *Coxiella* chez des animaux initialement non infectés en comparaison avec un placebo. Dans ce but, trois cent trente-six vaches laitières issues de six troupeaux infectés par *C. burnetii* ont été soumises à un suivi longitudinal sur une période d'un an. L'attribution des traitements a été effectuée de façon randomisée en tenant compte du statut infectieux et du stade de gestation (supposé gestant / supposé non gestant). Après traitement (J0), les animaux ont été soumis à des prélèvements systématiques (lait, mucus vaginal, fèces) à J90, J180, J270 et J360 afin de détecter une éventuelle excrétion de *Coxiella* (par PCR en temps réel). Les mêmes prélèvements étaient effectués dans les quinze jours suivant le vêlage. L'effet préventif du vaccin a été quantifié par analyse de survie (modèle de Cox) dans la sous-population des vaches initialement non infectées, en comparant l'incidence au cours du temps des vaches nouvellement détectées excrétrices entre les groupes vacciné et placebo. Le risque pour une vache vaccinée non gestante de devenir excrétrice est cinq fois moins élevé ($P < 0,05$) que pour une vache non vaccinée. Toutefois, un animal sensible vacciné gestant avait une probabilité de devenir excréteur équivalente à un animal sensible ayant reçu le placebo. Si l'idéal est ainsi de réaliser la vaccination en milieu non infecté ou chez des animaux connus pour être non infectés pour en attendre une efficacité maximale, une alternative pragmatique consiste, en milieu infecté, à vacciner au moins le pré-troupeau en considérant, comme constaté dans cette étude, que les génisses sont le plus souvent naïves vis-à-vis de l'infection par *C. burnetii*. L'utilisation du *skin-test* sur les autres animaux du troupeau pourrait permettre à moindre coût de déterminer les animaux à vacciner au sein du troupeau des vaches.

Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using an inactivated phase I *Coxiella* vaccine (Coxevac®)

GUATTEO R. (1), JOLY A. (2), RODOLAKIS A. (3), COCHONNEAU D. (3), SARRADIN P. (4), SEEGER S H. (1), REMMY D. (5), BEAUDEAU F. (1)

(1) UMR ENVN-INRA 1300 BIOagression EPidémiologie et Analyse de Risque en santé animale - 44307 Nantes Cedex 3

SUMMARY - The main objective of this study was to assess the efficacy of a monovalent inactivated vaccine containing phase I *Coxiella burnetii* to prevent *Coxiella* shedding in susceptible dairy cows within infected herds in comparison to a placebo. A total of 336 dairy cows and heifers, from 6 spontaneously infected herds, were followed over a one-year period. The allocation of a treatment was performed randomly within pregnant and non pregnant cows. After treatment (D0), the animals were subjected to systematic sampling (milk, vaginal mucus and faeces) on D90, D180, D270 and D360 to detect putative shedding (using real time PCR). In addition, the same samples were taken within 15 days after calving. The effect of the treatment on the probability for an initially susceptible animal of becoming a shedder was assessed using survival analysis (Cox regression model). Almost all heifers were detected as susceptible before treatment. When vaccinated while not pregnant, an animal had a 5 times lower probability of becoming a shedder than an animal receiving a placebo. An animal that was vaccinated while pregnant had a similar probability of becoming a shedder as an animal receiving the placebo. These results highlight the value of implementing vaccination, if possible, in non infected herds. In infected herds, the vaccination should be implemented in quite all presumably susceptible animals, i.e. at least the heifers. The vaccination of the dairy cows should be performed when the within-herd seroprevalence is low, i.e. in herds where the infection has not yet widely spread. The use of the *skin-test* method could allow determining at low cost the subpopulation of cows to be vaccinated.

INTRODUCTION

La maîtrise de l'excrétion de *Coxiella burnetii* par les bovins recouvre plusieurs enjeux : enjeux de santé publique tout d'abord, puisque chez l'homme, cette affection, asymptomatique dans plus de 60 % des cas, peut néanmoins se traduire par des signes cliniques graves : pneumopathies et hépatites, troubles cardio-vasculaires et génitaux (Maurin et Raoult, 1999). Enjeux en santé animale également puisque, chez les ruminants domestiques (considérés comme le principal réservoir pour l'infection humaine), cette maladie, fréquente et de répartition mondiale, est principalement associée à la survenue de troubles de la reproduction, conduisant à une dégradation de la productivité des animaux infectés (Arricau-Bouvery et

Rodolakis, 2005). Enjeux socio-économiques enfin, puisque cette affection est potentiellement à l'origine d'une détérioration de l'image de la filière lait. Dans ce contexte, il est donc nécessaire de disposer de mesures de maîtrise efficaces en conditions d'élevage. A l'heure actuelle, la maîtrise médicale repose d'une part sur l'utilisation d'antibiotiques, et d'autre part sur la mise en œuvre d'une vaccination. Les essais relatifs à la mise en œuvre d'une vaccination chez les bovins sont anciens, alors que les techniques PCR n'étaient pas encore disponibles pour mesurer l'excrétion ; ils ont concerné pour la plupart des animaux vaccinés puis replacés en milieu naturellement infecté. Deux types de vaccins sont utilisés selon qu'ils sont constitués d'antigènes corpusculaires de *C. burnetii* en phase I

ou H. Woernle *et al.* (1985) rapportent que l'utilisation d'un vaccin composé d'antigènes de *C. burnetii* en phase II couplée ou non à une antibiothérapie serait associée à une diminution mais non à un arrêt de l'excrétion bactérienne. L'utilisation d'un vaccin (composé d'antigènes corpusculaires de *C. burnetii* en phase I à 25 µg / ml (administré en une seule injection) a entraîné quant à lui une diminution (Behymer *et al.*, 1975 ; Behymer *et al.*, 1976 ; Biberstein *et al.*, 1977) voire un arrêt de l'excrétion bactérienne (Sadecky *et al.*, 1975). Cependant, dans ces études, le statut initial des animaux vis-à-vis de l'excrétion bactérienne avant vaccination n'était pas connu : il n'était donc pas possible de distinguer l'effet préventif du vaccin de sa capacité à réduire l'intensité et / ou la durée de l'excrétion chez des individus infectés avant vaccination. De plus, le suivi de l'excrétion n'était pratiqué que dans le lait ou les produits de la parturition à l'aide de techniques peu sensibles. Une étude récente menée chez la chèvre (Arricau-Bouvery *et al.*, 2005) rapporte que l'utilisation d'un vaccin composé d'antigènes corpusculaires de *C. burnetii* en phase I à 100 µg / ml administré en deux injections espacées de trois semaines à des chèvres indemnes de fièvre Q, puis soumises à une épreuve virulente, est associée à une très forte diminution de l'incidence des avortements, de l'excrétion vaginale et à l'absence d'excrétion lactée. Cependant, en conditions d'élevage, la vaccination se pratique principalement en milieu déjà infecté. Enfin, aucune étude n'avait à ce jour été menée avec ce vaccin phase I chez les bovins en milieu infecté.

Au final, l'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité d'un vaccin phase I en comparaison à un placebo pour prévenir l'excrétion de *C. burnetii* chez des animaux initialement sensibles à l'infection (c'est-à-dire non infectés). Secondairement et à titre exploratoire, cette étude s'intéressait également à la capacité de ce même vaccin à éventuellement réduire l'excrétion chez des animaux déjà infectés. Dans une dernière partie, des modalités pratiques de mise en place de cette vaccination (intégrant l'utilisation de la méthode du *skin-test*) en troupeaux bovins laitiers infectés seront présentées.

1. MATERIELS ET METHODES

Cette étude a été conçue selon la directive du parlement et du conseil européens 2001 / 82 / EC et selon la *guideline* VICH GL9 sur les bonnes pratiques cliniques.

1.1. POPULATION D'ETUDE

Cette étude a été réalisée au sein de troupeaux laitiers dans lesquels la présence de *C. burnetii* a été détectée chez au moins un bovin par technique PCR, dans le cadre du programme de maîtrise des avortements menés par l'union bretonne des groupements de défense sanitaire. Les éleveurs devaient accepter la vaccination de leurs animaux y compris dans le dernier tiers de gestation. Ils ne devaient également avoir mis en place aucune vaccination dirigée contre la fièvre Q dans les cinq dernières années ni avoir eu recours à une antibiothérapie systématique à base de tétracyclines. Au sein de ces troupeaux, l'ensemble des vaches laitières a été inclus dans l'étude, sauf si leur réforme était prévue dans les quarante-cinq jours suivant l'inclusion. Toutes les génisses dont le vêlage était attendu au cours de l'étude (un an post-inclusion) ont été également incluses.

1.2. PROTOCOLE DE L'ETUDE

Deux effets du vaccin ont été testés, en comparaison à un placebo : en premier lieu sa capacité à réduire le risque

d'infection chez des animaux initialement non infectés dits sensibles (effet préventif), et secondairement sa capacité à réduire le risque d'excrétion chez des animaux initialement infectés dits non sensibles (effet curatif). Pour cela, le protocole a consisté en un suivi longitudinal de bovins 1) dont le statut infectieux vis-à-vis de *C. burnetii* avant traitement était connu et qui 2) étaient soumis à des prélèvements périodiques afin de détecter leur éventuelle excrétion. Le calcul du nombre d'individus nécessaire s'est basé sur le premier et principal objectif (effet préventif). Sous l'hypothèse d'une incidence annuelle d'excrétion de *Coxiella* de 2,5 % et de 17,5 % chez respectivement les animaux vaccinés et ayant reçu le placebo (*i.e.*, pour 15 % de cas incidents en moins), il nous fallait théoriquement cent quatre-vingts animaux sensibles avant traitement (quatre-vingt-dix pour le groupe vaccin, quatre-vingt-dix pour le groupe placebo). Ces cent quatre-vingts animaux devaient se répartir dans six troupeaux sous l'hypothèse de troupeaux de taille moyenne de quarante vaches avec 75 % d'animaux sensibles.

Avant le traitement (vaccin ou placebo), le statut des bovins vis-à-vis de l'infection par *C. burnetii* a été déterminé sur la base de résultats d'analyses PCR obtenues sur lait, mucus vaginal et fèces et d'analyses sérologiques (à l'aide du kit ELISA Cox Ruminants LSI souche CbO1) réalisés deux fois à quinze jours d'intervalle afin de diminuer le risque de faux négatifs (Guatteo *et al.*, 2007). Un animal a été considéré sensible à l'infection lorsque l'ensemble des résultats PCR et sérologiques était négatif, et était considéré comme infecté autrement.

Le vaccin phase I utilisé était Coxevac® (CEVA Santé Animale, 100µg / ml d'antigènes purifiés), tandis que le placebo était du PBS (*phosphate buffer saline*). Au sein des groupes sensibles et infectés, l'allocation du traitement (vaccin ou placebo) a été réalisée de façon randomisée en prenant en compte également le stade de gestation. En effet, nous avons supposé que la gestation pouvait interférer avec la vaccination, celle-ci étant préconisée hors gestation par l'ATU. Cette pratique, aisée à appliquer (traitement concomitant de tout le troupeau) dans les espèces à reproduction saisonnée (chèvres et brebis) est plus difficilement envisageable chez les bovins. Les deux injections de traitement (vaccin ou placebo) ont été réalisées à trois semaines d'intervalle par le vétérinaire praticien, en aveugle. Les injections ont toutes été réalisées en sous-cutanée stricte à l'aide de matériel à usage unique. Trois modalités de traitement ont ainsi été comparées : vaccination lorsque gestante, vaccination lorsque non gestante et placebo (une analyse préliminaire ayant rapporté l'absence de différence sur le risque d'excrétion entre les animaux ayant reçu le placebo gestant ou non gestant). Après traitement (J0), les animaux ont été soumis à des prélèvements systématiques de lait, de mucus vaginal et de fèces à J90, J180, J270 et J360 soit quatre fois à trois mois d'intervalle. De plus, sous l'hypothèse que le vêlage était une période à risque plus élevé d'excrétion, tous les bovins ont fait l'objet des mêmes prélèvements dans les quinze jours suivant leur vêlage. Ces prélèvements ont été analysés par PCR temps réel (LSI Taqvet *C. burnetii*).

1.3. STRATEGIE D'ANALYSE

Un animal a été considéré comme excréteur durant le suivi si au moins un prélèvement était retrouvé positif avec le test PCR lors du suivi. Dans un premier temps, le risque de

survenue de l'excrétion parmi les animaux initialement sensibles (effet préventif) a été estimée par une analyse de survie (modèle de Cox), en incluant un effet troupeau aléatoire pour tenir compte de la non-indépendance des animaux au sein d'un même troupeau. Dans le même sous-échantillon, si l'excrétion était détectée, la charge bactérienne excrétée a été évaluée. De la même manière, parmi les animaux initialement infectés, la survenue de l'excrétion et la charge éventuelle bactérienne excrétée a été décrite après traitement (effet curatif).

2. RESULTATS

2.1. DESCRIPTION DE L'ÉCHANTILLON

Au final, trois cent trente-six vaches et génisses laitières (deux cent quarante-neuf vaches et quatre-vingt-sept génisses au moment de l'inclusion) issues de six troupeaux ont été incluses dans l'étude. La distribution des animaux selon leur statut infectieux et leur état gravide ou non est décrite dans le tableau 1. Parmi les quatre-vingt-sept génisses, quatre-vingt-trois étaient considérées comme sensibles à l'infection. Au final, cent soixante-quinze animaux ont été considérés comme initialement sensibles à l'infection. Parmi ces cent soixante-quinze animaux, quatre-vingt-sept ont été vaccinés (vingt-neuf non gestants et cinquante-huit gestants) et quatre-vingt-huit ont reçu le placebo (trente et un non gestants et cinquante-sept gestants). Parmi les cent soixante et un animaux non sensibles, quatre-vingt-deux ont été vaccinés (vingt-huit non gestants et cinquante-quatre gestants) et soixante-dix-neuf ont reçu le placebo (vingt-cinq non gestants et cinquante-quatre gestants).

Tableau 2 : devenir des animaux initialement sensibles selon le traitement qu'ils ont reçu (n = 172)

Traitement	Troupeau 1		Troupeau 2		Troupeau 3		Troupeau 4		Troupeau 5		Troupeau 6	
	E	NE	E	NE	E	NE	E	NE	E	NE	E	NE
Vacciné lorsque non gestant	0	4	0	3	0	7	0	9	1	2	1	2
Vacciné lorsque gestant	3	7	3	8	1	5	3	13	4	5	2	3
Placebo	5	9	5	10	0	12	6	19	6	5	2	7

E: excréteur; NE : non excréteur

Tableau 3 : effet des covariables sur le risque pour un animal initialement sensible de devenir excréteur.

Covariables	Risque de survenue de l'excrétion		
	Ratio de risque	IC à 95 %	p
Traitement			
Vacciné lorsque non gestant	0,21	0,05-0,90	0,036
Vacciné lorsque gestant	0,90	0,48-1,71	0,750
Placebo	1		
Parité			
Primipare	1,18	0,64-2,20	0,590
Multipare			

Quand un animal a été vacciné lorsque non gestant (selon les recommandations de l'ATU), cet animal a présenté (en comparaison au placebo) un risque cinq fois moindre de devenir excréteur. Le numéro de lactation n'influait pas ce risque. L'effet troupeau était non significatif ($p > 0,05$). Aucun effet élevage (testé par ailleurs) n'a de plus été mis en évidence. Si le risque de survenue de l'excrétion était fortement diminué, en revanche, lorsque l'excrétion était tout de même détectée, il n'y avait aucun effet de réduction de la charge bactérienne excrétée associée au vaccin ($P > 0,05$).

Tableau 1 : distribution des animaux inclus selon leur statut infectieux (S : sensibles, NS : non sensibles) et leur état de gestation au moment du traitement

Troupeau	Gestantes		Non gestantes		Total
	S	NS	S	NS	
1	8	15	20	18	61
2	6	6	24	16	52
3	13	8	12	27	60
4	20	10	32	19	81
5	7	5	16	15	43
6	6	9	11	13	39
Total	60	54	115	107	336

2.2. SUIVI DE L'EXCRETION

2.2.1. Excrétion chez les animaux initialement sensibles

Un total de cent soixante-douze animaux sensibles a été retenu pour l'analyse, trois animaux ayant été réformés avant d'avoir reçu leur deuxième injection de primo-vaccination. Le tableau 2 décrit le nombre d'animaux excréteurs et non excréteurs par troupeau selon le traitement qu'ils ont reçu. Ce sont quarante-deux animaux qui ont été détectés excréteurs après traitement. Parmi eux, seuls deux avaient été vaccinés lorsque non gestants, seize vaccinés lorsque gestants et vingt-quatre avaient reçu le placebo. Des animaux nouvellement excréteurs ont été identifiés dans tous les élevages. Les animaux vaccinés non gestants ont présenté un risque significativement plus faible de devenir excréteur par rapport aux animaux vaccinés gestants ou ayant reçu le placebo (tableau 3).

Enfin, un animal vacciné gestant avait un risque de devenir excréteur équivalent à celui d'un animal ayant reçu le placebo.

2.2.2. Excrétion chez les animaux initialement infectés

Parmi les cent cinquante et un animaux initialement infectés retenus pour l'analyse, quarante-neuf ont été détectés excréteurs après traitement. Aucun effet de la modalité de traitement sur la charge bactérienne excrétée n'a été mis en évidence.

3. DISCUSSION

A notre connaissance, aucune étude équivalente n'a été menée chez les bovins en milieu infecté. L'originalité de cette étude repose sur 1) sa réalisation en milieu infecté, 2) la détermination du statut initial des animaux en tenant compte du risque de faux négatifs, 3) le suivi longitudinal sur plusieurs matrices (Guatteo *et al.*, 2007) et 4) l'utilisation de l'analyse de survie pour quantifier l'effet préventif.

Au final, comme attendu, seul un effet préventif du vaccin a été observé et non un effet curatif. Ces résultats montrent une forte prévention de l'excrétion chez les femelles sensibles non gestantes et confirment les résultats déjà rapportés sur le modèle caprin (Arricau-Bouvery *et al.*, 2005). Le très fort effet préventif observé dans cette étude en milieu infecté souligne l'intérêt d'un tel vaccin en phase I pour limiter la diffusion de la bactérie au sein d'un troupeau

et par voie de conséquence limiter le risque zoonotique associé. L'effet préventif a pu de plus être sous-estimé ici puisque seule une vaccination partielle du troupeau a été implémentée. En revanche, un animal vacciné gestant a un risque de devenir excréteur équivalent à celui d'un animal ayant reçu le placebo. Ainsi la gestation semble compromettre l'effet préventif de la vaccination. Deux explications complémentaires peuvent être avancées : 1) le caractère immunosuppresseur associé à la gestation (nécessaire à l'installation et à la tolérance du fœtus) qui diminuerait la réponse post-vaccinale et / ou pourrait interférer avec la détermination du statut initial (possibilité accrue de faux-négatifs), et 2) la sensibilité plus grande à l'infection lors de la gestation (Beagley et Gockel, 2003 ; Guseva *et al.*, 2003).

Idéalement, ce vaccin devrait être utilisé sur des animaux non infectés ou en milieu non infecté. Cette dernière situation étant toutefois rarement rencontrée et compte-tenu de la fréquence élevée du statut sensible des génisses dans cette étude, une alternative pragmatique consisterait en la vaccination du pré-troupeau avant leur première mise à la reproduction. Il semblerait raisonnable dès lors de pratiquer cette vaccination sur le pré-troupeau au moins jusqu'à ce que le troupeau des vaches laitières soit constitué uniquement d'animaux correctement vaccinés depuis leur jeune âge. Concernant les vaches, de façon à obtenir une efficacité maximale du vaccin, il conviendrait de pratiquer la vaccination lorsque la prévalence intra-troupeau des animaux infectés est faible, avant que l'étendue de l'infection ne soit trop grande dans le troupeau laitier ; il semble ainsi pertinent dans une situation de faible prévalence de vacciner l'ensemble des vaches laitières.

Skin test : Comment détecter les animaux cibles à vacciner en milieu infecté ?

Plusieurs protocoles de vaccination sont envisageables dans les troupeaux infectés : *Protocole A* : vacciner tous les animaux quel que soit leur statut. En effet, l'identification des animaux indemnes de fièvre Q est difficile et onéreuse. Comme il n'existe pas de voie d'excrétion privilégiée, un animal est considéré indemne s'il est séronégatif et n'excrète pas dans le mucus vaginal, le lait et les fèces. Or cette excrétion peut être intermittente et certains animaux excréteurs peuvent être séronégatifs. Il faudrait donc répéter les examens pour être certain que l'animal est indemne ; *Protocole B* : ne vacciner que les jeunes et les animaux introduits dans le troupeau.

Le protocole A a l'avantage de protéger tous les animaux qui doivent l'être et donc de permettre un contrôle plus rapide de l'infection. Il présente l'inconvénient de vacciner inutilement des animaux qui sont déjà infectés. Le protocole B laisse des animaux sans protection (les vaches laitières encore indemnes), qui sont susceptibles de contribuer à la persistance de l'infection dans le troupeau.

Il est pertinent de choisir l'une ou l'autre de ces options en fonction du niveau d'infection du troupeau. Ce niveau d'infection peut être approché par la prévalence des d'animaux testés séropositifs, estimée par un sondage sur quelques sérums, ou le titre en anticorps du lait de tank. Cependant, le test ELISA présente un défaut de sensibilité, et ne révèle que la réponse immunitaire humorale, alors que *C. burnetii* est une bactérie intracellulaire.

Le *skin test*, révélateur de la réponse immunitaire cellulaire, offre une alternative intéressante. Il est utilisé en médecine humaine, pour déterminer le statut immunitaire des patients avant la vaccination et éviter les réactions secondaires avec le vaccin Qvax® (CSL Limited Victoria Australie). Il est facile à réaliser et économique puisque chez les ruminants il a été effectué par injection intradermique de 0,1 ml de la dilution 1/3 du vaccin Coxevac® (CEVA-Santé animale Libourne France) soit 1/120 de la dose vaccinale pour la vache.

La réaction qui se traduit par un épaississement du pli de peau au point d'injection, est maximale trois à quatre jours plus tard. La lecture du *skin test* peut être effectuée à partir de 72 h et reste possible plusieurs jours (jusqu'à une semaine).

Le *skin test* a été testé conjointement à un test ELISA et une PCR sur le lait et le mucus vaginal d'un troupeau bovin de soixante-quinze vaches et trente génisses de plus d'un an. Le lait de tank de ce troupeau était positif au test PCR pour la fièvre Q.

Dans ce troupeau, seules 3 % des vaches étaient positives au test ELISA, ce qui aurait pu conduire à la décision de vacciner tout le troupeau. Le *skin test* a permis de détecter trente vaches et six génisses positives, *i.e.*, déjà immunes, et d'éviter de vacciner inutilement trente six animaux. Une seule vache négative en *skin test* était positive en ELISA.

Les années suivantes, le *skin test* permettrait d'identifier les vaches non réactives qui auraient besoin d'un rappel. Les animaux à vacciner pourraient ainsi être identifiés à moindre coût. L'intérêt diagnostique du test reste à évaluer.

CONCLUSION

Ce vaccin phase I semble être un outil d'intérêt pour maîtriser l'excrétion de *C. burnetii* dans les troupeaux bovins laitiers et le risque zoonotique associé. Cependant, compte-tenu de l'absence d'effet observé ici sur la charge bactérienne excrétée notamment par les animaux déjà infectés, il est important de combiner les mesures de maîtrise hygiéniques et médicales (Guatteo *et al.*, 2006).

Nous tenons à remercier K. Cochennec, N. Prigent, R. Richard, P. Clément, C. Perrineau et P. Gillouet pour leur aide précieuse.

- Arricau-Bouvery N., Rodolakis A., 2005. *Vet Res*, 23, 327-50
Arricau-Bouvery N., Souriau A., Bodier C., Dufour P., Rousset E., Rodolakis A., 2005. *Vaccine*, 23, 4392-402
Beagley K.W., Gockel C.M., 2003. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 38, 13-22
Behymer D.E., Biberstein E.L., Riemann H., Franti C.E., Sawyer M., 1975. *Am J Vet Res*, 36, 781-84
Behymer D.E., Biberstein E.L., Riemann H., Franti C.E., Sawyer M., Ruppner R. 1976. *Am. J. Vet. Res.*, 37, 631-4
Biberstein E.L., Riemann H., Franti C.E., Behymer D.E., Ruppner R., Bushnell R. *et al.* *Am J Vet Res*, 38, 189-93
Guatteo R., Beaudeau F., Berri M., Rodolakis A., Joly A., Seegers H., 2006. *Vet Res*, 37, 827-33
Guatteo R., Beaudeau F., Joly A., Seegers H., 2007. *Vet Res*, 38, 49-60
Guseva N.V., Knight S.T., Whittimore J.D., Wyrick P.B., 2003. *Infect Immun*, 71, 4700-10
Maurin M., Raoult D., 1999. *Clin Microbiol Rev*, 12, 518-53
Sadecky E., Brezina R., Kazar J., Schramek S., Urvolgyi J., 1975. *Acta Virol*, 19, 486-8
Woernle H., Limouzin C., Muler K., Durand M.P., 1985. *Bull Acad Vet*, 58, 91-100