:ZWO
Instituut voor Zeewetenschappelijk Onderzoek (vzw)
Institute for Marine Scientific Research
VICTORIALAAN 3 - B - 8400 OOSTENDE BELGIUM
Tel. +32 - (0) 59 - 32 10 45 – Fax: +32 - (0) 59 - 32 11 3



CODA

CERVA

VAR

1995 / 1997

ACTIVITEITSVERSLAG / RAPPORT D'ACTIVITÉ

MINISTERIE VAN
MIDDENSTAND
EN LANDBOUW



MINISTÈRE DES
CLASSES MOYENNES
ET DE L'AGRICULTURE

ERRATUM

Programmes de recherche	Onderzoekingsprogramma's
Page 116, Projet I.20	Pagina 116, Project I.20
Lire:	*Moet zijn:*

Approche moléculaire de la vaccination contre le virus de la diarrhée virale bovine BVD/MD

Chercheurs responsables:

ULg:	***Pastoret, P.-P.*, Hamers C.***
CERVA:	Kerkhofs, P.*; Letellier C., Vanopdenbosch, E.
Financement:	Demandé auprès de la DG6
Durée probable:	1998-2004
Espèce animale:	Bovin.

Instituut voor Zeewetenschappelijk Onderzoek (VZW)
Institute for Marine Scientific Research
VICTORIALAAN 3 - B-8400 OOSTENDE BELGIUM
Tel. +32-(0)59-321045 – Fax: +32-(0)59-321135

Royaume de Belgique
Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture

Administration de la Recherche et du Développement

CERVA - Uccle
CERVA - Tervuren

Koninkrijk België
Ministerie van Middenstand en Landbouw

Bestuur voor Onderzoek en Ontwikkeling

CODA - Ukkel
CODA- Tervuren

ACTIVITEITSVERSLAG

RAPPORT D'ACTIVITE

van / du
01.07.1995 - 31.12.1997
tot / au

CERVA -Uccle
Groeselenberg 99
1180 Bruxelles - Belgique
Tél. 02/375 44 55 - Fax 02/375 09 79

CERVA - Tervuren
Leuvensesteenweg 17
3080 Tervuren - Belgique
Tél. 02/769 22 00 - Fax 02/769 23 05

Centre Expérimental de Machelen
Kerklaan 68
1830 Machelen - Belgique
Tél. 02/251 33 26 ou 02/251 00 12

CODA - Ukkel
Groeselenberg 99
1180 Brussel - België
Tel. 02/375 44 55 - Fax 02/375 09 79

CODA - Tervuren
Leuvensesteenweg 17
3080 Tervuren - België
Tel. 02/769 22 00 - Fax 02/769 23 05

Proefcentrum van Machelen
Kerklaan 68
1830 Machelen - België
Tel. 02/251 33 26 of 02/251 00 12

Voorwoord

In 1994 besliste de Raad van Ministers het Instituut voor Scheikundig Onderzoek (ISO) en het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek (NIDO) samen te voegen tot een nieuwe entiteit, het Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA). Deze fusie werd bekrachtigd door het Koninklijk Besluit van 20 juni 1997 en gaat retro-actief in op 1 september 1995.

In afwachting van de formele fusie werd door de directies van het ISO en het NIDO beslist om een eerste activiteitsverslag uit te geven in het jaar dat de fusie werd bekrachtigd en vanaf dan een jaarlijks rapport op te stellen. Het voorliggend verslag is dus een overgangs-rapport dat de periode tussen 01.09.1995 en 31.12.1997 overbrugt voor de agrochemische departementen en de periode 01.07.1995 tot 31.12.1997 voor de diergeneeskundige departementen.

De fusie tussen het ISO te Tervuren en het NIDO te Ukkel tot een nieuw onderzoeks-centrum, het CODA, was een gelukkig initiatief van de Minister van Landbouw en KMO. Door zijn jarenlange ervaring neemt het CODA nu een centrale plaats in het landbouwgebeuren in en staat het bijzonder sterk om door doelgericht en toegepast onderzoek het gepast antwoord op nieuwe uitdagingen te geven zowel aan de consument, de veehouder, de dierenarts, de veterinaire diensten en de beleidsverantwoordelijken.

De multidisciplinaire bundeling van krachten die deze fusie met zich meebrengt moet het ons gemakkelijker maken nieuwe diagnostica en vaccins te ontwikkelen, de consument de nodige kwaliteitsgaranties te bieden, de interacties tussen landbouw en leefmilieu in te schatten, de nevenproducten van de landbouw te valoriseren en de economische belangen van de landbouw te vrijwaren. Daarvoor staat de

Avant-propos

En 1994, le Conseil des Ministres a décidé de fusionner l'Institut de Recherches Chimiques (IRC) et l'Institut National de Recherches Vétérinaires (INRV) en une nouvelle entité dénommée Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agro-chimiques (CERVA). Cette fusion a été ratifiée par l'Arrêté Royal du 20 juin 1997 avec effet rétroactif à partir du 1er septembre 1995.

En attendant que cette fusion soit rendue officielle, les directions de l'IRC et de l'INRV ont décidé de publier un rapport d'activité dans l'année de l'officialisation de la fusion et par la suite, un rapport annuel. Le présent rapport est donc un rapport de transition qui couvre la période du 01.09.1995 au 31.12.1997 pour les départements agro-chimiques et la période du 01.07.1995 au 31.12.1997 pour les départements vétérinaires.

La fusion entre l'IRC à Tervuren et l'INRV à Uccle pour former un nouveau Centre, le CERVA, a été une heureuse initiative du Ministre de l'Agriculture et des PME. De part sa longue expérience, le CERVA occupe maintenant une place centrale dans le monde agricole. Ses recherches fondamentales et appliquées le rendent à même de fournir des réponses appropriées aux consommateurs, aux éleveurs de bétail, aux vétérinaires, aux services vétérinaires et aux responsables politiques.

Cette centralisation des forces multi-disciplinaires facilitera le développement de nouveaux tests diagnostiques et vaccins, l'offre de garantie de la qualité aux consommateurs, la connaissance des inter-actions entre l'agriculture et l'environnement, la valorisation des produits secondaires agricoles et la défense des intérêts économiques de l'agriculture. Les expertises

expertise garant die het ISO en het NIDO de laatste 70 jaar hebben opgebouwd.

Inderdaad, het ISO, opgericht bij het Ministerie van Koloniën in 1928, had de opdracht de valorisatie te onderzoeken van de plantaardige producten uit Belgisch-Kongo. Na zijn overheveling in 1961 naar het Ministerie van Landbouw specialiseerde het zich in de studie van de wisselwerking tussen landbouw en leefmilieu, van de kwaliteit van de agro-voedingsmiddelen en de valorisatie van de nevenproducten van de landbouw.

De geschiedenis van het NIDO van zijn kant hangt nauw samen met de bestrijding van epizoötische ziekten in België, de ontwikkeling van diagnostica en vaccins en de onder steuning van de diergeneeskundige dienst. Reeds in 1925 boekte het succes bij de snelle identificatie en bestrijding van de runderpestepidemie die nagenoeg de ganse Europese rundveestapel decimeerde. Het ontwikkelde en produceerde gedurende meer dan 40 jaar het mond-en-klauwzeer-vaccin dat België vrij hield van besmetting.

Hoe dragen de onderzoekers van het CODA nu bij tot het succes van de Belgische landbouw ? In dat verband moeten we ons afvragen welke elementen van belang zijn om een degelijk inkomen te garanderen voor de landbouwer en hem in staat te stellen de continuïteit van zijn bedrijf te verzekeren. Hierbij spelen volgende elementen een rol :

- ***productiekosten** beheersen om de internationale concurrentie aan te kunnen;*
- *optimale **kwaliteit** van de landbouw-producten ten bate van de consument;*
- *de vrijwaring van bepaalde besmettelijke ziekten om de nodige **sanitaire garanties** voor de export te bekomen;*
- *het bestendigen van een **duurzame landbouw** met respect voor de kwaliteit van het leefmilieu.*

Het CODA speelt op elk van deze 4 pijlers in. Wat betreft de kostenstructuur van de

effectuées par l'IRC et l'INRV, depuis plus de 70 ans, s'en portent garantes.

L'IRC, érigé par l'ex-Ministère des Colonies en 1928, avait en effet, pour mission la recherche des possibilités de valorisation des produits végétaux de l'ex-Congo belge. Après son transfert en 1961 au Ministère de l'Agriculture, l'Institut s'est spécialisé dans l'étude des interactions entre l'agriculture et l'environnement, la valorisation des produits secondaires de l'agriculture et la qualité des produits agro-alimentaires.

L'histoire de l'INRV est étroitement liée à la lutte des maladies épizootiques en Belgique, au développement des tests diagnostiques et des vaccins et au soutien du service vétérinaire. Déjà en 1925, un grand succès avait été enregistré par la mise au point d'une méthode rapide d'identification de la peste bovine qui ravageait le bétail dans presque toute l'Europe. Pendant plus de 40 ans, l'INRV a développé et produit le vaccin contre la fièvre aphteuse, qui a permis l'éradication de cette maladie en Belgique.

Comment les chercheurs du CERVA vont-ils contribuer au succès de l'agriculture belge? A ce propos, nous devons nous demander quels sont les facteurs importants qui garantissent un revenu convenable à l'agriculteur et lui permettent d'assurer la continuité de son entreprise. A ce sujet, les éléments suivants peuvent jouer un rôle:

- *la maîtrise des **coûts** pour faire face à la concurrence internationale;*
- *une **qualité** optimale des productions agricoles pour les consommateurs;*
- *la prévention de certaines maladies infectieuses pour obtenir les **garanties sanitaires** lors d'exportation;*
- *le maintien d'une **agriculture durable** tout en respectant la qualité de l'environnement.*

Le CERVA agit sur chacun de ces 4 piliers. Le coût des productions animales est influ-

veeteeltproducten zijn voornamelijk de voederkost, de groeisnelheid en de uitval van de dieren van doorslaggevend belang. Alle drie worden ze nadelig beïnvloed door ziekteverwekkers die in alle bedrijven aanwezig zijn. De onderzoekers van het CODA ontwikkelen snelle en gevoelige diagnostische technieken die de veehouder en de dierenarts-practicus toelaten snel in te grijpen vooraleer de verliezen te hoog oplopen. Door de ontwikkeling van derdegeneratie-vaccins draagt het CODA bij tot de preventie van besmettelijke dierziekten. De specialisten van het CODA trachten de risicofactoren in kaart te brengen die leiden tot het aanslaan en begunstigen van infectieuze en parasitaire ziekten. Verschillende studies over de wederzijdse beïnvloeding van de landbouw en leefmilieu leiden tenslotte tot een meer oordeelkundig gebruik van meststoffen en gewasbeschermingsmiddelen, wat essentieel is in het kader van een duurzame landbouw.

Met als doel de internationale concurrentiepositie van de Belgische veehouders te consolideren, nieuwe exportmarkten aan te boren en de diagnose van dierziekten te harmoniseren, werd door het Sanitair Fonds een Coördinatiecentrum voor Diergeneeskundige Diagnose opgericht in het CODA. Dit coördinatiecentrum wordt op gelijke basis gefinancierd door de veeteeltsector en het departement en beheerd door de Rechtspersoonlijkheid van het CODA. Het voert sero-epidemiologische bewakingsprogramma's uit voor ziekten waarvan de eradicatie noodzakelijk is om blijvend te kunnen exporteren op de Europese en de internationale markten. Voor het intra- en extra-communautair verkeer van dieren is het nodig dat België vrij is van bepaalde dierziekten en de nodige sanitaire garanties kan bieden. In hetzelfde kader functioneert het CODA als referentielaboratorium "epizoötische ziekten" voor de Europese autoriteiten en de internationale organisaties en tracht bij import door gevoelige technieken en serologisch onderzoek frauduleuze gezondheidscertificaten op te sporen. In geval van uitbraak van een epizoötische ziekte

encé principalement par le prix des aliments, la vitesse de croissance des animaux et le taux de mortalité. Ces trois facteurs sont défavorablement influencés par les vecteurs de maladie qui sont omniprésents. Les chercheurs du CERVA développent des techniques de diagnostic rapides et sensibles qui permettent à l'éleveur et au vétérinaire d'intervenir rapidement avant que les pertes ne soient trop élevées. En développant des vaccins de la troisième génération, le CERVA contribue à la prévention des maladies infectieuses. Les spécialistes du CERVA essayent de connaître le mieux possible les facteurs de risque qui aboutissent à enclencher et à favoriser les maladies infectieuses et parasitaires. Les différentes études ayant trait à l'influence de l'agriculture sur l'environnement aboutissent en fin de compte à un usage plus judicieux des engrais et des pesticides, ce qui est essentiel dans le cadre d'une agriculture durable.

Dans le but de consolider la position concurrentielle internationale des éleveurs belges, de créer des nouveaux marchés d'exportation et d'harmoniser les diagnostics des maladies animales, le Fonds Sanitaire a fondé au sein du CERVA un Centre de Coordination du Diagnostic Vétérinaire. Ce centre, financé à part égale par le secteur de l'élevage et par le Ministère, est géré par la Personnalité juridique du CERVA. Ce centre exécute les contrôles sero-épidémiologiques pour des maladies dont l'éradication est nécessaire pour permettre l'exportation sur les marchés Européens et internationaux. Pour la circulation intra- et extra-communautaire des animaux, il est indispensable que la Belgique soit exempte de certaines maladies et puisse offrir les garanties sanitaires nécessaires. Dans le même cadre, le CERVA fonctionne comme laboratoire de référence pour les "maladies épizootiques" auquel se réfèrent les autorités Européennes et les organisations internationales. Le CERVA essaye aussi de découvrir, au moyen de techniques sensibles et d'examens sérologiques, le trafic de certificats de santé frauduleux. En cas de

karakteriseren de onderzoekers van het CODA de isolaten om de herkomst van de epidemie op te sporen.

Het is dus duidelijk dat het CODA een centrale rol speelt in het dierengezondheidsbeleid, het garanderen van de kwaliteit van landbouw-producten en het behoud van een duurzame landbouw. Daarom werken de onderzoekers samen met talrijke binnen- en buitenlandse universiteiten, onderzoekingscentra en de farmaceutische industrie in het kader van COST-projecten, onderzoeksprogramma's van de Europese Unie en contracten met federale en regionale besturen, waaronder de dienst contractueel onderzoek van DG6.

Op deze manier tracht het CODA zo goed mogelijk te voldoen aan zijn kernopdracht die we als volgt kunnen definieren : door hoogstaand wetenschappelijk onderzoek over endemische en exotische ziekten en over de interactie tussen landbouw en eco-systemen bijdragen tot een duurzame landbouw en een verhoogde economische competitiviteit, ten bate van de gezondheid van de consument, het dierenwelzijn en het leefmilieu.

Deze missie komt goed tot uiting in het logo dat voor het nieuwe centrum werd ontwikkeld (zie kaft van dit verslag). Op de eerste plaats beeldt het de rol uit van het CODA als beschermer van de Belgische landbouw en veeteelt. Deze symboliek komt tot uiting in de twee gestileerde armen die de aarde omvatten. Anderzijds bevat het ook oude en nieuwe symboliek : in het centrum van het logo herkennen we een kolf, zinnebeeld voor de chemisch-analytische en wetenschappelijke activiteiten van het CODA. In het centrum valt de gestileerde slang op van Aesklepios, beschermheer van de geneeskunde, die in het oude Griekenland symbool stond voor de beschermende rol van Moeder Aarde, de bron van alle leven. Vandaar dat in deze slang ook een kiemend zaad kan herkend worden, dat symbool staat voor vruchtbaarheid en respect voor de natuur. Dit logo staat tenslotte ook

maladie épizootique, les chercheurs du CERVA caractérisent les souches isolées en vue de situer l'origine de l'epizootie.

Il est donc évident que le CERVA joue un rôle central dans la politique de la santé animale, la garantie de la qualité des produits agri-coles et le maintien d'une agriculture durable. Dès lors, les chercheurs collaborent avec de nombreuses universités nationales et internationales, des firmes phar-maceutiques, des centres de recherche dans le cadre des projets COST, des programmes de recherche de l'Union Européenne et des contrats avec les instances fédérales et régionales parmi lesquelles, le service des recherches contractuelles de la DG6.

De cette manière, le CERVA remplit au mieux sa mission principale qui peut être définie comme suit: contribuer, par une recherche de haut niveau, sur les maladies endémiques et exotiques et sur les interactions entre l'agriculture et les écosystèmes, à une agriculture durable et une compétitivité économique accrue au profit de la santé des consommateurs, du bien-être des animaux et de l'environnement.

Cette mission se visualise clairement dans le logo qui a été créé tout récemment pour le nouveau Centre (voir couverture de ce rapport). Il représente d'abord le rôle du CERVA en tant que protecteur de l'agriculture belge et de l'élevage. Ce rôle est symbolisé par les deux bras stylisés qui entourent la terre. D'autre part, le logo contient une symbolique à la fois moderne et antique : on reconnaît un ballon de laboratoire, symbole de l'activité scientifique et chimico-analytique du CERVA. Au centre du logo, on aperçoit le serpent stylisé d'Esculape, qui, dans la Grèce antique, représentait le symbole du rôle protecteur de la Mère Terre, source de toute vie. Dans ce serpent, on peut reconnaître aussi une graine en germination qui symbolise la fertilité et le respect de la nature. On peut dire enfin que ce logo exprime une ferme volonté de

symbool voor de uitdrukkelijke wil tot samenwerking tussen de diergeneeskundige en de agrochemische departementen.

collaboration entre les départements vétérinaires et agrochimiques.

dr. Mark Guns
wnd directeur f.f.
CODA-CERVA - Tervuren

dr. Johan Peeters
wnd directeur f.f.
CODA-CERVA - Ukkel-Uccle

BELEIDSORGANEN

ORGANES DE GESTION

Wetenschappelijke Raad
CODA-Ukkel
(van 01.07.1995 tot 20.06.1997)

Voorzitter :

PEETERS J.	wnd. directeur van het CODA-Ukkel.

Ondervoorzitter :

PENSAERT M.	decaan van de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.

Leden :

BURNY A.	hoogleraar aan de "Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de l'état" à Gembloux.
GODDEERIS B.	hoogleraar aan de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische wetenschappen van de Katholieke Universiteit Leuven.
HOORENS J.	hoogleraar aan de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.
MAINIL J.	docent aan de "Faculté de Médecine Vétérinaire" van de "Université de Liége".
VANOPDENBOSCH E.	departementshoofd bij het CODA-Ukkel.
WELLEMANS G.	departementshoofd bij het CODA-Ukkel.

Conseil Scientifique
CERVA-Uccle
(du 01.07.1995 au 20.06.1997)

Président :

PEETERS J.	directeur f.f. du CERVA-Uccle.

Vice-président :

PENSAERT M.	doyen de la "Faculteit Diergeneeskunde" de l' "Universiteit Gent".

Membres :

BURNY A.	professeur à la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de l'état à Gembloux.
GODDEERIS B.	professeur à la "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen" à la "Katholieke Universiteit Leuven".
HOORENS J.	professeur à la "Faculteit Diergeneeskunde" de l' "Universiteit Gent".
MAINIL J.	chargé de cours à la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liége.
VANOPDENBOSCH E.	chef de département au CERVA-Uccle.
WELLEMANS G.	chef de département au CERVA-Uccle.

Wetenschappelijke Raad
CODA-Tervuren
(van 01.07.1995 tot 20.06.1997)

Voorzitter :

GUNS M.	wnd. directeur van het CODA-Tervuren.

Ondervoorzitter :

VANBELLE M.	hoogleraar aan de "Faculté des Sciences Agronomiques" van de "Université Catholique de Louvain-la-Neuve".

Leden :

COPIN A.	hoogleraar aan de "Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de l'Etat, Gembloux".
DECLEIRE M.	departementshoofd aan het CODA-Tervuren.
TOBBACK P.	hoogleraar aan de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, K.U. Leuven.

Conseil Scientifique
CERVA-Tervuren
(du 01.07.1995 au 20.06.1997)

Président :

GUNS M.	directeur f.f. du CERVA-Tervuren.

Vice-président :

VANBELLE M.	professeur à la Faculté des Sciences Agronomiques de l' Université Catholique de Louvain-la-Neuve.

Membres :

COPIN A.	professeur à la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de l'Etat, Gembloux.
DECLEIRE M.	chef de département au CERVA-Tervuren
TOBBACK P.	professeur à la "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, K.U. Leuven".

Wetenschappelijke Raad van het CODA

(vanaf 20.06.1997)

Voorzitter :

X	directeur van het CODA.

Ondervoorzitter :

BURNY A.	hoogleraar aan de "Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de l'état à Gembloux".

Leden :

COPIN A.	hoogleraar aan de "Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de l'Etat à Gembloux".
DECLEIRE M.	departementshoofd aan het CODA-Tervuren.
DUCATELLE R.	hoofddocent aan de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.
GUNS M.	departementshoofd aan het CODA
MAINIL J.	hoofddocent aan de "Faculté Vétérinaire" van de "Université de Liège".
PEETERS J.	departementshoofd aan het CODA
PENSAERT M.	hoogleraar aan de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.
TOBBACK P.	hoogleraar aan de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, K.U. Leuven".
VAN DAMME P.	hoofddocent aan de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen van de Universiteit Gent.
VANOPDENBOSCH E.	departementshoofd aan het CODA.
WELLEMANS G.	departementshoofd aan het CODA.

Conseil Scientifique du CERVA

(à partir du 21.06.1997)

Président :

X	directeur du CERVA.

Vice-président :

BURNY A.	professeur à la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de l'état à Gembloux

Membres :

COPIN A.	professeur à la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de l'Etat, Gembloux.
DECLEIRE M.	chef de département au CERVA-Tervuren.
DUCATELLE R.	chargé de cours à la "Faculteit Diergeneeskunde" de l' "Universiteit Gent".
GUNS M.	chef de département au CERVA
MAINIL J.	chargé de cours à la Faculté Vétérinaire de l'Université de Liège.
PEETERS J.	chef de département au CERVA.
PENSAERT M.	Professeur à la "Faculteit Diergeneeskunde " de l' "Universiteit Gent".
TOBBACK P.	professeur à la "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, K.U. Leuven".
VAN DAMME P.	chargé de cours à la "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen" de l' "Universiteit Gent".
VANOPDENBOSCH E.	chef de département au CERVA.
WELLEMANS G.	chef de département au CERVA

Raad van Beheer van de Rechtspersoonlijkheid CODA-Ukkel

(van 01.07.1995 tot 19.12.1997)

Voorzitter :

PEETERS J.	wnd. directeur van het CODA-Ukkel.

Leden :

DE BRAUWER P.	directeur-generaal van het Bestuur voor Dierengezondheid en Kwaliteit van de Dierlijke Producten.
DEWAELE A.	decaan van de "Faculté de Médecine Vétérinaire" van de "Université de Liège".
HAESEBROUCK F.	hoofddocent aan de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.
PISCAGLIA R.	wnd. directeur-generaal van het Bestuur voor Onderzoek en Ontwikkeling.

Secretaris :

WELLEMANS G.	departementshoofd aan het CODA-Ukkel.

Conseil de Gestion de la Personnalité Juridique CERVA-Uccle

(du 01.07.1995 au 19.12.1997)

Président :

PEETERS J.	directeur f.f. du CERVA-Uccle

Membres :

DE BRAUWER P.	directeur général de l'Administration de la Santé Animale et de la Qualité des produits Animaux.
DEWAELE A.	professeur de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège.
HAESEBROUCK F.	chargé de cours à la "Faculteit diergeneeskunde" de l' "Universiteit Gent".
PISCAGLIA R.	directeur général f.f. de l'Administration de la Recherche et du Développement.

Secretaire :

WELLEMANS G.	chef de département au CERVA-Uccle.

Raad van Beheer van de Rechtspersoonlijkheid CODA-Tervuren

(van 01.07.1995 tot 19.12.1997)

Voorzitter :

GUNS M.	wnd. directeur van het CODA-Tervuren.

Leden :

HOUINS G.	adviseur-generaal bij de Inspectie-generaal grondstoffen en verwerkte producten.
JANSSEN G.	ingenieur, algemene diensten, Belgische Boerenbond.
PISCAGLIA R.	wnd. directeur-generaal bij het Bestuur Onderzoek en Ontwikkeling.
VAN BLADEL R.	hoogleraar aan de "Faculté des Sciences Agronomiques" van de "Université Catholique de Louvain-la-Neuve".

Secretaris :

CALLEBAUT A.	werkleider aan het CODA-Tervuren.

Conseil de Gestion de la Personnalité Juridique CERVA-Tervuren

(du 01.07.1995 au 19.12.1997)

Président :

GUNS M.	directeur f.f. du CERVA-Tervuren.

Membres :

HOUINS G.	conseiller général à l'Inspection générale des matières premières et produits transformés.
JANSSEN G.	ingénieur au "algemene diensten" du "Belgische Boerenbond".
PISCAGLIA R.	directeur général f.f. de l'Administration de la Recherche et du Développement.
VAN BLADEL R.	professeur à la Faculté des Sciences Agronomiques de l' Université Catholique de Louvain-la-Neuve.

Secrétaire :

CALLEBAUT A.	chef de travaux au CERVA-Tervuren.

Raad van Beheer van de Rechtspersoonlijkheid van het CODA

(vanaf 19.12.1997)

Voorzitter a.i. :

PISCAGLIA R..	wnd. directeur-generaal van het Bestuur voor Onderzoek en Ontwikkeling.

Leden :

DE BRAUWER P.	directeur-generaal van het Bestuur voor Diergezondheid en Kwaliteit van de Dierlijke Producten.
GUNS M.	departementshoofd aan het CODA.
HAESEBROUCK F.	hoofddocent aan de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.
MATTHYS J.	lid van het hoofdbestuur van de Belgische Boerenbond.
PEETERS J.	departementshoofd aan het CODA.
SOMVILLE Y.	hoofd van de economische diensten van de "Unions Professionnelles Agricoles"

Conseil de Gestion de la Personnalité Juridique du CERVA

(à partir du 19.12.1997)

Président a.i. :

PISCAGLIA R.	directeur général f.f. de l'Administration de la Recherche et du Développement.

Membres :

DE BRAUWER P.	directeur général de l'Administration de la Santé Animale et de la Qualité des Produits Animaux.
GUNS M.	chef de département au CERVA
HAESEBROUCK F.	chargé de cours à la "Faculteit diergeneeskunde" de l' "Universiteit Gent".
MATTHYS J.	membre de l'administration centrale du "Belgische Boerenbond".
PEETERS J.	chef de département au CERVA..
SOMVILLE Y.	chef du sercice économique des Unions Professionnelles Agricoles

Aanwervings- en Bevorderingscommissie CODA-Ukkel

(van 01.07.1995 tot 20.06.1997)

Voorzitter :

PISCAGLIA R.	wnd. directeur-generaal van het Bestuur voor Onderzoek en Ontwikkeling.

Leden :

HOUVENAGHEL A.	hoogleraar aan de Faculteit Geneeskunde van de Universitaire Instelling Antwerpen.
PASTORET P.P.	hoogleraar aan de "Faculté de Médecine Vétérinaire" van de "Université de Liège".
PEETERS J.	wnd. directeur van het CODA-Ukkel.
PENSAERT M.	decaan van de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.

Jury de Recrutement et de Promotion
CERVA-Uccle
(du 01.07.1995 au 20.06.1997)

Président :

PISCAGLIA R.	directeur général f.f. de l'Administration de la Recherche et du Développement.

Membres :

HOUVENAGHEL A.	professeur à la "Faculteit Geneeskunde" de l' "Universitaire Instelling Antwerpen".
PASTORET P.P.	professeur à la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège.
PEETERS J.	directeur f.f. du CERVA-Uccle.
PENSAERT M.	doyen de la "Faculteit Diergeneeskunde" de l' "Universiteit Gent".

Aanwervings- en Bevorderingscommissie CODA-Tervuren

(van 01.07.1995 tot 20.06.1997)

Voorzitter :

PISCAGLIA R.	wnd. directeur-generaal van het Bestuur voor Onderzoek en Ontwikkeling.

Leden :

ADAMS F.	hoogleraar aan de faculteit Wetenschappen van de Universitaire Instelling Antwerpen.
GUNS M.	wnd. directeur van het CODA-Tervuren.
NAVEAU H.	hoogleraar aan de "Faculté des Sciences Agronomiques" van de "Université Catholique de Louvain-la-Neuve".
SCHAMP N.	hoogleraar aan de "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen" van de Universiteit Gent.

Jury de Recrutement et de Promotion
CERVA-Tervuren
(du 01.07.1995 au 20.06.1997)

Président :

PISCAGLIA R.	directeur général f.f. de l'Administration de la Recherche et du Développement.

Membres :

ADAMS F.	professeur, à la "Faculteit Wetenschappen" de l' "Universitaire Instelling Antwerpen".
GUNS M.	directeur f.f. du CERVA-Tervuren.
NAVEAU H.	professeur à la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université Catholique de Louvain-la-Neuve.
SCHAMP N.	professeur à la "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen" de l' "Universiteit Gent".

Aanwervings- en Bevorderingscommissie van het CODA

(vanaf 21.06.1997)

Voorzitter :

PISCAGLIA R.	wnd. directeur-generaal van het Bestuur voor Onderzoek en Ontwikkeling.

Leden :

X.	directeur van het CODA
GODDEERIS B.	hoogleraar aan de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen van de Katholieke Universiteit Leuven.
LEROY P.	decaan van de "Faculté de Médecine Vétérinaire" van de "Université de Liège".
SCHAMP N.	hoogleraar aan de "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen" van de Universiteit Gent.

Het hoofd van de betrokken dienst, of bij zijn ontstentenis, een door het inrichtingshoofd aangewezen lid van het wetenschappelijk personeel

Jury de Recrutement et de Promotion du CERVA

(à partir du 21.06.1997)

Président :

PISCAGLIA R.	directeur général f.f. de l'Administration de la Recherche et du Développement.

Membres :

X.	directeur du CERVA
GODDEERIS B.	professeur à la "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen" à la "Katholieke Universiteit Leuven".
LEROY P.	doyen de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège
SCHAMP N.	professeur à la "Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen" de l' "Universiteit Gent".

Le chef de service interessé ou à défaut, un membre du personnel scientifique désigné par le chef de l'établissement.

ORGANIGRAM

ORGANIGRAMME

CAMPUS UKKEL / UCCLE

PERSONEEL - PERSONNEL
01/09/1995 - 31/12/1997

DIRECTIE EN ALGEMENE DIENSTEN
DIRECTION ET SERVICES GENERAUX

dr. J. PEETERS	wnd. Directeur
G. VAN ACHTER	internal controller, contract R.P.
J.-B. GOVERS	1e chef technicien, contrat P.J.
G. STIERS	chef technicien, contrat P.J.
C. NABSKI	netwerk beheerder contract CCDD
A. WOUTERS	hoofdtechnicus, 4 dagenweek vanaf 01.09.1995
J. VANDENBOSCH	technicus, contract R.P.
N. GOOSSENS	technicus, contract R.P., deeltijds 80%, vanaf 01.09.1996
H. AELES	technicus, 4 dagenweek vanaf 01.08.1995
M. DE VOS	technicus, 4 dagenweek vanaf 01.08.1995
Y. LEONARD	technicienne, mi-temps depuis le 01.02.1997
C. VANDERHEYDEN	technicienne adjointe
D.VLAMINCK	technicienne adjointe, contrat P.J.
M. DESMEDT	technicienne adjointe, contrat P.J.
R.A. DUDICQUE	technicienne adjointe, contrat P.J.
M. VOGELEER	technicienne adjointe, contrat P.J., jusqu'au 30.09.1997, temps partiel depuis le 01.10.1996
C. DEKNOP	adjunct technicus GECO
P. GOVART	geschoold werkman
G. CARDOEN	nettoyeuse, contrat P.J.
H. PRIETO-PRIETO	nettoyeuse, contrat P.J.
P. EISCHEN	nettoyeuse contractuelle
J. BREYNAERT	nettoyeuse contractuelle

DEPARTEMENT BIOCONTROLE
DEPARTEMENT BIOCONTRÔLE

dr G. WELLEMANS
Chef de Département

AFDELING BIOCONTROLE
SECTION BIOCONTRÔLE

dr G. WELLEMANS	chef de la section
dr M. DESMECHT	chef de travaux agrégé
dr. M. CLAES	dierenarts, contract CCDD (mandaat 2 jaar vanaf 16.04.1997)
dr K. KNAPEN	vétérinaire, contrat CCDV
ing. J. OUDEWATER	ingénieur industriel, contrat P.J.
F. VERDEBOUT	technicienne spécialisée
M.P. CORDIER	technicienne
M. BORREMANS	technicus
J. PUTTEMANS	technicus, contract R.P.
I. VAN DEN HAUTE	technicus, contract CCDD
E. WOUTERS	adjunct-technicus
G. CALLEBAUT	adjunct technicus, contract R.P.
J. CAUWENBERGHS	geschoold werkman
A. DEREUX	ouvrier qualifié
M. VANDERWAEREN	nettoyeuse contractuelle, mi-temps depuis le 01.01.1995
J. LIBERT	nettoyeur contractuel
P. VANOORENBERGHE	nettoyeur contractuel
D. WEECKERS	contractuele schoonmaakster, 4 dagenweek vanaf 01.09.1995

AFDELING PATHOLOGIE
SECTION PATHOLOGIE

lic. G. CHARLIER	hoofd van de afdeling
dr. S. ROELS	assistent (mandaat 2 jaar vanaf 01.09.1997)
ing. C. VAN HIEL	industrieel ingenieur
B. HENRYON	technicienne spécialisée
N. DUBOIS	technicienne spécialisée, contrat P.J., partiel 80% depuis 01.01.1992
M. LEDECQ	technicienne spécialisée, contrat P.J., mi-temps depuis 28.01.1991
J. GREDE	technicien adjoint
K. PETROFF	technicienne spécialisée, contrat dotations
P. VAN MUYLEM	technicus, contract R.P.

DEPARTEMENT VIROLOGIE
DEPARTEMENT VIROLOGIE

dr. E. VANOPDENBOSCH
Hoofd van het Departement

AFDELING ALGEMENE VIROLOGIE
SECTION VIROLOGIE GENERALE

dr. E. VANOPDENBOSCH	hoofd van de afdeling
dr P. KERKHOFS	premier assistant
dr C. LETELLIER	première assistante, contrat P.J.
ir. CAIJ A.	assistent (contractueel)
dr M. DISPAS	assistant, contrat IBR jusqu'au 31.03.1999
dr. I. VAN VLAENDEREN	dierenarts, contract CCDD
ing. H. BLONDEEL	eerstaanwezend industrieel ingenieur
ing. A. DESMET	ingénieur industriel
ing. P. RIDREMONT	ingénieur industriel
J.C. MAMBOUR	technicien spécialisé
A. MASSART	technicien spécialisé
J.L. COULONVAL	technicien spécialisé, contrat de remplacement P.J.
J. WACHEL	technicienne spécialisée, contrat CCDV
B. MAINDIAUX	technicien spécialisé, contrat IBR jusqu'au 31.03.1999
S. HAMANDE	technicienne spécialisée, contrat IBR jusqu'au 31.03.1999
G. VANDENDAELE	technicien
M. VERHOEVEN	technicienne, contrat CCDV
D. VANHEE	technicus, contract R.P. tot 31.12.1997
A. STOOP	gespecialiseerd technicus, contract CCDD
M. LETENRE	ouvrier qualifié
L. DE MOL	contractuele schoonmaker
J.M. LONDES	contractuele schoonmaker
F. SMETS	contractuele schoonmaker

AFDELING VIRALE EPIZOOTISCHE ZIEKTEN
SECTION MALADIES EPIZOOTIQUES VIRALES

X	hoofd van de afdeling
dr. K. DE CLERCQ	werkleider
dr. F. KOENEN	werkleider
ir. H. VANDERHALLEN	assistent, contract EEG tot 28.02.1999
dr. M. CALLENS	assistent, contract EEG tot 31.01.2000
dr B. PHILIPPE	docteur en sciences biomédicales, contrat CCDV
Ing. W. DEWITTE	industrieel ingenieur, contract R.P.
S. DIEZ	gespecialiseerd technicus, contract CCDD
J. DEBAUGNIES	technicienne spécialisée, contrat CCDV
D. VAN GEEL	gespecialiseerd technicus, contract DG6 tot 15.02.1998
B. WAELKENS	technicienne spécialisée, mi-temps depuis 01.06.1996
C. DE WEER	technicienne spécialisée, mi-temps depuis 01.06.1996 (contractuelle)
P. LEYSSENS	adjunct technicus
A. SANTAMARIA	technicien adjoint de la recherche (détaché)
R. DERIJCKE	schoonmaker, contract R.P.

DEPARTEMENT BACTERIOLOGIE EN IMMUNOLOGIE
DEPARTEMENT BACTERIOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

dr G. WELLEMANS
Chef de Départerment a.i.

AFDELING ALGEMENE BACTERIOLOGIE
SECTION BACTERIOLOGIE GENERALE

dr P. POHL	chef de la section
dr. I. D'HOOGHE	assistent, (een mandaat van 2 jaar vanaf 01.06.1997)
dr. H. IMBERECHTS	assistent, contract dotaties
lic. M. DE FILETTE	attaché, contract DG6 tot 31.08.1998
lic. I. CLEENWERCK	attaché, contract DG6 tot 30.11.1998
E. VAN DAMME	gespecialiseerd technicus, contract dotaties tot 14.10.1999
A. STOCKMANS	gespecialiseerd technicus, contract R.P.
H. BOUCHET	technicienne spécialisée de la recherche, contrat P.J.
A. DUYNSLAEGER	gespecialiseerd technicus, contract DG6 tot 31.08.1998
A. VERLEYE	gespecialiseerd technicus, contract DG6 tot 30.11.1998
E. DE FEYTER	gespecialiseerd technicus, contract dotaties tot 30.11.1999
R. SEBBAGH	technicienne spécialisée de la recherche - première expérience professionnelle
C. SCHLICKER	technicienne
M. MARIN	technicienne, semaine de 4 jours depuis 01.09.1995
C. CANTRAINE	technicien adjoint de la recherche
J. VANDENBERGH	adjunct technicus, contract R.P.
P. BELSACQ	geschoold werkman
A. BERT	geschoold werkman

AFDELING ENZOOTISCHE ZIEKTEN EN IMMUNOLOGIE
SECTION MALADIES ENZOOTIQUES ET IMMUNOLOGIE

dr G. WELLEMANS	chef de la section a.i.
dr J. GODFROID	assistant
dr K. WALRAVENS	assistant, (mandat de 2 ans à partir du 01.04.1997)
dr. F. BOELAERT	dierenarts, contract CCDD
lic. V. WELLEMANS	attaché, contrat DG6 jusqu'au 30.11.1999
lic. C. CLAVAREAU	attaché, contrat CEE jusqu'au 31.03.1999
ing. L. UYTTERHAEGEN	industrieel ingenieur
P. MICHEL	technicien spécialisé
H. CASSIMAN	gespecialiseerd technicus, contract R.P., deeltijds 80% vanaf 01.09.1983
C. DE SMEDT	gespecialiseerd technicus, contract CCDD
M. SICILIANI	technicienne spécialisée de la recherche, contrat DG6 jusqu'au 30.11.1999
dr. P. FLANAGAN	technicien spécialisé de la recherche, contrat CEE jusqu'au 31.05.1998
J. BREYSSENS	nettoyeur contractuel

DEPARTEMENT PARASITOLOGIE EN KLEINVEEPATHOLOGIE
DEPARTEMENT PARASITOLOGIE ET PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PETIT-ELEVAGE

dr. J. PEETERS
Hoofd van het departement

AFDELING PARASITOLOGIE EN PATHOLOGIE
SECTION PARASITOLOGIE ET PATHOLOGIE

dr. J. PEETERS	hoofd van de afdeling
dr J.F. LONNEUX	assistant (mandat de 2 ans depuis 01.06.1997)
dr. D.VANDEKERCHOVE	assistent (mandaat voor 2 jaar vanaf 01.04.1997)
dr. D. de GRAAF	assistent, contract dotaties
ir. P. HOFF	assistent, contract DG6 tot 30.09.1998
ir. J. MARIËN	assistent,contract DG6 tot 30.09.1999
lic. W. DOBBELAERE	attaché, contract DG6 tot 30.09.1999
R. GEEROMS	gespecialiseerd technicus, contract R.P.
D. VANDERGHEYNST	technicienne spécialisée de la recherche, contrat P.J.
I. HEYMANS	gespecialiseerd technicus, contract dotaties tot 15.12.1999
R. GOESSEYE	adjunct technicus
L. VAN MUYLEM	adjunct technicus, contract R.P.

AFDELING PLUIMVEEVIROLOGIE EN BIOTECHNOLOGIE
SECTION VIROLOGIE AVIAIRE ET BIOTECHNOLOGIE

dr G. MEULEMANS	chef de la section, contrat P.J.
dr T. van den BERG	premier assistant
dr B. LAMBRECHT	assistante, contrat SSTC jusqu'au 30.09.1998
lic. M. DECAESSTECKER	ingénieur industrielle, contrat P.J., partiel 80%, à partir du 01.01.1996
M. GONZE	technicienne spécialisée, semaine de 4 jours depuis 01.08.1995
M. BOSCHMANS	gespecialiseerd technicus, contract R.P.
M.D. MORALES AIRA	technicienne spécialisée, contrat CCDV
L. BAETENS	ouvrier, contrat P.J.
M. VANDEN BROECK	ouvrier qualifié

PROEFDIERENCENTRUM VAN MACHELEN
CENTRE D'EXPERIMENTATION DE MACHELEN

J.P. SPIESSENS	werkmeester a.i.
K. CAUWENBERGHS	eerste geschoold werkman
R. DEKEMPENEER	eerste geschoold werkman, contract R.P.
R. DE GIETER	eerste geschoold werkman, contract R.P.
E. MAGITS	eerste geschoold werkman, contract R.P.
G. VAN BENEDEN	geschoold werkman, contract R.P.
M. BOSMANS	arbeider, contract R.P.
F. JANSSENS	arbeider, contract R.P.
D. VERSTAPPEN	arbeider, vervangingscontract stamping
M. FERJANI	nettoyeur contractuel

CAMPUS TERVUREN

PERSONEEL - PERSONNEL
01/09/1995 - 31/12/1997

DIRECTIE EN ALGEMENE DIENSTEN
DIRECTION ET SERVICES GENERAUX

dr. M. GUNS	wnd. directeur
J. SMETS	technicienne en chef, à mi-temps depuis le 1/01/1996
N. TRAPPENIERS	technicus
F. VERCAMMEN	technicus
W. D'HOLLANDER	adjunct technicus
N. VERDONCK	adjunct technicus, contractueel Staat (tot 7/03/1997)
N. BUYS	technicienne adjointe (détachée aux services de Monsieur le Secrétaire général)
J. VAN CRAEN	werkman
I. CAROBEL	chef huissier principal (détaché au CERVA-Tervuren)
M. ABBELOOS	halftijds contractueel schoonmaakster
A. BEERSAERTS	contractueel schoonmaakster
M. DEKEYZER	contractueel schoonmaker
F. DIELENS	contractueel schoonmaker
M. DIELENS	halftijds contractueel schoonmaakster
H. STRAUVEN	halftijds contractueel schoonmaakster
V. VANWIJNSBERGHE	halftijds contractueel schoonmaakster

DEPARTEMENT CHEMIE DER LANDBOUWECOSYSTEMEN
DEPARTEMENT CHIMIE DES ECOSYSTEMES AGRICOLES

dr. M. GUNS
Hoofd van het departement

AFDELING AGROCHEMIE
SECTION AGROCHIMIE

dr ir P. SCOKART	chef de section
dr ir L. PUSSEMIER	chef de travaux agrégé
dr ir Ph. DEBONGNIE	premier assistant
ir. P. DE COOMAN	assistent, contract Vlaamse Gemeenschap (tot 31/12/1995)
ir V. VANDERHEYDEN	assistant, contrat Région Wallonne (jusqu'au 31/03/1997)
ir S. BEERNAERTS	assistant, contrat DG IV (à partir du 15/12/1995)
ir. S. DE PUYDT	assistent, contract Vlaamse Milieumaatschappij (15/12/1995-31/03/1996)
ir. J. PAUWELYN	assistent, contract Vlaamse Milieumaatschappij (1/04/1996 -1/07/1997)
ir. M. SYS	assistent, DWTC (vanaf 3/11/1997)
ir S. GOUX	boursier FRIA
ing. Y. VAN ELSEN	industrieel ingenieur
R. VAN CAUTER	gespecialiseerd hoofdtechnicus
H. FRANKEN	technicus
A. DELVAUX	technicien spéc., contrat DG IV (à partir du 6/11/1997)

AFDELING ECOCHEMIE EN SPECTROSCOPIE
SECTION ECOCHIMIE ET SPECTROSCOPIE

dr. M. GUNS	hoofd van de afdeling
dr. ir. L. DE TEMMERMAN	werkleider geaggregeerde
dr M. HOENIG	chef de travaux agrégé
ir. K. VANDERMEIREN	assistent
lic. S. VANHOUTVIN	assistent, contract Europese Unie (tot 31/12/1996)
ing. H. BAETEN	industrieel ingenieur
ing. P. VAN HOEYWEGHEN	industrieel ingenieur
P. COOSEMANS	technicus
G. ISTAS	technicus
J. LIBOTON	technicus
A. EVRARD	technicienne
R. VAN DER ZEYP	technicus (overleden op 24/11/1995)
J. HEYNINCK	gespecialiseerd technicus, contract Vlaams Gewest (tot 30/06/1996)
C. DE SPIEGELEER	gespecialiseerd technicus, contract Vlaams Gewest (08/07/1996 - 26/06/1997)
S. VANHENTENRIJK	adjunct technicus, contractueel
F. BERTHON	technicienne adjointe (contractuelle à partir du 15/07/1997)
W. VAN WEMMEL	gespec. technicus (contract Vlaams Gewest vanaf (14/10/1997)
C. GREENWAY	student Nottingham Trent University (1/04/1996 - 20/09/1996)
L. MAHE	student Nottingham Trent University (31/03/1997-30/09/1997)

DEPARTEMENT BIOTECHNOLOGIE EN ORGANISCHE ANALYSE
DEPARTEMENT BIOTECHNOLOGIE ET ANALYSES ORGANIQUES

dr ir M. DECLEIRE
Chef de département

AFDELING BIOTECHNOLOGIE
SECTION DE BIOTECHNOLOGIE

dr ir M. DECLEIRE	chef de section
ir M.HOFMAN	(trap III)
dr. ir. A. CALLEBAUT	werkleider
dr ir N. VAN HUYNH	chef de travaux
ing. W. DE CAT	industrieel ingenieur-hoofd van dienst
M. de HAAN	gespec. technicus, contractueel werkgroep
C. PERWEZ	technicienne, contractuelle
A.M. VOETS	technicus, contractueel(tot 30/09/1996)
Ph. DELIGNE	technicien adjoint

AFDELING ORGANISCHE ANALYSE
SECTION ANALYSES ORGANIQUES

dr J.-C. MOTTE	chef de section
ir V. WERGIFOSSE	assistante, stage des jeunes (à partir du 15/09/1997)
ing. G. ALAERTS	e.a. industrieel ingenieur
ing. A. DE MEYER	industrieel ingenieur
A. DELAFORTRIE	technicus
Y. JACQUEMIN	technicien (jusqu'au 31/12/1996)
F. LANGENHAECK	technicienne, contractuelle
A. DE MECHELEER	technicienne spécialisée, stage des jeunes (13/01/1997-30/04/1997)

DIENSTVERLENING

ACTIVITES DE SERVICE

Dienstverlening

De dienstverlenende activiteiten van het CODA inzake dienstverlening werden samengevat in de hierna volgende algemene tabellen. De onderzochte stalen zijn afkomstig van :

- diergeneeskundige inspecteurs of practici die worden geconfronteerd met pathologieën waarvoor een laboratoriumdiagnose is vereist;
- practici wiens klanten dieren of biologisch materiaal van dierlijke oorsprong wensen uit te voeren en moeten voldoen aan de diergeneeskundige vereisten van de verschillende landen;
- verantwoordelijken van centra voor kunstmatige inseminatie of voor embryotransplantatie, van fok- of selectiebedrijven die de gezondheids-toestand van de dieren die ze aankopen of huisvesten willen certifiëren;
- diagnostische openbare of privé-laboratoria die een diagnose willen laten bevestigen;
- onderzoekingslaboratoria waar proefdieren worden gebruikt of waar epidemiologisch onderzoek wordt uitgevoerd;
- privé-laboratoria die een gelijkvormigheidsonderzoek aanvragen met het oog op de registratie van biologische producten of van desinfectantia;

Activités de service

Les activités de service du CERVA sont résumées dans les tableaux généraux qui suivent. Les échantillons nous sont envoyés par :

- des inspecteurs vétérinaires ou des praticiens confrontés à des problèmes pathologiques qu'ils veulent résoudre avec l'aide du laboratoire;
- des praticiens dont les clients désirent exporter des animaux ou du matériel biologique d'origine animale qui doivent satisfaire à des exigences sanitaires de pays divers;
- des responsables de centres d'insémination ou de transfert d'embryons, de centres d'élevage ou de sélection qui veulent contrôler l'état sanitaire des animaux qu'ils achètent ou hébergent;
- des laboratoires d'analyse publics ou privés qui veulent confirmer ou infirmer un diagnostic;
- des laboratoires de recherche qui utilisent des animaux ou qui font des recherches épidémiologiques;
- des firmes privées qui sollicitent des analyses pour des contrôles de conformité en vue d'un enregistrement d'un produit biologique ou d'un désinfectant;

- geneesheren, ziekenhuizen of laboratoria van de humane geneeskunde die worden gecon-fronteerd met anthropozoönosen;

- magistraten of andere personen die een deskundig onderzoek of een tegensprekelijk onderzoek aanvragen;

- openbare, nationale of internationale overheden die uitsluitend willen handelen met een aangenomen Belgisch referentielaboratorium.

- industriële bedrijven die een specifieke analyse wensen te laten uitvoeren voor de productiecontrole;

- openbare instellingen of private bedrijven die willen nagaan of de gehalten aan bepaalde residu's voldoen aan de bestaande normen;

- de inspectiediensten van het Ministerie van Middenstand en Landbouw om de aard van verontreinigingsgevallen op te sporen.

- des médecins de l'homme, de cliniques ou des laboratoires de médecine humaine confrontés à des problèmes d'anthropozoonoses;

- des magistrats ou d'autres personnes qui demandent des expertises ou des contre-expertises;

- des autorités publiques, nationales ou internationales, qui désirent ne traiter qu'avec un laboratoire belge agréé de référence.

- des entreprises industrielles qui désirent faire une analyse spécifique afin de conrôler la production;

- des institutions publiques ou des entreprises privées qui veulent vérifier si les teneurs en certains résidus sont conformes aux normes existantes;

- les services d'inspection du Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture pour rechercher la nature de cas de pollution.

TABELLEN

TABLEAUX

Tabel 1. Totaal aantal diagnostische onderzoekingen uitgevoerd tussen 1 juli 1995 en 31 december 1997
Tableau 1. Nombre total des examens effectués entre le 1 juillet 1995 et le 31 décembre 1997

	Rund Bovin	Schaap/Geit Mouton/Chèvre	Varken Porc	Paard Cheval	Hond/Kat Chien/Chat	Konijn Lapin	Pluimvee Volaille	Andere Autres	Totalen Totaux
Autopsie	9	4	8	-	412	260	223	22	938
Histologie	246	228	46	3	85	704	124	85	1.521
Virologie	42.610	191	37.593	1.202	2.903	615	1.907	620	87.641
Bacteriologie - Bactériologie	4.627	179	143	1.450	1.133	1.674	117	523	9.846
Parasitologie	275	4	-	15	36	119	1	7	457
Serologie - Sérologie	177.468	33.340	418.495	21.145	12.080	87	4.355	6.571	673.541
Hematologie - Hématologie	770	2.884	1.123	18	-	6	101	1.001	5.903
Biochemie - Biochimie	1.373	8	3	67	14	11	-	154	1.630
Elektroforese - Electrophorèse	3	-	-	9	-	-	-	-	12
Toxicologie	234	87	4	27	950	6	49	579	1.936
Export - Exportation	1.609	2.525	85.740	5.182	532	-	754	126	96.468
Ident. Stammen/Souches	1.523	36	999	59	95	8	1.877	962	5.559
IFN gamma	1.680	-	-	-	-	-	-	-	1.680
TSE*	1.250	1.146	-	4	117	-	-	6	2.523
Totalen - Totaux	233.677	40.632	544.154	29.181	18.357	3.490	9.508	10.656	889.655

*Transmissible spongiform encephalopathy

Tabel 2. Aantal diagnostische onderzoekingen (01.07.1995 - 31.12.1997) : identificatie van virale antigenen
Tableau 2. Nombre de diagnostics(01.07.1995 - 31.12.1997) : détection d'antigènes viraux

	Rund Bovin	Varken Porc	Hond/Kat Chien/Chat	Konijn Lapin	Pluimvee Volaille	Andere Autres	Totalen Totaux
Virusisolatie - Isolement viral	5.408	26.414	104	1	1.505	143	33.575
Muisproef - Essai sur souriceau	-	-	-	-	-	161	161
Complementbinding - Fixation du complément	5	-	-	-	-	-	5
Immunodiffusie - Immunodiffusion	601	-	-	231	-	-	832
Hemagglutinatie - Hémagglutination	-	94	775	355	-	-	1.224
Directe immunofluorescentie - Immunofluorescence directe	21.361	8.085	1.383	-	186	-	31.015
Indirecte immunofluorescentie - Immunofluorescence indirecte	7.791	-	-	-	-	3	7.794
Elektronenmicroscopie - Microscopie électronique	443	26	267	28	216	-	980
ELISA	6.976	2.745	374	-	-	313	10.408
PCR	25	212	-	-	-	-	237
Sekwentie bepaling/Séquençage	-	17	-	-	-	-	17
Totalen - Totaux	42.610	37.593	2.903	615	1.907	620	86.248

Tabel 3. Aantal diagnostische onderzoekingen(01.07.1995 - 31.12.1997) : serologie
Tableau 3. Nombre de diagnostics (01.07.1995 - 31.12.1997) : sérologie

	Rund Bovin	Schaap/Geit Mouton/Chèvre	Varken Porc	Paard Cheval	Hond/Kat Chien/Chat	Konijn Lapin	Pluimvee Volaille	Andere Autres	Totalen Totaux
Snelle agglutinatie - Agglutination rapide	5.268	998	12.944	60	235	-	1.269	1.095	21.869
Trage agglutinatie - Agglutination lente	40.642	2.183	85.427	7.909	8.171	23	37	2.731	147.123
Immunodiffusie - Immunodiffusion	12.089	7.504	-	2.080	-	31	843	-	22.547
Complementbinding - Fixation du complément	6.076	1.857	12.709	1.089	88	-	-	852	22.671
Hemagglutinatie inhibitie - Inhibition de l'hémagglutination	-	-	-	752	801	-	2.086	90	3.729
Seroneutralisatie - Séroneutralisation	9.715	-	9.862	1.125	812	33	-	219	21.766
Indirecte immunofluorescentie - Immunofluorescence indirecte	2.199	-	-	914	1.696	-	-	524	5333
ELISA	101.479	20.798	297.553	7.216	277	-	120	1.060	428.503
Totalen - Totaux	177.468	33.340	418.495	21.145	12.080	87	4.355	6.571	673.541

Tabel 4. Kwaliteitscontrole
Tableau 4. Contrôle de qualité

Producten - Produits		Aantal - Nombre
Waterstalen	Echantillons d'eau	188
Voederstalen	Echantillons d'aliment	1.170
Foetaal serum (loten)	Sérums de foetus (lots)	55
ELISA-kits	Kit ELISA	46
Sera en antigenen (loten)	Sérums et antigènes (lots)	32
Desinfectantia (loten)	Désinfectants (lots)	1
Sperma/embryo's (stalen)	Sperme/embryons (échantillons)	5.040
KI-stieren (sera)	Taureaux IA (sérums)	3085
Selectiecentra (sera)	Centres de sélection (sérums)	1.421
Nierstenen	Calculs urinaires	8

Tabel 5. Aantal gecontroleerde en verdeelde vaccins
Tableau 5. Nombre de vaccins contrôlés et distribués
(01.07.1995 - 31.12.1997)

Species Espèces		Aantal gecontroleerde vaccinloten Nombre de lots de vaccin contrôlés	Aantal verdeelde vaccindoses Nombre de doses de vaccin distribuées
Rund	Bovin	304	40.873
Schaap/Geit	Mouton/Chèvre	9	7.103
Varken	Porc	564	13.950
Paard	Cheval	48	-
Hond/Kat	Chien/Chat	443	33.812
Konijn	Lapin	10	135.780
Pluimvee	Volaille	230	33.916.990
Diverse	Divers	79	390.480

Tabel 6. Productie en verdeling
Tableau 6. Production et distribution
(01.07.1995 - 31.12.1997)

Producten - Produits		Aantal - Nombre
Verdeling van :	Distribution de :	
- sera en componenten	- sérums et composants (ml)	4.662
- antigenen (ml)	- antigènes (ml)	255.308
- tuberculine (doses)	- tuberculines (doses)	1.197.374
- LBE - ERL (testen)	- LBE - ERL (tests)	246.900
Productie van :	Production de :	
- primaire celculturen	- cultures cellulaires primaires	382
- cellijnen	- lignées cellulaires	3.023
- media voor celculturen (liter)	- milieux de cultures cellulaires (litre)	7.157
- autovaccins (liter)	- autovaccins (litre)	166,401
- antisera (ml)	- antisérums (ml)	14
- referentiestammen (bact)	- souches de références (bact)	661
- *Salmonella pullorum* (liter)	- *Salmonella pullorum* (litre)	2,9

Tabel 7. Agrochemische dienstverlening
Tableau 7. Activités de services agrochimiques

Onderzoekingen - Examens		Aantal - Nombre
Minerale elementen	- Waterstalen - Eaux diverses	13
(hoofd-, neven- en sporenelementen)	- Slib van zuiveringsstations - Boues de stations d'épuration	51
Eléments minéraux	- Bodemstalen, sedimenten, stofneerslag - Sols, sédiments, poussières	9
(majeurs, mineurs, traces)	- Zeeorganismen - Organismes marins	45
	- Medische analyses - Analyses médicales	10
	- Melkzuur en derivaten - Ac. lactiques et dérivés	303
	- Suikers, inulinen - Sucres, inulines	60
	- Andere industriële producten - Autres produits industriels	40
Triglyceriden - Triglycérides	- Voedingsolie, vetten, fytofarmaceutische producten - Huiles, graisses, produits phytopharmaceutiques	20
Herbiciden (triazines en ureumderivaten) Herbicides triaziniques et uréiques	- Water, sedimenten - Eaux, sédiments	150
Zware metalen - Métaux lourds	- Sedimenten - Sédiments	185
(Hg, Cu, Zn, Pb, Cd)	- Zeeorganismen - Organismes marins -	535
Fluoriden - Fluorure	- Water - Eaux -	1
Geel stofneerslag - Poussières jaunes	- Groenten - Légumes -	1
Cd, Cr, Co, Ni, Pb, Sb, Zn	- Grondsoorten - Terres agricoles -	636

Tabel 8 : Proefcentrum van Machelen
Tableau 8 : Centre expérimentale de Machelen

	Aantal - Nombre
Slachtingen - Abattages	
Hormonen (runderen) Hormones (bovins)	593
Ontsmettingen (haarden) - Désinfections (foyers)	109
Preventieve opruimingen (varkens) - Epurations préventives (porcs)	45.000

F O C U S

Verbeterde detectiemethoden voor Mond- en Klauwzeer virus

Mia Callens en Kris De Clercq

Mond-en klauwzeer virus (MKZV) veroorzaakt een zeer acute, besmettelijke en economisch belangrijke ziekte bij evenhoevigen, gekenmerkt door vesiculaire letsels voornamelijk gelokaliseerd op de mucosa van de tong en interdigitaal. De sterfte bij jonge dieren, het verlies aan vlees- en melkopbrengst en de ernstige secundaire complicaties, naast grote belemmeringen voor de internationale handel, leiden tot belangrijke economische verliezen.

Door vaccinatie werd in Europa eerst het epizoötisch karakter van de ziekte uitgeschakeld en daarna werd in de meeste Europese landen de ziekte volledig uitgeroeid. België is volledig vrij van de ziekte sinds 1977. Op wereldvlak is MKZ nog endemisch in het Midden-Oosten en in veel Aziatische landen. Verder vindt men het nog in Afrikaanse en Zuid-Amerikaanse landen, en nu recent ook in enkele Europese landen (de balkan regio en sommige staten van de vroegere Sovjet-Unie). MKZ-virussen behoren tot de familie van de Picornaviridae, genus Aphthovirus. Er bestaan 7 verschillende serotypes: O, A, C, Asia 1 serotypes hebben een vrij algemene verspreiding, terwijl de verspreiding van SAT 1, SAT 2 en SAT 3 serotypes hoofdzakelijk beperkt is tot Zuidelijk Afrika. Door de toegenomen handelsbetrekkingen met Zuid-Afrika en de vraag naar exotisch vlees, zoals springbok en gazelle, is een insleep van deze Afrikaanse serotypes in Europa niet langer ondenkbeeldig. Het voorgaande en de agressieve uitspreiding van de ziekte wijzen op de noodzaak aan een vlugge en gevoelige diagnose die alle subtypes van MKZ kan detecteren en differentiëren.

We zijn er via reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) in geslaagd een algemene diagnose van MKZ te stellen en de 7 serotypes te differentiëren (Schema 1). De eerste stap bestaat erin met de algemene PCR (P32-P33) na te gaan of we te doen hebben met MKZV. In geval het MKZV aanwezig is, vinden we een PCR-reactieprodukt van 131 bp, ongeacht het serotype. De volgende stap bestaat erin het serotype te identificeren door 2 multiplex PCR's uit te voeren. De eerste multiplex PCR differentieert tussen de volgende serotypes : A-C-O en ASIA 1; de tweede multiplex-mix maakt een onderscheid tussen de 3 SAT-serotypes. Dus een MKZV wordt getypeerd als een A, C, O of ASIA 1 serotype indien er een specifiek amplicon van resp. 732, 596, 402 of 292 bp, zichtbaar is op een agarosegel. Een MKZV wordt herkend als een SAT 1, SAT 3 of SAT 2 indien er met de multiplex-mix voor SAT-typering een amplicon van resp. 246, 201 of 75 bp, zichtbaar is.

Deze techniek biedt het voordeel een algemene MKZ-diagnose te kunnen stellen door reactie met het geconserveerde 2B gebied van het genoom. Indien hetzelfde beoogd wordt met bijvoorbeeld een ELISA is een zeer groot panel aan antistoffen nodig dat met de verschillende specifieke epitopen op het virusoppervlak reageert aangezien de meer geconserveerde epitopen niet bereikbaar zijn voor de antistoffen.

Een ander belangrijk aspect is de export van runderen, schapen en varkens te verzekeren door via de meest gevoelige techniek te bewijzen dat de veestapel vrij is van het MKZV (negatieve diagnose).

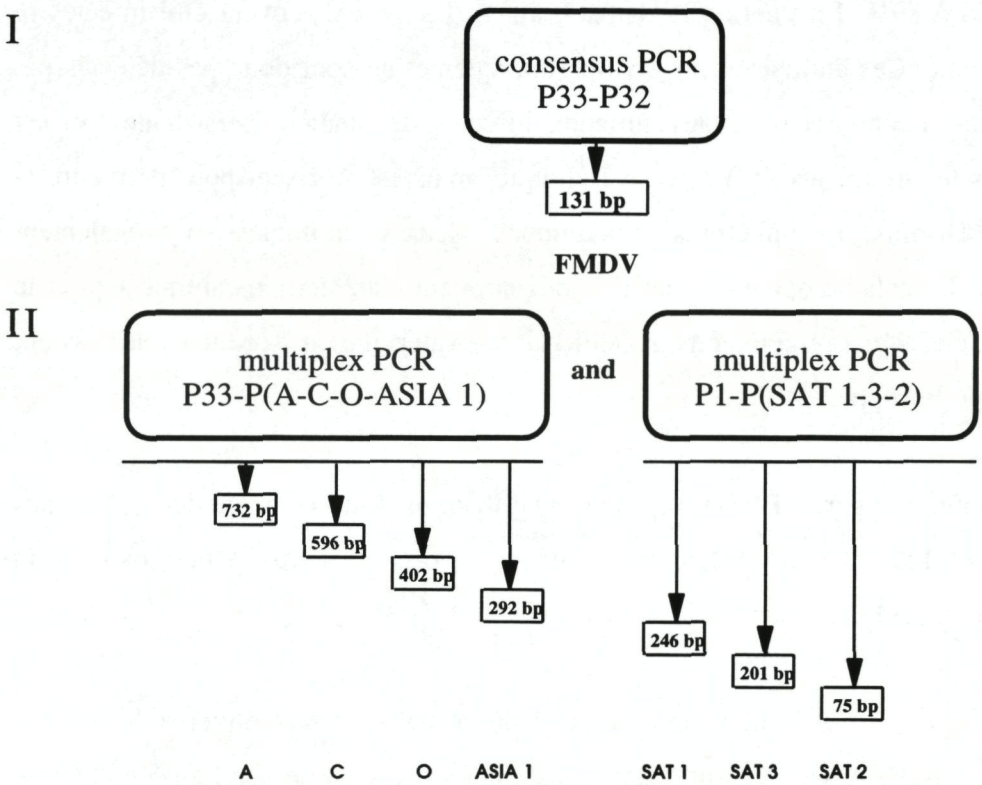
Om deze doelstelling te realiseren moet de test zodanig op punt gesteld worden dat deze in staat is een minimaal aantal copieën van MKZV-RNA te detecteren. De oorspronkelijk gebruikte PCR (zie activiteitenverslag 1994-1995) was reeds gevoeliger dan de antigeen (Ag) detectie ELISA, maar dezelfde gevoeligheid als virusisolatie op primaire foetale lamniercellen werd slechts bereikt indien een nested-PCR werd uitgevoerd. Nested-PCR neemt meer tijd in beslag en vergroot aanzienlijk het gevaar op contaminatie daar reeds met geamplificeerd DNA wordt gewerkt.

Door gebruik van andere protocols, evaluatie van andere reverse transcriptasen en DNA-polymerase en verdere PCR optimalisatie steeg de gevoeligheid tot slechts 1 à 2 log10 virusverdunningen minder dan bij de virusisolatie. Indien echter de PCR-reactieprodukten niet via gelelectroforese gedetecteerd werden maar via een ELISA (PCR-ELISA) werd dezelfde gevoeligheid bereikt als bij de virusisolatie. Er moet wel benadrukt worden dat deze test reeds resultaat geeft na 30 à 48 u, terwijl voor de laagste concentraties in de virusisolatietest minstens 72 u gewacht moet worden op het resultaat, wat een tijdwinst van één tot anderhalve dag oplevert.

Om de ontwikkelde technieken aan de praktijk te toetsen werd een samenwerking gestart met het Pasteur Instituut in Roemenië en met het Panaftosa Instituut in Brazilië. Uit Roemenië werden stalen onderzocht afkomstig van schapen die gedurende enkele weken in contact waren geweest met geïnfecteerde schapen maar die contactschapen vertoonden geen enkel symptoom. De diagnose van MKZ bij de geïnfecteerde schapen leverde geen problemen op. Bij de contactschapen kon slechts met de meest gevoelige RT-PCR-ELISA de aanwezigheid van MKZV aangetoond worden en dit slechts gedurende een zeer korte periode. Dit betekent dat dergelijke virusdragers zelfs met deze gevoelige techniek gemakkelijk kunnen gemist worden en duidt op de noodzaak aan een zeer gevoelige detectiemethode.

Het Zuid-Amerikaanse Panaftosa bezorgde ons aften van runderen waarbij klinisch MKZ was vastgesteld. Dit laatste werd uitgevoerd omdat er internationaal nog twijfel was of de door ons ontwikkelde PCR wel in staat zou zijn om deze sterk variërende MKZ-virussen, die niet in onze selectie waren opgenomen, te ontdekken.

Schema 1: differentiatie van de zeven serotypes van MKZV via RT-PCR



Met de Ag-ELISA konden we de aanwezigheid van MKZV antigeen vaststellen bij 4 van de 10 stalen en voor nog 3 andere stalen was er een vermoeden maar bevestiging was noodzakelijk. Na virusisolatie op primaire cellen werd de diagnose voor 7 stalen bevestigd. Vier uur na de start van de PCR werd bij alle 10 stalen MKZV aangetoond en na 7 u stond de typering vast.

Het onderzoek naar verbeterde detectiemethoden voor MKZV leidde tot een RT-PCR-protocol dat toelaat in twee multiplex PCR's alle zeven de serotypes van FMDV te identificeren. De samenwerking met andere instituten maakte een toetsing aan de praktijk mogelijk.

Het evalueren en toepassen van de vernieuwingen op RT-PCR-gebied leidde tot een uiterst gevoelige RT-PCR-ELISA. Deze test laat toe zeer lage concentraties aan virus te detecteren en levert een tijdswinst op in vergelijking met de virusisolatietest voor lage virusconcentraties. We kunnen dus met nog meer zekerheid dieren en dierprodukten een MKZV-vrij label geven.

Différenciation génotypique des isolats de virus de la diarrhée bovine (BVD) par RT-PCR

Carine Letellier

Dans le cadre de la lutte contre les maladies virales du bétail, le contrôle de l'infection par le virus de la diarrhée bovine est un objectif primordial: en effet, des enquêtes sérologiques montrent une séroprévalence de 38 à 89%. En plus de la maladie aiguë, les veaux peuvent être infectés *in utero* de manière persistante. Ces animaux sont asymptomatiques et ne sont donc pas détectés par les contrôles sérologiques. Le pourcentage des animaux infectés de manière persistante (pi) est généralement faible dans les troupeaux (1 à 2 % en Belgique) mais est suffisant pour permettre la transmission du virus. Hormis les infections subcliniques, deux pathologies sont également attribuées au virus BVD: la maladie des muqueuses se développant chez certains animaux pi et le syndrome hémorragique. Celui-ci a principalement été décrit en Amérique du Nord mais des cas ont également été rapportés en Europe.

Le contrôle de l'infection par le BVDV repose sur l'utilisation simultanée de deux stratégies de lutte: le diagnostic et l'élimination des animaux pi, réservoirs du virus, d'une part, et la vaccination des troupeaux à l'aide de vaccins efficaces d'autre part.

Le virus BVD ainsi que ceux de la peste porcine et de la maladie des frontières du mouton (BDV) font partie de la famille des pestivirus. Cette classification est basée sur l'espèce animale infectée. La distinction entre ces virus est cependant plus complexe. Ils sont en effet capables de franchir la barrière d'espèces: le virus BVD peut en effet infecter les bovins, les ovins et les porcs. De plus, les isolats de BVD montrent une grande hétérogénéité tant du point de vue génotypique qu'antigénique. Sur base de comparaisons de séquences nucléotidiques, les souches de virus BVD ont été subdivisées en génotype I et II.
Le développement de mesures de contrôle du virus BVD nécessite donc une détection précise c'est-à-dire la mise en évidence des deux génotypes mais aussi la différenciation du BVDV des autres pestivirus.

Le but de notre étude a été la mise au point d'un test de détection du virus BVD par transcription inverse et réaction de polymérisation en chaîne (RT-PCR) afin de permettre la distinction entre le virus BVD et les autres pestivirus ainsi que la détermination du génotype des isolats de BVD circulant dans les troupeaux belges.

Ce test est basé sur l'utilisation d'amorces nucléotidiques localisées dans des régions conservées du génome des virus BVD mais pas des autres pestivirus. Nous avons choisi de travailler dans la région 5' non traduite car celle-ci semble la plus conservée. De plus, la séquence de cette région a été déterminée pour un grand nombre de souches de pestivirus.
Pratiquement, trois couples d'amorces ont été déterminés en fonction de l'homologie des séquences des pestivirus. Un premier couple est spécifique de tous les pestivirus. Un fragment d'ADN est donc amplifié à partir d'échantillons contenant du virus BVD mais également du virus BDV ou de la peste porcine. La confirmation de la présence de virus BVD ainsi que la détermination du génotype sont ensuite réalisés par RT-PCR au moyen de deux couples d'amorces. Ceux-ci permettent l'amplification d'un fragment d'ADN à partir de virus BVD de génotype I et II, respectivement. Par contre, le virus BDV et la peste porcine ne sont pas mis en évidence par ces réactions.

Les isolats de virus BVD que nous avons analysés au cours de ce travail avaient été préalablement testés par les méthodes de diagnostic utilisées en routine dans le laboratoire (immunofluorescence directe sur coupe d'organe et ELISA de détection d'antigène dans le sang des animaux pi). Sur les 107 échantillons prélevés entre 1991 et 1996, le test RT-PCR nous a permis de classer 94 isolats dans le génotype I et 12 dans le génotype II. Parmi ceux-ci, cinq provenaient probablement d'animaux pi, cinq ont été isolés à partir d'organes et un cas a été isolé de syndrome hémorragique. Nous n'avons pas pu retracer l'origine de deux isolats. La confirmation de cette classification a été obtenue après séquençage du fragment d'ADN provenant de dix isolats de type II. L'alignement de ces séquences et la construction d'un arbre phylogénétique ont montré la subdivision de ces isolats en deux sous-groupes au sein desquels les séquences sont très conservées, le premier regroupant huit souches belges et le second comprenant deux souches belges ainsi que des souches de type II isolées sur le terrain aux Etats-Unis et en Grande-Bretagne et comme contaminant d'une lignée cellulaire. L'origine des souches de type II diagnostiquées en Belgique n'est pas connue. On ne peut cependant pas exclure leur introduction via des vaccins à usage bovin, contaminés par du virus BVD. La circulation de virus BVD de type II en Belgique ne semble pas engendrer de problèmes spécifiques à l'heure actuelle. Cependant, le séquençage complet du génome d'une souche américaine a révélé une faible homologie avec les souches classiques de type I, notamment au niveau de la glycoprotéine E2, cible des anticorps neutralisants.

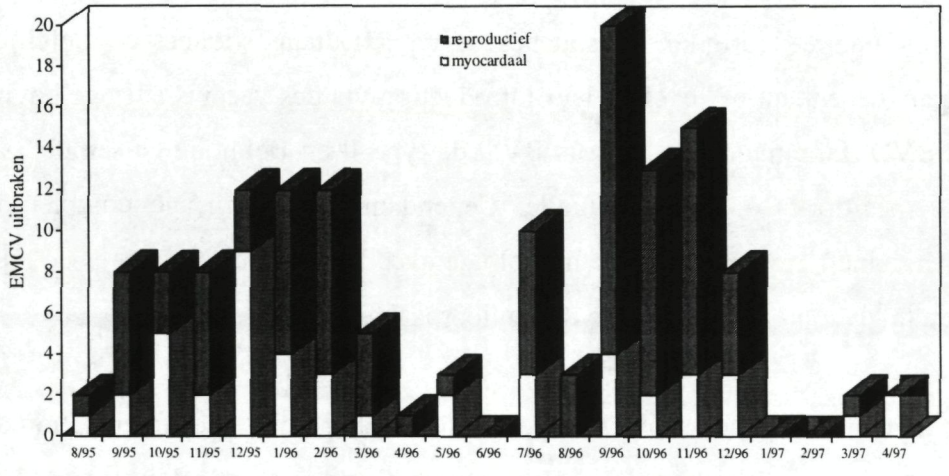
En conclusion, outre une très grande sensibilité, le test RT-PCR permet la différenciation du BVD des autres pestivirus. Ce test constituera un outil appréciable lors du développement d'un programme de contrôle de l'infection par le BVD.

Epidemiologische, pathogenische en moleculaire karakteristieken van recente uitbraken van encephalomyocarditis virus (EMCV)

Frank Koenen en Hans Vanderhallen

EMCV behoort tot het genus Cardiovirus, van de familie van de Picornaviridae. In knaagdieren, de natuurlijke gastheer, persisteert EMCV zonder opvallende klinische symptomen. Zowel het virus als antistoffen ertegen kunnen bij heel wat diersoorten aangetroffen worden. Bij varkens kan een EMCV infectie verschillende ziektebeelden induceren. In de literatuur worden zowel sterfte bij zuigende biggen, reproductiestoornissen bij drachtige zeugen (abortus, mummificatie) als plotse sterfte bij vleesvarkens, toegeschreven aan het EMCV. In Griekenland en Cyprus werd bij plotselinge sterfte van 3 maanden oude vleesvarkens het EMCV herhaaldelijk geïsoleerd.

Sinds 1991 wordt in België geregeld EMCV geïsoleerd in relatie met reproductiestoornissen. Het is echter pas sinds augustus 1995 dat EMCV geïsoleerd werd bij een uitbraak van acute sterfte van vleesvarkens op een bedrijf in West-Vlaanderen. Sedertdien werd de infectie in verschillende bedrijven vastgesteld, zowel bij vleesvarkens als bij zuigende biggen. In dezelfde periode werd het virus tevens op een aantal bedrijven met vruchtbaarheidsstoornissen aangetoond (Fig.1). Door het analyseren van de gegevens verzameld op verschillende geïnfecteerde bedrijven, door experimentele infecties en door de moleculaire karakteristieken van enkele representatieve isolaten te onderzoeken werd gepoogd een beter inzicht te krijgen in de epidemiologie van EMC.



Figuur 1 Evolutie van het aantal EMCV uitbraken in België, onderverdeeld in reproductiestoornissen of plotse sterfte bij vleesvarkens (myocardaal), tussen augustus 1995 en april 1997.

Klinisch beeld

Bij vleesvarkens was plotselinge sterfte, meestal na excitatie, het meest karakteristieke symptoom. Geregeld vertoonden enkele dieren een voorbijgaande paralyse of werd schreeuwen juist voor het sterven of dyspnee opgemerkt. De eerste uitbraak bij vleesvarkens werd vastgesteld tijdens een zeer warme periode. Het aantal uitbraken nam af naar het einde van de herfst en steeg weer vanaf het einde van de volgende zomer (Fig. 1). Tijdens de eerste uitbraak in vleesvarkens werd een sterfte van 25% in één stal vastgesteld. Alle varkens in deze stal waren rond de 70 kg en de overlevende dieren hadden een significante groeiachterstand. De sterfte bleef beperkt tot enkele hokken en de seroprevalentie in de volledige stal was 52%. In de aanpalende stallen die eveneens bevolkt waren met varkens van ongeveer 70 kg, was de sterfte lager en de seroprevalentie slechts 10%. In de overige stallen van dit bedrijf met varkens van 40 kg, 60 kg en 100 kg, werden geen klinische symptomen waargenomen. EMCV werd wel geïsoleerd uit de faeces van sommige dieren. Tijdens de andere uitbraken bij vleesvarkens schommelde het sterftecijfer rond 5% en was de sterfte beperkt tot enkele hokken per stal. Op één bedrijf werd de ziekte tweemaal gediagnosticeerd met een interval van 4 maanden.

Bij zuigende biggen werd de ziekte gekenmerkt door plotse sterfte tussen 3 dagen en 5 weken ouderdom. Meestal werden de dieren dood aangetroffen zonder voorafgaandelijke klinische symptomen en stierf de volledige toom. De verliezen manifesteerden zich gedurende maximum 10 weken en varieerden tussen 1 en 10 tomen per bedrijf.

Reproductieproblemen werden vastgesteld bij 5 à 10 zeugen per bedrijf. Abortus, mummificatie, dood - en zwakgeboren biggen met hoge mortaliteit werden vastgesteld. In gesloten bedrijven bleven de problemen meestal beperkt tot één leeftijdscategorie.

Sommige bedrijven waren geconfronteerd met een rattenplaag. In het eerste vleesvarkensbedrijf was dit zeer uitgesproken. EMCV werd geïsoleerd uit de organen en uit de faeces van deze ratten.

Een seroprevalentie van 3% werd vastgesteld na een *ad random* screening van 11.310 zeugen op 668 bedrijven in Oost- en West-Vlaanderen.

Letsels:

De macroscopische letsels stemden overeen met deze beschreven in de literatuur. Bij vleesvarkens waren enkele tot talrijke dikwijls vaag omlijnde wit-grijze letsels van variabele grootte (2 à 15mm) t.h.v. van de hartspier het meest typisch. De letsels waren discreter bij zuigende biggen dan bij vleesvarkens. Vochtophoping in de lichaamsholten en fibrinedraden in de buikholte werden ook geregeld opgemerkt. Bij foeti werden nooit typische hartletsels vastgesteld. Mummificatie kwam regelmatig voor. Histologisch werden zowel bij zuigende biggen als bij vleesvarkens duidelijke letsels, zoals in de literatuur beschreven, waargenomen. Bij vleesvarkens was een non-purulente interstitiële myocarditis het meest typisch. In ongeveer de helft van de gevallen was er dystrofische verkalking aanwezig. Bij zuigende biggen was een focale spiernecrose met picnose en fragmentatie van de spierkernen het meest karakteristiek. Bij enkele dieren werd een milde non-purulente meningo-encephalitis waargenomen.

Karakterisatie:

Er werden dierproeven uitgevoerd met drie verschillende Belgische EMCV isolaten: een EMCV isolaat dat in 1991 werd geïsoleerd uit een foetus en twee isolaten uit 1995: één van het hart van een vleesvarken en één van een foetus. De pathogeniciteit van deze 3 isolaten bleek specifiek gebonden te zijn aan een bepaalde leeftijdscategorie. De isolaten die in veldomstandigheden aanleiding gaven tot reproductieproblemen bleken onder experimentele omstandigheden geen typisch ziektebeeld bij vleesvarkens te veroorzaken. Omgekeerd induceerde het isolaat dat geïsoleerd werd uit een acuut gestorven vleesvarken geen reproductieproblemen bij drachtige zeugen. Het voorkomen van contactinfecties in deze experimenten bewees dat horizontale transmissie van EMCV in een varkenspopulatie mogelijk is.

Dezelfde drie EMCV isolaten werden ook op moleculair niveau gekarakteriseerd. Hiertoe werd de sekwentie bepaald van twee gebieden van het viraal genoom. Hieruit bleek dat de epizoötie die startte in augustus 1995 te wijten was aan een nieuwe virusintroductie in de Belgische varkenspopulatie. Een vergelijken van de aminozuursekwentie van het capside-eiwit VP1 van deze 3 EMCV-isolaten met het VP1 van de apathogene EMCV-referentiestam toonde aan dat dit eiwit mogelijkerwijs gebruikt kan worden als een merker voor de virulentie van EMCV.

Conclusie:

De huidige studie toont aan dat zowel varkens als ratten het EMCV kunnen verspreiden. Deze verspreiding blijft beperkt binnen een bedrijf, wat een mogelijke verspreiding door ratten in een bedrijf relativeert. Er werd eveneens aangetoond dat de uitbraken van na 1995 te wijten zijn aan een andere EMCV-stam dan deze van 1991. Deze laatste werd sinds 1994 niet meer in België

geïsoleerd. Momenteel circuleren in België verschillende EMC virussen die nauw verwant zijn op moleculair niveau, maar die een totaal verschillend klinisch beeld kunnen veroorzaken. De sekwentiebepaling van het capside-eiwit VP1 laat toe virulente van avirulente EMCV-isolaten te onderscheiden, maar de moleculaire basis voor het verschil in pathogeniciteit, myocardaal versus reproductief, dient nog ontrafeld te worden.

Daar EMCV momenteel vrij circuleert in de Europese varkenspopulatie, kan het een ideaal natuurlijk voorkomend model zijn om de karakteristieken van een opduikende ziekte te bestuderen.

Les *Escherichia coli* productrices de cytotoxines nécrosantes (CNF) en pathologie bovine.

Pierre Pohl

En 1983, Caprioli isola à partir de selles de nourrissons souffrant d'entérites, des souches colibacillaires qui produisaient une toxine provoquant la multinucléation des cellules Vero et HeLa (dans sept échantillons sur 123 examinés). Plus tard, on découvrit que cette toxine possédait des propriétés dermo-nécrosantes et elle fut désignée "cytotoxic necrotizing factor" ou CNF.

Puis des souches possédant ces mêmes propriétés furent isolées chez les porcs (Gonzalez, 1985), les veaux (De Rycke, 1987) et bien d'autres mammifères dont en particulier les agneaux, les chèvres, les cerfs, les chevaux, les chiens et les chats (Pohl, et al, 1993). Certains sérotypes de colibacilles CNF+, tels O2, O4 et O6, sont communs à l'homme et aux animaux et il est dès lors possible que les animaux constituent des réservoirs potentiels de souches pathogènes pour l'homme.

Les travaux de De Rycke et al (1987,1989,1990) ont montré qu'il existe deux types de toxines CNF (CNF1 et CNF2) qui sont apparentées mais diffèrent entre elles par des propriétés antigéniques et biologiques. Les colibacilles producteurs de CNF1 s'observent chez l'homme et de nombreuses espèces de mammifères, tandis que ceux qui produisent CNF2 n'ont jusqu'à présent été observés que chez les ruminants.

Jusqu'aux années 1990, la détection des toxines CNF était longue et laborieuse et ne fut pratiquée que dans un nombre restreint de laboratoires spécialisés. Depuis Oswald et al, (1994) mirent au point des techniques d'hybridation puis de PCR qui permirent de démontrer que le rôle des colibacilles CNF en pathologie bovine avait été très largement méconnu (Oswald et al; 1991; Pohl et al., 1992).

Nos études sur les *Escherichia coli* productrices de toxines CNF se poursuivent en étroite collaboration avec l'ULg (Drs J. Mainil et B. China), l'ENV de Toulouse (Drs J. De Rycke et E. Oswald) et nos confrères des Laboratoires Vétérinaires Provinciaux (en particulier J. Bughin à Marloie, B. Limbourg à Erpent et J. Hommez à Torhout).

Dans le cadre d'un projet européen (auquel le CERVA est associé comme sous contractant) nous caractérisons également des colibacilles CNF provenant du Canada (Dr J. Fairbrother), d'Irlande (Dr H. Ball) de France (Dr J. De Rycke) et d'Italie(Dr I. Ansuini).

L'étude de ces germes est donc un nouveau domaine de recherche qui débouchera sur une meilleure compréhension des pathologies infectieuses en Médecine vétérinaire et ses implications pour la santé du consommateur.

Nous présentons ci-dessous les résultats déjà engrangés et les questions qu'il nous reste à résoudre.

Prévalence des *E.coli* CNF

Nos observations couvrent actuellement plus de mille souches d'origine bovine. Elles montrent clairement qu'il existe une association entre la présence de colibacilles CNF1 et des cas d'infections intestinales et extra-intestinales chez les veaux: diarrhées, septicémies, pneumonies. Ils suggèrent également une association entre ces germes et des cas d'avortements, de métrites et de diarrhées chez les bovins adultes. Nous n'avons pas observé de colibacilles CNF1 chez les veaux sains, par contre 5% de ces germes ont été isolés à partir d'animaux adultes asymptomatiques.

Les colibacilles CNF2 sont présents en plus grand nombre dans les fèces de bovins sains (veaux ou adultes) que dans celles de bovins souffrant de diarrhée. Ils sont peut-être des habitants saprophytes de leur flore intestinale. Par contre, ils sont nombreux dans les cas de pneumonies des veaux et de métrites des vaches.

Nous suggérons que les souches CNF+ observées chez les animaux malades possèdent des facteurs de virulence que ne possèdent pas celles qui sont observées chez les animaux sains. Nous tenterons de vérifier cette hypothèse.

Facteurs de virulence associés aux *E.coli* CNF

Les résultats présentés ci-dessous ne concernent que des souches provenant de bovins malades. Elles seront à compléter par l'étude des souches provenant d'animaux sains afin de contrôler l'hypothèse émise plus haut.

Souches productrices de la toxine CNF1

Les colibacilles CNF1 forment un groupe hétérogène. Elles se répartissent en au moins huit séroypes, cinq biotypes et cinq pathotypes différents.Elles ne possèdent pas les gènes codant pour

les entérotoxines STaP, STb, LT-I et LT-IIa, ni pour les vérotoxines VT-I et VT-II. Elles ne sont pas agglutinées par les sérums anti-adhésines "classiques" F5(K99), F17(Att25) ni Att111. Elles forment donc une nouvelle variété de colibacilles pathogènes.

Nonante pour cent d'entre elles produisent une aérobactine et résistent au complément et doivent dès lors être considérées comme potentiellement septicémiques. Parmi elles, 34% adhèrent aux villosités intestinales du veau grâce à une adhésine appartenant à la famille Pap (Mainil et al, 1996) et sont donc aptes à coloniser le tractus digestf. Ces propriétés rendent compte vraisemblablement de leur intervention dans des infections extra-intestinales (souches aérobactine+ et résistantes au complément) et intestinales (souches adhérentes aux villosités).

Souches productrices de la toxine CNF2

Les colibacilles qui produisent la toxine CNF2 forment un groupe encore plus hétérogène que ceux qui produisent CNF1.On y distingue au moins 12 sérotypes différents. Sauf exceptions mentionnées ci-dessous, elles ne produisent pas les entérotoxines STaP, Stb, LT-I et LT-II, ni les vérotoxines VT-I et VT-II. Elles ne produisent pas non plus l'adhésine F5(K99). Il s'agit là aussi de nouvelles variétés de colibacilles dont certaines sont pathogènes et qui appartiennent à des classes qui n'avaient pas été définies jusqu'à présent

Elles se répartissent entre cinq pathotypes qui sont mentionnés au tableau I

Tableau I - Pathotypes des *Escherichia coli* productrices de la toxine CNF2

Groupes	Aérobactine + Résist./complé.	Toxines	Adhés.Villosit.	Pourcentages
I	+	CNF2	+	20%
II	+	CFN2	-	35%
III	-	CFN2	+	20%
IV	-	LT-II + CNF2	+	11%
V	-	CNF2	-	13%

Les souches appartenant au groupe I (productrices d'aérobactine, résistantes au complément et adhérentes aux entérocytes) sont vraisemblablement septicémiques et colonisatrices. Celles appartenant au groupe II (productrices d'aérobactine et résistantes au complément) sont vraisemblablement systémiques.Celles du groupe III sont colonisatrices, mais leur pouvoir

pathogène n'est pas établi; toutefois, du fait que la toxine CNF2 possède des propriétés entérotoxiques et que ces souches adhèrent aux entérocytes, elles sont peut-être assimilables à une nouvelle variété d'ETEC. Celles du groupe IV correspondent à des "ETEC-like" que nous avons décrites précédemment. Les souches qui adhèrent aux villosités du veau possèdent généralement des adhésines appartenant aux familles F17 ou Afa (Mainil et al, 1996). Les colibacilles des groupes I à IV possèdent donc des batteries de facteurs de virulence qui pourraient être impliqués dans le déclenchement de divers processus pathologiques. Par contre, il n'en va pas de même des colibacilles du groupe V, dont le pouvoir pathogène éventuel reste à démontrer.

Conclusions:

Les *Escherichia coli* CNF+ forment un ensemble extrêmement divers. Des arguments épidémiologiques et la recherche de facteurs de virulence semblent montrer qu'il existe dans ce groupe des souches pathogènes et d'autres qui ne le sont pas.

Les recherches futures doivent s'orienter vers une meilleure définition des variétés pathogènes, la compréhension de leur pathogénie, les moyens de les diagnostiquer et de prévenir les infections dont ils sont responsables et enfin de préciser dans quelle mesure ils pourraient constituer une menace pour la santé publique.

Nieuwe virulentiefactoren betrokken bij de pathogeniciteit van *Salmonella* Enteritidis en *Salmonella* Typhimurium

Marina De Filette

Het virulente fenotype van entero-pathogenen kan vaak toegeschreven worden aan de aanwezigheid van bepaalde genen die niet aangetroffen worden bij niet-pathogene stammen. Dergelijke genen, die naast de virulente eigenschappen van een pathogeen ook het ziektepatroon na de infectie bepalen, zijn dikwijls gegroepeerd in "Pathogenicity Islands".

Salmonella infecties zijn een wereldwijd probleem voor volksgezondheid en diergeneeskunde. Naargelang de omstandigheden, zoals de immunologische afweer van de gastheer, kan de bacterie verschillende ziektepatronen induceren. Zo zijn *S.* Enteritidis en *S.* Typhimurium meestal geassocieerd met gastro-enteritis, een gelokaliseerde inflammatoire respons van de darm.

Een belangrijke virulentiefactor voor *Salmonella* species is hun vermogen om gastcellen binnen te dringen. In *S.* Typhimurium werden reeds een aantal *Salmonella* specifieke sequenties geïdentificeerd, o.a. de *spa* en *inv* genclusters, die noodzakelijk zijn voor de invasie van *Salmonella* in niet-fagocyterende cellen. Het *inv/spa* locus, dat een "pathogenicity island" van 40 kb vormt, bevat genen die coderen voor de verschillende componenten van een type III secretiesysteem en zijn substraten. Type III secretiesystemen werden reeds geïdentificeerd bij andere pathogenen zoals *Shigella* (Ipa proteïnen), *Yersinia* (Yop proteïnen) en enteropathogene *E. coli* (EspB), waar zij telkens betrokken zijn bij de secretie van moleculen die interageren met de cellen van de gastheer. Ondanks de sterke homologie tussen de componenten van al deze secretiesystemen (het ATPase, het membraan geassocieerde translocase, enz.) zijn de gesecreteerde eiwitten sterk verschillend.

In *S.* Typhimurium werden reeds een aantal van deze gesecreteerde eiwitten, de Sip proteïnen, geïdentificeerd. Zij worden gecodeerd door het *sicA/sipBCDA* operon, dat stroomafwaarts van de *spa* locus gelegen is. Via mutagenese werd aangetoond dat InvJ, SipB, SipC en SipD essentieel zijn voor het binnendringen van *Salmonella* in epitheliale cellijnen. (Mutanten in het *sipA* gen zijn even virulent als de wilde type stam). Sip proteïnen worden echter niet alleen *in vitro*, maar ook *in vivo* (in de gastheer) uitgescheiden door de *Salmonella* bacterie. Serum van SPF (specified pathogen free) kippen, die experimenteel werden geïnfecteerd met *S.* Enteritidis en *S.* Typhimurium bevatten hoge titers van anti-Sip antilichamen. Daarnaast hebben we ook vastgesteld dat *sipC* aangetroffen wordt bij de meeste *Salmonella* serotypes. Dit maakt van SipC een ideale kandidaat voor de ontwikkeling van een *Salmonella* specifieke diagnostische test, die moet toelaten in serum

van verschillende dierlijke oorsprong, SipC antilichamen te detecteren. De aanwezigheid in het serum van SipC antilichamen duidt immers op een besmetting met SipC secreterende *Salmonella*.

Eind 1996 werd een tweede gencluster geïdentificeerd dat essentieel is voor de virulentie van *Salmonella*. Dit nieuwe "Pathogenicity Island" omvat het *spiCAB* operon, dat codeert voor de componenten van een tweede type III secretiesysteem, en daarnaast een regulatorisch gen, *spiR*. gen. De *spi* genen zijn noodzakelijk voor de overleving van de *Salmonella* in macrofagen. Dit is een belangrijke stap in de pathogenese van *Salmonella*. Mutanten in het *spiA* gen zijn even invasief als de wilde type stam, maar zijn niet meer in staat om lethale infecties te veroorzaken in muizen. Het Spi type III secretiesysteem exporteert dus proteïnen die *Salmonella* toelaten te overleven in macrofagen, mogelijk door modificatie van gastheerfactoren die noodzakelijk zijn voor de fagosoom-lysozoom fusie.

Verder onderzoek zal toelaten andere eiwitten te identificeren die uitgescheiden worden via het Spi type III secretiesysteem.

Développement d'outils de diagnostic et de prophylaxie médicale pour le contrôle de la paratuberculose bovine

Jacques Godfroid et Karl Walravens

La paratuberculose est une maladie enzootique, affectant les ruminants, et dont l'agent étiologique est *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (*M. avium* subsp *paratuberculosis*). Cet agent pathogène est responsable d'importantes pertes économiques pour l'élevage bovin. Les répercussions de cette maladie sont particulièrement perceptibles dans les exploitations laitières (chute du rendement laitier, réforme précoce des animaux,...).

Le diagnostic étiologique de la paratuberculose est difficile: les tests indirects n'ont que peu de sensibilité et la culture bactérienne est très longue (jusqu'à 8 mois). La faible sensibilité des méthodes de diagnostic rend difficile le dépistage de foyers de paratuberculose et ne permet pas de développer des stratégies d'assainissement de ceux-ci. En conséquence, dans certaines exploitations, le contrôle de la maladie fait appel à la vaccination. Celle-ci induit des réactions positives lors du contrôle de la tuberculose bovine et est, dès lors, d'utilisation limitée et réglementée. Par ailleurs, de nombreuses questions concernant l'existence de réservoir(s), la circulation des souches entre les exploitations bovines ou entre les différentes espèces domestiques restent sans réponse. En conséquence, le contrôle de la paratuberculose est rendu très difficile et la mise en place d'un plan de lutte efficace passe par l'amélioration des techniques de diagnostic et de prophylaxie médicale.

Amélioration des techniques de diagnostic

La recherche fondamentale et appliquée en paratuberculose a permis de développer de nouveaux outils pour le diagnostic direct (PCR) et indirect (sérologie et tests IFN-γ) de cette maladie.

Pour le dépistage, la sérologie reste la technique de diagnostic la plus pratique. Cependant, les tests ELISA disponibles commercialement restent peu sensibles (environ 20-25% de sensibilité). Ce niveau de sensibilité, s'il permet d'améliorer le diagnostic d'exploitation par rapport aux tests plus anciens (test de fixation du complément; environ 6% de sensibilité), n'est pas suffisant pour le diagnostic individuel. Dans les phases précoces de la maladie, l'infection par *M. avium* subsp.

paratuberculosis restant limitée aux muqueuses intestinales, le dosage d'Ig sécrétoires permettrait de détecter plus précocement l'infection.

En ce qui concerne les tests de dosage de la réponse à médiation cellulaire, le test IFN-γ a montré tout son potentiel. L'identification des antigènes T majeurs de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* permettrait d'améliorer la spécificité et la sensibilité de ce test. Parallèlement l'évaluation du dosage d'autres cytokines caractéristiques d'une réponse de type Th2 permettrait d'étendre le spectre de détection des réponses cellulaires développées suite à l'infection. Par analogie avec la lèpre chez l'homme, il est probable qu'en paratuberculose, les animaux en phase clinique de la maladie développent une réponse humorale associée à une réponse cellulaire de type Th2.

Le diagnostic direct reste la technique de référence pour l'identification des fermes et des animaux infectées par *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. De plus, cette technique permet de détecter les animaux excréteurs à réformer. La mise au point et l'évaluation de méthodes PCR a montré que cette technique était plus rapide mais moins sensible que la culture sans doute à cause de la présence d'inhibiteurs de PCR très nombreux dans les matières fécales. L'amélioration de la sensibilité de cette technique peut toutefois s'envisager par l'utilisation d'une stratégie de PCR en deux étapes successives (nested PCR) et/ou par l'amélioration des méthodes de purification de l'ADN bactérien.

La détection des mycobactéries dans les matières fécales peut être également réalisée à l'aide de techniques immunologiques. Des anticorps spécifiques dirigés contre des antigènes de surface de la mycobactérie peuvent être utilisés afin de développer un test de capture/révélation des mycobactéries dans les matières fécales. Les mycobactéries pourront être capturées sur un support solide (billes ou tigelles) où leur présence sera révélée par agglutination des particules (technique PACIA), ou à l'aide d'un chromogène précipitant, ou par l'analyse au FACS de molécules fluorescentes couplées à l'anticorps de révélation.

Développement de vaccins de nouvelle génération

Vu la prévalence de l'infection, un plan de lutte organisée ne peut se concevoir sans recours à la vaccination. Les vaccins classiques interfèrent avec le diagnostic de la tuberculose et de la paratuberculose. Dès lors le développement d'un vaccin contre la paratuberculose, qui n'interfère pas avec ces diagnostics est nécessaire. La stratégie vaccinale que nous allons développer, se base

sur les résultats de l'équipe du Dr. K. Huygen (IP/IHE). Ce laboratoire a développé un vaccin anti-tuberculeux à base d'ADN qui a montré son efficacité protectrice dans le modèle murin. En outre ce type de vaccination n'induit pas, chez la souris vaccinée, de réaction d'hypersensibilité retardée lors de l'administration de l'antigène PPD *M. bovis*. Ces résultats extrêmement encourageants pour la tuberculose dégagent également des perspectives intéressantes pour la paratuberculose.

Epidémiologie moléculaire de la paratuberculose

Une meilleure compréhension de la dynamique de la circulation des germes permettra de développer des stratégies de lutte intégrée sur des bases scientifiques. La recherche d'outils permettant d'étudier le polymorphisme des génomes est l'un des domaines d'application des techniques de biologie moléculaire les plus importants en bactériologie. Ces travaux permettront de développer des techniques de typage moléculaire des souches *de M. avium* subsp. *paratuberculosis* dans le but de répondre aux questions relatives à l'origine de l'infection et à la circulation des germes entre les exploitations.

Ontwikkeling van een diagnostische test tegenover entero-pathogene Escherichia coli (EPEC) bij vleeskonijnen

Dominique Vandekerchove en Alfons Callebaut

Colibacillose, veroorzaakt door enteropathogene *Escherichia coli* (EPEC), vormt naast coccidiose en *Clostridium spiroforme* enterotoxemie de belangrijkste bron van economische verliezen door spijsverteringsstoornissen bij konijnen. Deze verliezen worden veroorzaakt door sterfte, groeivertraging en ongunstige voederomzet.
De voorbije vijf jaar is er gewerkt aan de ontwikkeling van een serologische test die een snelle en relatief goedkope opsporing van gezond uitziende dragers van EPEC en dus mogelijke verspreiders van de ziekte mogelijk moet maken.

De TT-band en de AM-band

De resultaten bekomen in de voorbije twee jaar omvatten onderzoek en partiële zuivering door continue elutie-elektroforese van twee eiwitten. De eerste eiwitband, die we "TT-band" genoemd hebben, bevat het *eae*-genproduct en is kenmerkend voor EPEC-stammen. Het is niet aanwezig in niet-pathogene *E.coli.* Het tweede eiwit, dat we de naam "AM-band" gaven naar de ontdekker Prof. A. Milon, is kenmerkend voor EPEC van het pathotype 8+/O103. Beide eiwitten zijn potentieel interessant voor gebruik in een ELISA.

De AM-band werd geïdentificeerd en partieel gezuiverd met de bedoeling het samen met de TT-band in een diagnostische test te gebruiken. Het bleek echter dat de partieel gezuiverde AM-band kruisreacties vertoont met *Salmonella enteritidis, Serratia marcescens* en *Klebsiella pneumoniae.* Op basis van deze gegevens werd besloten niet met de AM-band verder te werken.
Ook voor de partieel gezuiverde TT-band werd nagegaan of er kruisreacties bestonden met andere pathogene organismen. Er werden geen kruisreacties gezien met de geteste virale, parasitaire en bacteriële antigenen, afgezien van een niet-reproduceerbare kruisreactie met *Cryptosporidium parvum.* Daarom werd een ELISA-test ontwikkeld op basis van microtiterplaten gecoat met dit antigeen. Toen bemoedigende resultaten werden bekomen met positieve en negatieve referentiesera, werd eerst getracht het eiwit verder te zuiveren.

Tweedimensionele elektroforese en intimine

Er werden tweedimensionele electroforeses en immunoblots uitgevoerd met de partieel gezuiverde TT-band afkomstig van de referentiestammen van 6 verschillende *E.coli* pathotypes. Deze experimenten werden uitgevoerd door de dienst van Dr. A. Callebaut.

De TT-band bleek uit een vrij groot aantal eiwitten te bestaan, gaande van zuur tot basisch. Al deze eiwitspots werden na immunoblotting herkend door het immuunserum opgewekt tegen de TT-band. Dit werd vastgesteld bij al de onderzochte stammen.

De 2D-elektroforese werd nogmaals uitgevoerd met de 6 EPEC-stammen, waarna de eiwitten geblot werden. Het membraan werd dan behandeld met een fusieproteine-antiserum van T. Agin (Walter Reed Army Institute of Research, Washington D.C.). Dit antiserum werd gemaakt tegen een fusie van een maltose bindend eiwit en het C-terminaal gedeelte van intimine afkomstig van de konijnenstam RDEC-1. De 2D-elektroforese gebeurde met IPG-strips voor IEF en SDS-PAGE gels van Pharmacia.

Bij alle geteste stammen (pathotypes 1+/O109, 2+/O128, 2+/O132 en 3-/O15) werd een gelijkaardig patroon gevonden : een reeks eiwitten aan de basische kant die herkend worden door het fusieproteine-antiserum en een reeks neutrale tot zure eiwitten die niet herkend worden door dit antiserum. Om de resolutie en de opbrengst te verbeteren werd er overgegaan tot het gebruik van zelfgemaakte gels voor de tweede dimensie (SDS-PAGE), samen met een aangepaste zilverkleuring.

De TT-band van de geteste pathogene stammen bleek nu te bestaan uit minstens een dertigtal chemisch verschillende eiwitten, waarvan 6 tot 8 spots gelokaliseerd waren aan de basische kant van de gel, overeenkomstig het theoretische pI van intimine. Alleen deze zeer basische eiwitten werden herkend door het fusieproteine-antiserum, waarbij tussen de verschillende stammen variatie optreedt in het aantal spots dat herkend wordt. De intensiteit en het aantal intiminespots bij de stam met het pathotype 8+/O103 waren relatief gezien geringer. Er werd getracht de basische eiwitten te scheiden van de rest met microbore-kationchromatografie, maar de intimines werden teruggevonden in de doorloop samen met het grootste deel van de andere eiwitten.

Omdat het rendement van de isolatie via continue elutie-elektroforese laag is en de techniek vrij traag, hebben we 2D-elektroforese gedaan op ruwe kiemextracten in de hoop voldoende intense

intiminespots te kunnen lokaliseren voor het uitvoeren van een aminozuuranalyse. De concentratie van de intimine-eiwitten bleek hiervoor echter te laag.

Verzamelen van experimentele sera en veldsera

Er werden infectie-experimenten uitgevoerd met stammen behorend tot de 6 belangrijkste *E.coli* pathotypes en met 3 niet-pathogene stammen, waarbij elk dier individueel bacteriologisch werd gevolgd en elke twee weken een serumstaal werd genomen. Deze sera werden in de ELISA-test gebruikt. Bijkomend werd een aantal slachthuisbezoeken afgelegd voor het verzamelen van een reeks veldsera, m.a.w. sera van dieren die op natuurlijke wijze in contact zijn gekomen met pathogene en niet-pathogene *E.coli*. Tegelijk werden er meststalen genomen om de serologisch bekomen resultaten van de ELISA te kunnen vergelijken met de resultaten bekomen met bacteriologisch onderzoek van de meststalen. Op die manier kon de betrouwbaarheid van de ELISA-test worden nagegaan.

ELISA-resultaten op basis van de TT-band

De ELISA op basis van de TT-band werd uitgetest met al de beschikbare experimentele en veldsera, en aan de hand van de bekomen gegevens komen we tot de volgende conclusies.

-De ELISA-test op basis van de TT-band geeft waardevolle resultaten maar moet nog verder verfijnd worden. Er worden immers een aantal vals positieve en vals negatieve reacties waargenomen, waardoor het niet altijd mogelijk is een duidelijk onderscheid te maken tussen EPEC-positieve en EPEC-negatieve bedrijven.

-Verdere verfijning van de test zou bekomen kunnen worden door te werken met zuiver intimine in plaats van de partieel gezuiverde TT-band, die behalve contaminerende banden ook nog andere eiwitten bevat die niet homoloog zijn aan intimine.

-Het bekomen van zuiver intimine kan nagestreefd worden door het ontwikkelen van monoclonale antistoffen, die gebruikt kunnen worden in een zuiveringsprocedure op een affiniteitskolom of in een sandwich-ELISA.

-Eens de ELISA op basis van intimine ter onzer beschikking staat, kunnen de proeven met de experimenteel verkregen sera en met de veldsera herhaald worden, en kan de gevoeligheid en de specificiteit van de test definitief bepaald worden.

-Herhaling van de testen met een ELISA op basis van zuiver intimine moet ook toelaten een duidelijker scheidingslijn te trekken tussen positief en negatief reagerende bedrijven.

-Verder dient er nadruk gelegd te worden op het feit dat voor het EPEC-vrij verklaren van een fokbedrijf de resultaten bekomen met de ELISA geen absolute garanties biedt tenzij het bedrijf voldoende regelmatig, bijvoorbeeld om de drie maand, bemonsterd wordt.

Les vaccins à base d'AND

Bénédicte Lambrecht et Thierry van den Berg

La "vaccination génétique" ou, comme l'a recommandé l'OMS, "vaccination à base d'acides nucléiques" a connu un essor considérable ces cinq dernières années. Elle fait référence à l'injection *in vivo* d'acides nucléiques codant pour une ou des protéines antigéniques dans le but d'induire une réponse immunitaire spécifique. Les vaccins à base d'ADN sont classiquement composés de plasmides bactériens, ADN doubles brins dérivés d'E.*coli* et contenant d'une part une origine de réplication bactérienne et un marqueur de sélection permettant d'assurer leur production dans les bactéries et, d'autre part, une unité de transcription eucaryote permettant l'expression d'un gène d'intérêt dans l'animal. Mis sous contrôle d'un promoteur fort (le plus souvent issu du cytomégalovirus), ce gène est transcrit, puis traduit, permettant ainsi l'expression de la protéine ou de l'antigène choisi. L'ADN plasmidique peut être injecté par voie intramusculaire, en solution saline, au moyen d'une seringue, ou par voie intradermique, après fixation sur des billes d'or, propulsé dans la peau de l'animal à l'aide d'un pistolet appelé *gene gun*. L'ADN, après pénétration dans les cellules proches du point d'injection, persiste dans celles-ci sous forme épisomale. Une synthèse permanente d'antigène est alors induite provoquant une stimulation constante des cellules du système immunitaire. Ce mode de vaccination, en imitant ce que l'on peut observer lors d'une infection virale, permet ainsi le découpage des protéines et leur présentation à la surface des cellules "transfectées" sous forme de peptides associés aux molécules du CMH de classe I. La capture des protéines solubles (synthétisées et relarguées par les fibres musculaires ou les cellules du derme transfectées) est assurée par des cellules "professionnelles" (cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes B) qui permettent la présentation de l'antigène dans le contexte des molécules du CMH de classe II. Des réponses T helper ont ainsi été mises en évidence dans de nombreuses études d'immunisation à base d'ADN, que celui-ci soit injecté par voie intramusculaire ou par voie intradermique. D'une manière générale, on observe une orientation de la réponse vers l'induction de lymphocytes de type Thl après des injections intramusculaires d'ADN et de type Th2 si la voie intradermique (*gene gun*) est utilisée. Depuis la première description de l'induction d'une réponse immune après injection de vecteurs plasmidiques, des progrès considérables ont été réalisés tant dans la compréhension des réponses immunitaires stimulées par ce mode de vaccination que dans la mise au point de nouveaux vaccins ou encore dans l'amélioration de vaccins existants. En effet, la stimulation efficace des deux bras de la réponse immunitaire, et plus spécifiquement l'induction de lymphocytes T cytotoxiques et la production d'anticorps à long terme, est un atout majeur de cette nouvelle technologie.

Dans la plupart des modèles d'immunisation à base d'ADN, on a pu mettre en évidence des anticorps spécifiques des protéines produites à partir du vecteur. Néanmoins, les réponses humorales peuvent varier considérablement d'un modèle à l'autre. Par exemple, dans notre laboratoire, une seule injection intramusculaire (100 µg) chez la souris d'un vecteur codant pour la protéine VP2 du virus de la maladie de Gumboro (IBDV) a été suffisante pour induire des anticorps spécifiques. Les titres de ces anticorps augmentent de manière continue pendant environ 8 semaines puis restent stables pendant plus de 12 mois. La réponse humorale obtenue chez les souris atteint alors des titres largement supérieurs à ceux qui sont requis chez la volaille pour conférer la protection.

Par contre, dans la pratique sur animaux domestiques, de multiples injections sont le plus souvent nécessaires pour obtenir des titres en anticorps compatibles avec la protection. En effet, malgré des résultats très encourageants obtenus chez les animaux de laboratoire (généralement la souris), certains problèmes doivent encore être résolus avant de pouvoir envisager réellement ce type de vaccination en médecine vétérinaire. Outre la voie d'immunisation et la nature de l'antigène mis en jeu, la quantité d'ADN injectée pourrait elle aussi jouer un rôle important. En effet, si généralement 100 µg d'ADN sont injectés par voie intramusculaire à la souris, ces doses ne semblent pas suffisantes pour des animaux de taille supérieure. Des études récentes ont montré que l'ADN en tant que plasmide aurait lui-même un rôle d'adjuvant et serait impliqué dans la polarisation de la réponse T-auxiliaire par ses propriétés intrinsèques à stimuler la production d'interféron γ et d'IL12 et à activer les cellules B. Par contre, la méthode d'injection intradermique de l'ADN après fixation sur des microbilles d'or permet de réduire considérablement les doses d'ADN injectées (de l'ordre du microgramme chez la souris). Dans notre laboratoire, différents essais de vaccination ont été faits chez la volaille dans le cadre de la maladie de Gumboro. Les résultats, quoiqu'encourageants, ne dépassèrent pas 50 à 60 % de protection contre une épreuve hypervirulente. Tous les individus ayant séroconverti furent protégés contre la mortalité et, à des degrés divers, contre la destruction de la bourse de Fabricius, démontrant l'induction d'anticorps neutralisants. A l'heure actuelle, bien qu'une séroconversion de 100% ont été observée chez les souris immunisées de cette manière, les essais utilisant le *gene-gun* chez la volaille n'ont pas permis d'augmenter la réponse, suggérant que l'induction d'une réponse immune ne soit pas que dose-dépendante. Dès lors, le problème à résoudre semble plutôt de nature génétique. En effet, contrairement aux souris utilisées au laboratoire, les animaux domestiques ne constituent pas des espèces syngéniques et une variation individuelle parfois importante est observée dans la réponse immune. Un certain nombre d'améliorations pour augmenter l'efficacité des vaccins génétiques sont actuellement envisagées comme l'utilisation de formulations telles que des liposomes ou des

molécules compactant l'ADN, permettant ainsi d'accroître sa pénétration et sa stabilité dans les cellules. En construisant des adjuvants dits "génétiques" sous forme de plasmides codant pour des cytokines ou des molécules costimulatrices, les expérimentateurs ont à nouveau utilisé la méthodologie d'injection d'ADN pour augmenter la réponse immune. La coinjection d'un plasmide codant pour le GM-CSF *(granulocyte macrophage-colony stimulating factor)* et pour la glycoprotéine du virus de la rage a permis par exemple de stimuler la réponse humorale et cellulaire contre cette protéine. Dans notre laboratoire, le gène codant pour le cMGF (*chicken Myelomonocytic Growth Factor)* et ceux de l'IFNγ et de l'IL2 aviaires ont été clonés et seront testés sous peu pour leur effet adjuvant. La nature de l'ADN vecteur pourrait être aussi la source d'un effet adjuvant puisqu'il a été montré que la coinjection d'ADN avec un antigène est à la base de l'orientation de la réponse T, du type Th2 avec la protéine seule, vers un profil Thl lorsque celle-ci est coinjectée avec de l'ADN. En plus, certaines séquences d'ADN bactérien (motifs CpG) ont un effet d'activation non spécifique du système immunitaire par induction de cytokines; la composition de l'ADN vecteur pourrait dès lors être également un élément à considérer lors de la mise au point d'un vaccin génétique.

Un autre intérêt de la vaccination génétique réside dans la production de polysérums hautement spécifiques et d'anticorps monoclonaux (Mabs) sans devoir produire et purifier la protéine immunisante. En effet, l'injection du seul gène d'intérêt permet une immunisation par une protéine néosynthétisée parfaitement pure, facilitant la détection et augmentant les chances d'avoir des anticorps spécifiques. Dans notre laboratoire, cette méthode nous a notamment permis d'obtenir des Mabs spécifiques de l'IFNγ du poulet, dont certains s'avèrent neutralisants.

Un avantage supplémentaire des vaccins à ADN en médecine vétérinaire est leur insensibilité à la neutralisation par les anticorps circulants, notamment les anticorps passifs d'origine maternelle qui interfèrent souvent avec l'établissement des schémas de vaccination. Un vaccin qui permettrait au minimum d'amorcer ("priming") une réponse immune en présence d'anticorps passifs serait d'un intérêt considérable notamment dans le cadre de la maladie de Gumboro où la vaccination du poulet de chair est devenue une nécessité et l'établissement de la date de vaccination un réel problème.

Traditionnellement, les vaccins étaient composés d'agents pathogènes inactivés ou atténués. Depuis l'avènement du génie génétique, on a vu apparaître des vaccins composés seulement de sous-unités d'agents pathogènes, voire de fragments peptidiques. Les vaccins à base d'ADN ressemblent aux vaccins sous-unitaires par leur composition et aux vaccins vivants atténués par la

capacité qu'ils ont à induire la synthèse *in vivo* des antigènes chez l'individu immunisé. Les avantages majeurs des vaccins à base d'ADN sont:

1) l'expression à long terme des gènes transférés qui permet une stimulation constante du système immunitaire, même en présence d'anticorps circulants,
2) l'induction d'une réponse de type cytotoxique due à la synthèse *in vivo* de l'antigène donnant aux vaccins génétiques l'avantage des vaccins vivants sans pour autant présenter des risques d'infections chez des individus immunodéprimés ou de réversion à la virulence,
3) la facilité avec laquelle on peut les manipuler permettant de modifier les gènes (insertion de signaux, mutagenèse dirigée) et de les combiner (variabilité génétique, vaccins multivalents),
4) la stabilité de l'ADN à la chaleur et la possibilité de le lyophiliser qui présentent un intérêt économique et logistique considérable.

En conclusion, de par la simplification ultime qu'elle représente, cette nouvelle méthodologie constitue un outil de recherche fabuleux dans l'élaboration de nouveaux vaccins.

Comportement des pesticides dans les eaux et les sols: pour une meilleure maîtrise des risques de pollution

Luc Pussemier

La grande presse se fait régulièrement l'écho de divers problèmes toxicologiques et environnementaux qui résulteraient de l'utilisation, par les agriculteurs, des produits phytopharmaceutiques destinés à protéger leurs cultures. La pollution des eaux par les pesticides, et les coûts qu'elle entraîne pour les compagnies distributrices d'eau, est régulièrement décriée et, depuis quelques temps, une pression est exercée par divers mouvements environnementalistes en vue de diminuer de moitié les ventes de pesticides dans notre pays. Or, pour toute nouvelle substance active ou pour tout renouvellement d'agréation d'anciennes substances, une évaluation approfondie des risques de pollution des eaux et du sol est réalisée suivant des critères stricts et standardisés au niveau des différents Etats membres de l'Union Européenne (directive 91/414). Devant ce paradoxe apparent, il paraît intéressant de préciser un peu mieux l'état de la situation actuelle dans notre pays, de nous informer sur les moyens dont on dispose pour gérer cette problématique et de suggérer quelques pistes à suivre pour améliorer la situation dans le futur.

Rappel des normes relatives à la qualité/potabilité des eaux

La réglementation de la protection des eaux potabilisables n'est pas abordée de la même manière en Europe et aux Etats-Unis. L'Union Européenne a pris le parti du "principe de précaution", destiné à assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine, en instituant des normes très strictes sur la potabilité des eaux. La directive relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (80/778/CEE) fixe les concentrations admissibles pour les pesticides et produits apparentés à 0.1 µg/l par substance individualisée et à 0.5 µg/l pour la somme cumulée des différentes substances présentes. L'établissement d'une limite stricte et uniforme pour tous les produits phytosanitaires indépendamment de leurs popriétés toxicologiques correspond à un objectif de "résidus zéro" dans l'eau potable (en pratique, 0.1 µg/l). Par contre, pour l'Organisation Mondiale de la Santé et pour l'Agence de Protection de l'Environnement aux Etats-Unis, les propriétés toxicologiques des pesticides sont prises en compte pour l'établissement de la norme de potabilité. Dans la plupart des cas, ces normes sont largement supérieures à 0.1 µg/l ; en outre, elles sont variables d'un pesticide à l'autre.

Dans le cas des eaux souterraines qui peuvent servir à la production d'eau potable, la directive réglementant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (91/414/CEE) prévoit que

les produits admissibles dans l'Union Européenne puissent être utilisés en conformité avec la directive sur la potabilité des eaux. La norme de référence est donc clairement de 0.1µg/l.

Dans le cas des eaux superficielles, il n'est pas évident de choisir une norme de qualité de référence car, d'une part, seule une fraction des eaux superficielles est destinée à la production d'eau potable (avec comme norme 0.1 µg/l) et que, d'autre part, il y a lieu de tenir compte de la toxicité à l'égard des organismes aquatiques. Ces derniers, en effet, peuvent être plus ou moins sensibles à la présence de certains types de pesticides et, de ce fait, la norme de 0.1 µg/l peut ne pas être assez sévère (c'est le cas pour beaucoup d'insecticides) mais aussi beaucoup trop sévère (c'est le cas pour la plupart des herbicides, et en particulier le diuron, l'atrazine et le simazine qui sont les pesticides les plus fréquemment retrouvés dans les eaux).

Quelle est la situation actuelle en matière de pollution des eaux en Belgique ?

Les campagnes de mesure indiquent que divers herbicides dérivés de la triazine (atrazine, simazine) et de l'urée (diuron, isoproturon, chlortoluron) sont présents en de nombreux endroits en quantités dépassant 0.1 µg/l, la norme de potabilité des eaux. Ainsi, les herbicides atrazine et diuron sont mesurés à des concentrations pouvant atteindre 1 µg/l et même plus dans quelques situations exceptionnelles et ce, dans un très grand nombre de rivières dans le centre et le nord du pays (régions agricoles et à densités urbaines importantes). D'autres produits sont mis en évidence mais de façon plus sporadique (ex. métazachlore, métolachlore, propazine, chloridazon, ...) ou en concentrations plus faibles (ex. lindane).

Actuellement, en ce qui concerne les eaux souterraines, c'est essentiellement l'atrazine qui est retrouvée à des concentrations supérieures à 0.1 µg/l. Pour l'instant, il n'y a pas lieu de traiter systématiquement ce type d'eau, la grande majorité des captages respectant toujours la norme. Cependant, pas mal d'entre eux contiennent des traces d'atrazine (et d'autres herbicides comme la simazine, ou des produits de transformation comme la dééthylatrazine) à des concentrations plus faibles (entre 0.01 et 0.1 ìg/l), ce qui fait dire à d'aucuns que ces captages seraient, à terme, menacés.

Cette situation peut-elle être considérée comme normale ou acceptable ?

Tout d'abord, il faut bien réaliser qu'une utilisation "normale" de produits phytosanitaires ne peut exclure tous les risques de pollution des eaux (et surtout des eaux superficielles). Ainsi, même s'il s'avère que l'agriculteur maîtrise généralement bien le devenir et le comportement du produit appliqué, il n'en reste pas moins qu'une fraction minime (dans bien des cas ce sera moins de 1 % de

la quantité appliquée) sera emportée, sous forme de brumes de pulvérisation ou par ruissellement après un orage, vers les eaux superficielles. Ce sont ces petites fractions de produits "perdus" qui peuvent poser problème en regard de la valeur extrêmement sévère de la norme de potabilité. Pour ces mêmes raisons, les sources de pollution ponctuelles flagrantes (accidents, déversements volontaires de fonds de cuves ou de bidons, ...) ou apparemment bénignes (rinçage du pulvérisateur, fuites diverses) seraient considérées, par d'aucuns, comme voies de transfert majeures vers les eaux superficielles. En outre, les usages de produits herbicides en dehors de l'agriculture conduisent à des situations encore plus préoccupantes.

De ce fait, pour ce qui concerne la pollution des eaux superficielles par les pesticides, il est difficile de porter un jugement sur la qualité de nos eaux car, d'une part, bon nombre de celles-ci ne sont pas destinées à la production d'eau potable et que, d'autre part, les normes de qualité de certaines eaux susceptibles d'être contaminées par des résidus de pesticides sont en réalité déjà largement surpassées pour d'autres critères importants d'un point de vue écologique (charge organique, polluants industriels). Précisons néanmoins qu'une agréation n'est accordée que lorsqu'il peut être clairement établi que les risques écologiques sont négligeables.

Dans le cas des eaux souterraines, c'est la norme de potabilité qui est généralement prise en considération. En principe, il faut veiller à empêcher le lessivage et la migration du produit vers les nappes. Pour ce faire, il ne faut accepter que les seuls produits qui se dégradent de façon suffisamment rapide ou qui possèdent une mobilité faible à modérée. Le problème est qu'intrinsèquement les produits qui sont tout à fait immobiles se dégradent plus lentement et que ceux qui sont les plus biodégradables sont souvent assez mobiles. De ce fait, il existe un certain nombre de composés (surtout parmi les plus anciens) pour lesquels les risques de pollution des eaux souterraines ne sont pas négligeables surtout en conditions pédo-climatiques aggravantes (précipitations importantes sur sol très filtrant). A cela il convient d'ajouter la variabilité naturelle de certaines propriétés physico-chimiques clés qui régissent le comportement des pesticides dans le sol et la possibilité de transfert des pesticides via des canaux préférentiels (sols fissurés, par exemple). Enfin, non seulement le produit parent doit être considéré mais aussi tout produit de dégradation dit pertinent (c'est à dire possédant encore une part d'activité biologique ou présentant des caractéristiques (éco)toxicologiques résiduelles). C'est pourquoi la prévision de la pollution des eaux souterraines n'est pas chose aisée et il convient d'aborder le problème sous plusieurs angles simultanément (réalisation d'études de laboratoire et en conditions de champ, études lysimétriques, études de simulation avec modèles mathématiques, réalisation de campagnes de surveillance dans des régions sensibles traitées de façon intensive).

La situation en Belgique est-elle en train de s'aggraver ?

Il faut reconnaître qu'il y a une dizaine d'années (avant l'introduction de la norme Européenne), on n'avait pas une idée très précise de l'état de contamination de nos eaux. Jamais autant d'efforts n'ont été consacrés au monitoring et ce n'est que maintenant que l'on commence à pouvoir brosser un tableau général. A priori il est donc risqué d'affirmer que la situation évolue dans un sens ou un autre: nous manquons de recul. Néanmoins, il semble bien que depuis les restrictions sur l'usage de l'atrazine (plus de désherbage non agricole depuis le début des années 90) on constate une amélioration progressive de l'état des eaux superficielles.

Comment arriver à gérer cette problématique ?

Il faut tout d'abord arriver à appréhender convenablement la situation actuelle. Les mesures de contamination par les pesticides dont nous disposons sont encore insuffisantes pour se faire une idée précise de la situation et de son évolution. Au CERVA, nous avons développé un modèle (SEPTWA95) qui doit nous permettre de mieux comprendre ce qui se passe. Cet outil informatique prend en compte tous les usages importants de pesticides que ce soit dans le domaine de l'agriculture ou non, et tire parti de la masse importante d'études qui existent sur le comportement des pesticides dans l'environnement, sur leurs propriétés de biodégradabilité et d'adsorption, sur les modalités de traitement, sur les particularités de nos sols, de notre climat et de notre réseau hydrographique, ... On peut réaliser à l'aide de ce système expert des estimations des émissions (transferts) possibles vers les eaux souterraines et superficielles et, par là, des risques de pollution dans tel ou tel bassin hydrographique. Ce modèle, que l'on s'attache toujours à perfectionner, nous donne déjà des prévisions qui recoupent relativement bien les données expérimentales dont on dispose pour l'ensemble du pays. On peut donc, grâce à ces estimations, obtenir une image assez complète de la réalité probable (tous les produits importants sont considérés même s'ils sont difficiles à doser expérimentalement). On peut ainsi réaliser des comparaisons entre bassins ou suivre des évolutions dans le temps. Cet outil peut s'avérer extrêmement précieux pour évaluer les effets de différents scénarios que l'on pourrait envisager pour réduire les risques de pollution. Par exemple, que pourrait-il se passer dans tel bassin versant, important réservoir d'eau potable, si l'on remplace l'atrazine utilisée en culture de maïs par les différentes alternatives possibles ? Quel pourrait être l'impact potentiel de telle ou telle pratique alternative comme l'introduction de bandes enherbées le long des cours d'eau ou l'instauration de la pratique du non-labour ?

Mais à l'heure actuelle, les modèles aussi sophistiqués soient-ils ne nous permettent pas encore de répondre convenablement à toutes les questions posées. En effet, un certain nombre

d'approximations doivent nécessairement être réalisées car toutes les informations ne sont pas disponibles. Il faut aussi tenir compte de la variabilité de certains paramètres comme, par exemple, la persistance dans le sol.

Une meilleure maîtrise de la pollution est-elle possible grâce à une meilleure maîtrise de la persistance ?

On considère généralement que, à même mobilité, en diminuant la persistance dans le sol d'un facteur 2, on peut diminuer par 10 la concentration en produit qui est susceptible d'atteindre les nappes. Il suffirait donc de ne mettre que des produits peu persistants sur le marché pour éviter les problèmes. En réalité ce n'est pas aussi simple puisqu'il se fait qu'un grand nombre de produits persistants sont aussi très fortement adsorbés au sol ce qui réduit les risques. Par ailleurs, pour certains usages (herbicides résiduaires, insecticides du sol, ...), une certaine persistance est indispensable pour obtenir un taux de protection satisfaisant. On ne peut donc a priori exclure les produits sur la seule base de leur persistance. En fait, dans la pratique, ce sont souvent les produits à mobilité et persistance moyennes qui posent le plus de problèmes. De plus, il a été montré au CERVA que, pour certains produits comme le carbofuran et l'atrazine, la vitesse de dégradation pouvait augmenter subitement lorsque le même produit est appliqué de façon répétée sur le même sol (dégradation dite "accélérée" suite à une adaptation microbienne).

Même si la biodégradation est rapide, des pollutions à caractère ponctuel ne sont pas toujours évitables. C'est pourquoi, des initiatives ont été prises en Suède et en Grande Bretagne en vue de contrer ce phénomène. Pour ce faire, il est proposé d'installer, à la ferme, sur le sol du poste de remplissage du pulvérisateur, un lit adsorbant dans lequel les pertes de produit de pulvérisation seraient séquestrées puis dégradées (biobed). Ces lits adsorbants sont constitués de matériaux bon marché et disponibles partout (mélange de tourbe, paille hâchée et terres agricole riches en microorganismes dégradeurs). Ces biobeds devraient empêcher le transfert du produit de la cour de la ferme vers les égouts ou autres voies d'accès aux eaux superficielles, transfert qui, selon certaines études, pourrait constituer la source essentielle de contamination des nombreuses eaux superficielles. Au CERVA, on étudie actuellement le pouvoir de neutralisation des produits phytosanitaires par de tels matériaux avec addition éventuelle de souches bactériennes qui ont été spécialement sélectionnées pour leur important pouvoir de détoxication de certains produits comme l'atrazine.

Invloed van een toename van het CO_2-gehalte in de omgevingslucht op de groei, de productie en de kwaliteit van zomertarwe (E.U.-Programma ESPACE-Wheat)

Ludwig De Temmerman en Sally Vanhoutvin

Het gehalte aan CO_2 en andere broeikasgassen in de atmosfeer stijgt. Op termijn moet dit tot een klimaatswijziging leiden die de plantengroei in het algemeen en de landbouwproductie in het bijzonder zal beïnvloeden. Een verhoging van het CO_2-gehalte in de omgevingslucht zou in eerste instantie tot een bevordering van de groei moeten leiden maar, hoe zal de kwaliteit van de voortgebrachte producten zijn? Bovendien is er de geleidelijke toename van de ozonconcentraties in de omgevingslucht. Dit schadelijk gas, dat gevormd wordt in warme zonnige periodes door de inwerking van UV-straling op stikstofoxiden en koolwaterstoffen, beide in grote mate afkomstig van het verkeer, zal eveneens inwerken op de groei, ontwikkeling en productie en bovendien de kwaliteit van de geoogste gewassen beïnvloeden.

De effecten van de klimaatswijziging op zomertarwe *(Triticum aestivum* c.v. minaret) werden bestudeerd in het kader van het E.U. programma ESPACE-wheat (European Stress Physiology and Climate Experiment) waarbij in de periode 1994-1997 experimenten uitgevoerd werden in open-top kamers op 9 plaatsen verspreid over 8 Europese landen, gelegen in verschillende klimaatzones. Open-top kamers zijn serres (3 m diameter) die bovenaan open zijn en waarbij de ventilatielucht al dan niet gezuiverd wordt van luchtverontreinigingscomponenten, ofwel aangerijkt met ozon en/of CO_2. Daarnaast werd meer fundamenteel fysiologisch onderzoek uitgevoerd in gesloten klimaatkamers. Twee groepen stonden in voor het uitwerken, toetsen en valideren van mathematische modellen die moeten toelaten prognoses voor de toekomst te maken.

Op basis van de resultaten die in Tervuren werden bekomen tijdens de onderzoeksperiode kan besloten worden dat een verhoging van de omgevingsconcentratie aan CO_2 de groei en de ontwikkeling van zomertarwe cv. Minaret, beïnvloedt. Een verdubbeling van de CO_2 concentratie in de lucht gedurende de groei van de tarwe doet, naargelang het groeiseizoen de graanopbrengst met 14 tot 26 % toenemen. Voor alle groepen samen en voor de drie groeiseizoenen liepen de opbrengststijgingen uiteen van 11% tot 121 %. De groeitoename is een gevolg van een verhoging van de fotosynthese maar bovendien is er een tendens van een verhoogde bladoppervlakte-index (LAI). De hogere LAI is niet alleen veroorzaakt door het voorkomen van bredere bladeren maar bovendien is er een verhoogde uitstoeling zodat het aantal bladeren per plant eveneens toeneemt. Bij

een verhoging van de CO_2-concentratie worden de planten ook groter. Dit kan een indirect effect zijn. Er werd immers vastgesteld dat, ondanks de verhoogde fotosynthese, de huidmondjes minder geopend zijn. Dit brengt mee dat de planten minder water verdampen en aldus beter kunnen weerstaan aan droogte. Als een droogte periode voorkomt op het ogenblik van de stengelstrekking dan zullen planten met een verdubbeling van het CO_2 gehalte hoger groeien. De toegenomen lengte van de halmen en de toegenomen uitstoeling verklaren een hogere stro-opbrengst, die naargelang het groeiseizoen 13 tot 31 % kan bedragen.

De toename van de productie is niet toe te schrijven aan het voortbrengen van grotere graankorrels. Inderdaad, het 1000-korrel-gewicht ondergaat geen significante wijzigingen in functie van de blootstelling aan een verhoogd CO_2-gehalte. De toename van de productie is eerder toe te schrijven aan de ontwikkeling van meer aren en bijgevolg meer korrels per oppervlakte-eenheid.

Naast een toename van de bovengrondse biomassa bij een blootstelling aan een verhoogde concentratie aan CO_2 werd ook een toename van de wortelgroei vastgesteld. Op het einde van het groeiseizoen worden de verschillen kleiner tussen planten die groeien bij omgevingsconcentratie en bij verhoogde CO_2, wat kan toegeschreven worden aan een vervroegd afsterven. Inderdaad ook de bovengrondse delen van de planten vertonen een vervroegd afrijpen bij verhoogde CO_2 blootstelling. Ondanks de verkorte groeiduur van het gewas is de opbrengst toch merkelijk hoger.

Er werden relatief weinig effecten van ozonblootstelling vastgesteld. De gebruikte cultivar bleek weinig gevoelig te zijn voor ozon. Deze werd immers gekozen omwille van de mogelijkheid om te groeien in verschillende klimaten en niet in functie van ozon-gevoeligheid. Een effect van ozonblootstelling werd in Tervuren enkel vastgesteld in 1995 bij een vergelijking van planten die groeiden in omgevingslucht en in gezuiverde lucht bij omgevingsconcentratie aan CO_2. Het opbrengstverlies aan graan bedroeg 14 %. Een duidelijk effect van een verhoogd CO_2 gehalte werd vastgesteld op de stikstofhuishouding in de plant. Het stikstofgehalte was lager tijdens verschillende groeistadia. Door de verhoging van de fotosynthese worden meer koolhydraten gevormd maar wordt de opname van stikstof nagenoeg niet verhoogd, onafgezien van de stikstofbemesting. Dit brengt mee dat het stikstofgehalte, en bijgevolg ook het eiwitgehalte, in het graan lager is bij planten die in een verhoogde CO_2 -atmosfeer groeiden. Dit brengt tevens mee dat de kwaliteitsparameters die aan het proteinegehalte gebonden zijn zoals de Zeleny-waarde en het droog en nat glutengehalte ongunstig evolueren. Het zetmeelgehalte blijft nagenoeg ongewijzigd.

Aspects de l'analyse minérale: besoins, exigences, moyens et ....réalité

Michel Hoenig

Depuis des décennies, l'analyse chimique fait partie des outils essentiels et indispensables à la caractérisation de notre environnement. Dans ce domaine, on retrouve entre autres l'écosystème, l'agriculture, l'industrie, la prospection géologique, la médecine et biologie clinique humaine ou vétérinaire, la toxicologie. Etant donné que l'analyse chimique est capable de donner des réponses sur lesquelles peuvent souvent se baser des décisions importantes, la qualité des résultats qu'elle fournit est essentielle. Dans la suite de ce texte nous nous limiterons aux aspects de l'analyse minérale, qui ne représente qu'une partie des disciplines de la chimie analytique; pour ses autres branches, les exigences seront cependant similaires.

L'analyse minérale d'un échantillon est premièrement envisagée selon des critères fondamentaux : par exemple l'étude de sa composition globale, du contenu en éléments essentiels, nutritifs, polluants, toxiques, actifs... selon les besoins, les possibilités sont multiples et ne seront pas détaillées ici pour cette raison. Les éléments qui composent les échantillons sont représentés à des concentrations très diverses et extrêmement variables. Sous cet aspect nous distinguons ainsi les éléments majeurs (>0.1%), ceux-ci constituent ce que l'on nomme la matrice. Viennent ensuite les éléments mineurs (<0.1%), suivis d'éléments traces et ultra-traces. A ce stade, il convient de rappeler quels sont les domaines de concentrations rencontrées et donc à déterminer avec exactitude et précision lors d'une analyse élémentaire.

Revenons d'abord quelque peu en arrière, vers le début des années 60. L'analyse minérale était généralement réalisée à l'aide de méthodes de chimie classique (gravimétrie, titrimétrie...) et ne concernait alors pratiquement que le dosage des éléments majeurs (cette situation était d'ailleurs suffisante pour satisfaire de nombreux domaines, comme par exemple l'analyse des sols agricoles). Seuls les laboratoires privilégiés possédaient une instrumentation plus sophistiquée comme la spectrographie d'émission arc-étincelle (AES) ou la spectrométrie de fluorescence des rayons X (XRFS). Ces techniques, destinées en pratique exclusivement à l'analyse d'échantillons solides, pouvaient répondre à la détection de concentrations plus basses et donc au dosage d'éléments mineurs. La seule technique analytique qui permettait le dosage de certains éléments traces en solution était la polarographie. A cette époque cependant, celle-ci était encore peu appréciée en raison de son apparition relativement récente et d'un manque manifeste de références. De plus,

l'analyse polarographique est particulièrement lente et ne se prête que difficilement à l'analyse de routine.

L'intérêt réel pour les éléments traces arrive avec les problèmes associés à la pollution de l'environnement, de la toxicologie et du contrôle de la qualité des produits en général. Vers la fin des années 60, l'arsenal analytique s'enrichit de la spectrométrie d'absorption atomique en flamme (FAAS) qui, pour la première fois, était exclusivement destinée à l'analyse des échantillons en solution. Les limites de dosages descendent alors vers le domaine de la ppm (mg/l) et moins. Dès les années 70, les possibilités des techniques spectrochimiques d'analyses s'élargissent avec l'introduction commerciale de la spectrométrie d'absorption atomique électrothermique (four graphite, ET-AAS), où des concentrations aussi basses que la ppb (µg/l) peuvent être dosées. En raison de sa complexité d'utilisation, il faudra cependant attendre le milieu des années 80 pour atteindre sa maturité technologique et profiter pleinement du potentiel réel de la méthodologie. Parallèlement, on assiste à de nouveaux développements dans le domaine de la spectrométrie d'émission ; celle-ci, associée à une source d'excitation constituée d'un plasma d'argon (ICP-AES) autorise, mieux que les techniques d'absorption, l'analyse multi-élémentaire, sans pour autant concurrencer leur pouvoir exceptionnel de détection. Ce n'est que la commercialisation, dans les années 90, de systèmes de spectrométrie de masse associée à une source plasma (ICP-MS) qui permettent de doser des concentration de l'ordre du ppt (ng/l). En même temps, divers changements d'ordre technique (visualisation axiale dans le plasma, nébuliseurs ultra-soniques) permettent d'améliorer significativement les performances de l'ICP-AES ; celui-ci pourra alors utilement remplacer un four graphite pourtant très efficace, mais bien trop lent pour satisfaire aux exigences de l'analyse de série dans un laboratoire de routine. Enfin, pour l'analyse directe d'échantillons solides, des dispositifs d'ablation par laser (LA) peuvent maintenant compléter les systèmes ICP-AES et ICP-MS.

Dans les programmes actuels de recherche on se retrouve souvent en présence de résultats mettant en jeu des niveaux extrêmement bas de concentrations. Parfois, de pareils résultats sont manipulés ou transmis sans que l'on se rende réellement compte de ce qu'ils représentent en réalité : des responsables de laboratoires où les organismes demandeurs d'analyses exigent très souvent de formuler les résultats avec une précision qui ne peut en aucun cas être assurée. Prenons un exemple: le pouvoir de détection de l'appareillage actuel est de l'ordre de la ppt. Ceci veut dire en pratique que l'on peut distinguer avec une précision de quelques pourcent un atome particulier parmi 1000 milliards d'autres atomes. En d'autres termes, cela correspond à distinguer avec cette même précision une distance de moins d'un demi millimètre sur le trajet entre la terre et la lune ! Le pouvoir de détection de l'instrumentation est donc chose importante, mais il est tout aussi

indispensable d'évaluer l'erreur qui peut peser sur le résultat. Au niveau des ultra-traces, celle-ci peut facilement atteindre quelques centaines de pourcent. C'est précisément à ce niveau que l'on perd souvent tout sens d'imagination en exigeant des résultats analytiques avec une exactitude et une précision impossibles à atteindre, surtout en analyse de routine. Un pareil comportement est nécessairement dû à un manque de formation en la matière: les systèmes d'enseignement actuels négligent les aspects de l'analyse chimique, car celle-ci ne reste malgré tout qu'une "science servante".

Il nous semble également utile d'attirer l'attention sur l'extrême informatisation et robotisation actuelle des mesures, associées à l'amélioration très significative du pouvoir de détection des techniques analytiques. De ce fait, les dosages couramment demandés d'éléments majeurs (Na, K, Ca, P) présents dans les échantillons à des concentrations élevées, sont très souvent effectuées sur des dilutions démesurées pour satisfaire la gamme d'étalonnage de l'instrumentation. Malgré les systèmes sophistiqués qui facilitent aujourd'hui l'exécution des dilutions, les erreurs analytiques associées à ces taches sont importantes. A ce sujet, on peut maintenant affirmer, preuves à l'appui, que les résultats avancés pour les éléments majeurs étaient plus fiables il y a plusieurs dizaines d'années qu'à l'heure actuelle, et cela malgré le fait qu'ils étaient obtenus à l'aide de méthodes de chimie traditionnelle.

Point plus flagrant encore, dont les conséquences ne sont pas toujours évaluées à juste titre, est celui associé aux étapes de préparation de l'échantillon à l'analyse (minéralisation et mise en solution). Le problème est à ce point complexe que pour de nombreux types d'échantillons (les milieux végétaux, par exemple) il n'existe pas encore de consensus à l'heure actuelle. En raison d'une méthodologie incertaine et de concentrations de plus en plus faibles à doser, les dangers de contaminations ou de pertes d'éléments sont omniprésents lors de la minéralisation et la mise en solution d'échantillons solides. Comparés aux erreurs analytiques contractées lors des mesures, celles associées à ces étapes préliminaires sont très largement dominantes. C'est précisément ici que l'on apprécie les techniques étant capable d'analyser directement les échantillons solides, en évitant les mises en solution laborieuses et surtout incertaines.

On peut donc aisément se rendre compte du gouffre qui sépare parfois l'analyse de qualité et les exigences, souvent très rigides, d'une "bonne pratique de laboratoire" (BPL) ou de la mise en place d'un laboratoire "accrédité": il s'avère matériellement impossible d'assurer d'un jour à l'autre tous les besoins essentiels décrits ici. C'est précisément pour combler les incertitudes et les lacunes analytiques que la section d'Ecochimie et Spectroscopie du CERVA a consacré et consacre encore

aujourd'hui une partie de ses recherches à la méthodologie analytique des milieux naturels. Ces études s'intéressent aussi bien aux étapes de la préparation de l'échantillon qu'aux aspects fondamentaux et appliqués des techniques analytiques de spectroscopie atomique. De nombreuses approches originales ont été développées ayant pour objectif principal la bonne qualité des résultats en analyse de routine. Depuis plus de vingt ans, le laboratoire participe activement et avec succès à des exercices internationaux d'intercomparaison et à la création de nouveaux matériaux de référence, seuls témoins objectifs de la qualité des analyses. Parallèlement, des associations avec des analyticiens extérieurs ont été créées pour améliorer les résultats et faciliter la réflexion méthodologique (p. ex. le C.I.I., Comité Inter-Instituts d'Etudes des Techniques Analytiques: 30 membres européens). D'autre part, l'expérience du CERVA dans le domaine a engendré des collaborations avec pratiquement tous les constructeurs mondiaux d'instrumentation de spectrométrie atomique. Les connaissances accumulées durant les recherches citées sont régulièrement et largement disséminées dans la littérature (livres, revues scientifiques) ou par le biais de congrès, colloques, séminaires ou stages de formation en Belgique et à l'étranger.

Et quel est alors l'avenir de l'analyse chimique de haut niveau? A l'heure actuelle, et contrairement à la situation vécue par nos prédécesseurs, l'instrumentation marque une avance considérable sur l'analyticien qui est limité essentiellement par les incertitudes des étapes de préparation de l'échantillon. Il s'agit là malheureusement d'une vérité qui est soutenue par un nombre croissant de travaux consacrés à ce sujet, mais qui est aussi constamment ressentie lors des rencontres entre spécialistes. Et comme dans ce cas il s'agit d'une matière qui ne fait partie d'aucun stade d'enseignement officiel, on peut se demander si l'avance de la machine sur l'homme n'est pas définitive dans le domaine de l'analyse chimique.

Etude des chitinases produites par *Serratia* en relation avec leur activité fongicide

Marc Decleire, Willy De Cat, Alfons Callebaut, Nguyen Louis Van Huynh

Cette étude vise à répondre à deux soucis du monde agricole:

a) protéger l'environnement en utilisant des pesticides bio-dégradables non polluants

b) valoriser une matière première abondante présente dans de nombreux déchets de pêche, en l'occurence la chitine.

La chitine est, après la cellulose, le polysaccharide le plus répandu dans la nature. C'est un composant structural de la carapace des crustacés, de la cuticule des insectes et de la paroi des champignons et moisissures. Elle est toujours associée à d'autres constituants structuraux: à des glucanes dans les parois des moisissures, à des protéines spécifiques chez les insectes et autres invertébrés.

La chitine est une substance amorphe et solide constituée d'unités d'acétylglucosamine liées par des liaisons ß-1-4. Sa présence abondante dans la biosphère est contre-balancée par un recyclage constant et très important. Ce sont les microorganismes qui dégradent la presque totalité de la chitine; dans la mer, les bactéries libres ou associées aux organes digestifs des organismes marins; dans le sol, les moisissures et les bactéries. L'hydrolyse enzymatique totale de la chitine jusqu'au stade de monomère (l'acétylglucosamine) implique l'action consécutive de la chitinase et de la chitobiase, enzymes qui se trouvent très souvent associées dans les microorganismes et que l'on nomme enzymes chitinolytiques. Celles-ci agissent en coupant les liaisons β-1-4 des chitines.

On distingue deux types de chitinases. Les exochitinases qui clivent la chitine à partir de l'extrémité non réductrice de la chaîne en unités d'acétylchitobioses; les endochitinases qui clivent les liaisons glycosidiques au hazard le long de la chitine en donnant principalement des acétylchitobioses (dimères) mais aussi des acétylchitotrioses et tétraoses. Les acétylchitobioses sont dégradées par une chitobiase en libérant l'acétylglucosamine.

Rôle des chitinases dans la protection des plantes.

Il est connu depuis longtemps que les plantes se défendent contre les attaques d'agents pathogènes par une "réponse hypersensible" (RH). L'accroissement de la production de certaines enzymes comme les chitinases et glucanases fait partie de cette RH. Ne sont induites que certaines

chitinases spécifiques. Cette augmentation d'activité enzymatique est assez spectaculaire et est la conséquence directe de l'attaque du pathogène. Dans les plantes saines, ces enzymes ne sont détectées qu'en très faible quantité. L'induction de ces enzymes peut être causée, entre autres par des moisissures, des bactéries, des virus....

Ces enzymes agiraient sur les moisissures pathogènes en lysant leurs parois cellulaires et de ce fait, ralentiraient et arrêteraient leur croissance. Les plantes ne contiennent pas de chitine. Tout recemment cependant, on y a trouvé des substrats apparentés à la chitine, ce qui pourrait expliquer la présence de plusieurs chitinases non induites par des pathogènes. Les chitinases extraites des plantes agressées sont des endochitinases et montrent "in vitro" une activité fongicide réelle contre diverses moisissures pathogènes.

La section de Biotechnologie du CERVA étudie actuellement la possibilité de production d'enzymes chitinolytiques à partir de diverses souches sauvages et aussi de certaines souches génétiquement modifiées afin de pouvoir les utiliser comme biofongicides.

Etude des facteurs influençant la production d'endochitinases par *Serratia marcescens.*

Nos essais ont montré un optimum d'activité après trois jours de fermentation à 25°C.La présence simultanée dans le milieu de chitine et de peptone est nécessaire pour la formation de chitinases. Cependant certaines peptones conviennent davantage. Ce sont les hydrolysats acides de caséine et les peptones de viande et de poisson. Viennent ensuite par ordre décroissant les extraits de levures, les hydrolysats pancréatiques de caséine et les hydrolysats tryptiques de caséine. La forme sous laquelle se trouve la chitine joue un rôle non négligeable dans la production de chitinases. Ainsi, en remplaçant la chitine pure par du mycélium de moisissure, on constate une induction de l'activité chitinasique dont l'intensité est fonction de la nature de la moisissure. Une activité de 59% par rapport à la chitine pure est obtenue par *Fusarium oxysporum.* Elle baisse à 37 et 33% respectivement pour *Aspergillus niger* et *Botrytis cinerea.* De la levure de boulangerie autolysée et lavée à l'eau induit également une activité chitinasique assez semblable à celle de l'*Aspergillus.*

Détermination de l'activité fongicide

Après fermentation, le milieu centrifugé est additionné de PDB (Potato Dextrose Broth), stérilisé sur filtre et receuilli dans des flacons stériles. Il est ensemencé par une suspension diluée de mycélium de *Fusarium oxysporum* et agité 48 H à 25°C. La même opération est effectuée sur le milieu chauffé 5 min. à 100°C. Le rapport des poids de mycélium sec donne le pourcentage d'inhibition du milieu c-à-d son activité fongicide.

Comparaison des teneurs en protéines, des endochitinases et des activités fongicides du milieu de culture après croissance de neuf souches de *Serratia.*

Sept souches de *Serratia marcescens* d'origines diverses (ATCC, LMG, DSM), une souche de *S. liquefaciens* et une de *S. plymutica* ont été cultivées pendant trois jours dans un milieu contenant un hydrolysat acide de caséine, des sels minéraux et de la chitine pure ou des carapaces de crevettes en poudre.

Avec la chitine pure, les souches de *Serratia marcescens* ont donné des résultats très variables tant du point de vue des teneurs en protéines que des activités chitinasiques. Les teneurs s'échelonnent de 210 µg prot/ml avec 45 U/ml (45 unités/ml) à 39 µg prot/ml avec 1 U/ml. Deux souches produisent 90-98 µg prot/ml avec 9 U/ml et trois souches 67-78 µg prot/ml avec 2-6 U/ml. Une faible activité endochitinasique (2 U/ml) caractérise *Serratia liquefaciens* et *S. plymutica* avec respectivement 47 et 68 µg prot/ml.

Toutes les souches inhibent la croissance de *Fusarium oxysporum* à une concentration de 50 µg protéine/ml indépendamment de l'activité chitinasique. Le milieu fermenté par *S. liquefaciens* se révèle fongicide à une concentration en protéine de 30 µg prot/ml et une activité chitinasique de 1 U/ml. Une souche de *S. marcescens* possède les mêmes propriétés pour des teneurs respectives de 20 µg protéine /ml et 2U/ml.

Pour les deux tiers des souches, la présence de déchets de crevette en poudre au lieu de chitine pure a pour conséquence une concentration plus élevée en protéines (153-185%) associée à une activité chitinasique plus importante. Cette relation ne se vérifie pas pour *S. liquefaciens* et *S. plymutica.* On ne constate cependant aucune amélioration significative du pouvoir antifongique par l'utilisation des déchets de crevettes.

Caractérisation de l'activité fongicide

Des milieux à bonne activité fongicide ont été dilués stérilement avec une solution de PDB de façon à obtenir une concentration en protéine de10 µg/ml. Aucun développement de mycélium n'est apparu après incubation, ce qui nous donne à penser que ces mileux contiennent des substances thermolabiles fongitoxiques plutôt que fongistatiques.

Détermination de l'activité chitinasique sur gels "SDS-PAGE"

Les protéines des divers milieux précités ont été séparés sur gels SDS-PAGE contenant divers substrats: glycol chitine, 4-MU-$(GlcNAc)_2$, 4-MU-GlcNAc.

En présence de glycol chitine, le milieu qui provient de la souche de *S. marcescens* et possède l'activité chitinasique la plus importante révèle les mêmes bandes que celui de la souche à faible activité. Par contre le milieu de *S. liquefaciens* et de *S. plymutica* ne montre aucune des bandes caractéristiques de *S. marcescens* avec le milieu contenant de la chitine mais bien de faibles bandes avec le milieu contenant des déchets de crevettes.

En présence de 4-MU-$(GlcNAc)_2$ comme substrat, les milieux provenant de 4 souches de *S. marcescens* ne révèlent qu'une seule bande de chitinase lorsqu'elles sont cultivées sur milieu contenant de la chitine. Cette bande disparaît pour deux d'entre elles lorsqu'elles sont cultivées sur milieu déchets de crevettes.

En présence de 4-MU-GlcNAc comme substrat, seul le milieu provenant du *Serratia marcescens* à forte activité chitinasique montre une bande bien visible. Le milieu provenant du *S. marcescens* à très faible activité révèle une bande à peine visible qui apparaît aussi bien en milieu chitine qu'en milieu déchets de crevettes.

Influence de l'apport d'oxygène sur l'activité chitinasique

L'apport d'oxygène est nécessaire à la croissance et la production de chitinases. Pour des pO2 compris entre 5 et 20 % , la productivité augmente avec la concentration en oxygène dissous. En utilisant la chitine comme substrat, le pic de la production de chitinases est atteint après 120 H. L'ajout de chitine en mode feed-back revitalise la population bactérienne, mais n'améliore pas de façon significative la concentration finale en chitinases. Avec des déchets de crevettes comme substrat, la production de chitinases culmine après 48 H. La caractérisation par chromatofocalisation des enzymes produites en présence de chitine a montré l'existence de quatre chitinases dont les pI sont estimés à 8.55, 8.37, 8.29, et 8.16. Ce travail a été réalisé en collaboration avec les professeurs. F. Le Goffic et M. Minier de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris.

Les activités futures consisteront en : l'étude d'autres microorganismes comme par exemple des *Cytophaga, Streptomyces, Cellulomonas, Vibrio...*; le dosage des glucanases dans les échantillons à faible activité chitinasique; la détermination de l'activité fongicide après séparation des protéines du milieu.

ONDERZOEKINGSPROGRAMMA'S

PROGRAMMES DE RECHERCHES

Onderzoekingsprogramma's

Naast het verlenen van hulp bij de bestrijding van besmettelijke ziekten bij de landbouwhuisdieren, bestaat de zending van het CODA-Ukkel in het uitvoeren van wetenschappelijk onderzoek op het vlak van de dierengezondheid. Al deze onderzoekingen moeten uiteindelijk leiden tot een rendementsverhoging van de veeteelt door het beperken van de ziekteverliezen en tot een grotere opbrengst van de landbouweconomie door het waarborgen van de sanitaire kwaliteit van de geproduceerde dieren en afgeleide produkten, zoals de internationale handelsbetrekkingen dit vereisen.

De onderzoeksdomeinen zijn erg verscheiden en staan in verband met de epidemiologische bewaking, met de ontwikkeling van preventieve bestrijdingsmethodes, met de studie van nieuwe ziekten en de ontwikkeling van nieuwe diagnostische methodes gebaseerd op de recentste technieken.

Infectieziekten vormen een permanente en ernstige bedreiging voor onze rundvee-, varkens- en pluimveehouderij. Voor een aantal virale of bacteriële ziekten, zoals varkenspest, mond- en klauwzeer, blaasjesziekte, enzoötische runderleukose, brucellose en boviene spongiforme encephalopathie of "dolle koeienziekte", IBR en pseudovogelpest (Newcastle disease) en salmonellose bij pluimvee, moeten alle in-

Programmes de recherches

En plus des prestations sanitaires dans la lutte contre les maladies contagieuses des animaux domestiques, la mission de service public du CERVA-Uccle implique des activités de recher-che scientifique en rapport direct avec la santé animale. Le but de toutes les recherches est l'amélioration du rendement de l'élevage par la réduction des pertes dues aux maladies, ainsi que de la rentabilité de l'économie agricole par la garantie de la qualité sanitaire de nos animaux et de leurs produits telle qu'elle est exigée pour les échanges commerciaux internationaux.

Les domaines de recherche sont très divers allant de l'épidémiosurveillance, aux moyens de prévention ou de prophylaxie, en passant par l'étude ou la recherche de maladies nouvelles, ou le développement de nouveaux tests diagnostiques basés sur les techniques les plus modernes.

Les maladies infectieuses constituent une menace permanente et sérieuse pour nos élevages bovins, porcins et avicoles. Pour certaines maladies virales ou bactériennes comme la peste porcine, la fièvre aphteuse, la maladie vésiculeuse du porc, la leucose bovine enzootique, les brucelloses, et l'encéphalopathie spongiforme ou "maladie des vaches folles", l'IBR, la pseudopeste aviaire

spanningen gericht zijn op het vrij houden van onze landbouwhuisdieren omwille van de grote economische verliezen die deze aandoeningen veroorzaken en om onze exportpositie veilig te stellen.

Andere infectieziekten zoals neonatale diarree en diarree bij het spenen, virale encephalomyocarditis bij varkens, de ziekte van Gumboro en infectieuze anemie bij de kip kunnen erge verliezen veroorzaken. Het op de voet volgen van de incidentie van deze ziekten laat toe de doeltreffendheid van de toegepaste bestrijdingsmethodes (vaccins, antibiotica, chemotherapeutica) te evalueren. Hierdoor kan het gebruik van ondoeltreffende middelen worden vermeden en kan het antibioticagebruik tot een minimum worden beperkt, wat bijdraagt tot een betere kwaliteit van het eindprodukt. Dit is ook het geval voor het ontwikkelen van nieuwe diagnostische technieken en bestrijdingsmethodes.

De onderzoeksprojecten ontwikkeld in het CODA-Tervuren (Agrochemie) kunnen gerangschikt worden onder volgende grote thema's: de studie van de interacties tussen landbouw en leefmilieu, de bewaking van de kwaliteit van landbouwproducten, de valorisatie van nevenproducten en afval afkomstig van de agro-industriële sector en de ontwikkeling en toepassing van analytische methoden. Binnen elk van deze thema's vormen sterk uiteenlopende projecten het onderwerp van onderzoek.

(maladie de Newcastle) et les salmonelloses des volailles, il faut arriver à l'éradication. Ceci, pour éviter les pertes économiques que ces maladies engendrent et pour garantir nos exportations.

D'autres maladies infectieuses comme les diarrhées néonatales ou du sevrage, l'encéphalomyocardite virale des porcs, la maladie de Gumboro et l'anémie infectieuse des volailles peuvent également entraîner de lourdes pertes. La surveillance de l'incidence de ces maladies permet d'évaluer l'efficacité des méthodes de lutte appliquées (vaccins, antibiotiques, chimio-thérapie).De cette façon, on peut éviter l'utilisation de méthodes inefficaces, réduire au minimum l'usage des antibiotiques et finalement obtenir un produit de meilleure qualité. C'est également le cas pour le développement de nouvelles techniques de diagnostic et méthodes de lutte.

Les thèmes de recherche développés au CERVA-Tervuren (Agrochimie) peuvent être classés sous les thèmes principaux suivants: l'étude des interactions entre l'agriculture et l'environnement, le contrôle de la qualité des produits agro-alimentaires, la valorisation des produits secondaires et des déchets en provenance du secteur agro-industriel, le développement et l'application des méthodes analytiques. Chaque sujet de recherche se retrouve sous un des thèmes ci-dessus énumérés.

De problemen die te maken hebben met het gebruik van nutriënten en pesticiden in de landbouw vormen de hoofdbrok van de milieu-problematiek waarbij residus uit de landbouw in bodem, water en lucht terecht komen. De reglementering m.b.t. het gebruik van deze producten is de laatste jaren strenger geworden en een opvolging van de effecten hiervan voor het milieu is van groot belang om te komen tot een duurzame landbouw met respect voor het milieu.

Anderzijds zijn vele vormen van lucht-verontreiniging een reële bedreiging voor de kwaliteit en de opbrengst van landbouw--gewassen en de grootte van de schade die hierdoor wordt teweeggebracht is nog onvol-doende doorgedrongen tot de landbouwsector en het beleid.

Nu er voldoende landbouwproducten worden geproduceerd, gaat de aandacht vooral uit naar de kwaliteit ervan. De kwaliteit kan zowel beïnvloed worden via de voedselketen zelf, door biochemische transformaties te wijten aan externe factoren of door gebruikte additieven. Op al deze terreinen wordt in de agrochemische departementen onderzoek verricht teneinde de gezondheid van de consument te waarborgen. Het onderzoek van die kwaliteit steunt op het gebruik van zeer gevoelige analysetechnieken van de minerale en organische chemie en biochemische technieken.

Les problèmes qui découlent de l'utilisation des nutriments et des pesticides en agriculture constituent le centre de la problématique de l'environnement à cause des résidus qui peuvent se retrouver dans le sol, l'eau ou l'atmosphère. La réglementation sur l'usage de ces produits est devenue plus sévère ces dernières années. Le suivi de ces effets sur l'environnement est donc d'une grande im-portance pour maintenir une agriculture durable respectueuse de l'environnement.

Il y a, d'un autre côté, plusieurs types de pollution atmosphérique qui constituent une menace réelle pour la qualité et le rendement des grandes cultures. Le secteur agricole et les ins-tances politiques n'ont pas encore pris suffisamment conscience de l'ampleur du dommage qui peut en résulter.

Maintenant que la production agricole est suffisante, le public attache de plus en plus d'importance à la qualité. Cette qualité peut être influencée par la chaîne alimentaire elle-même, par des transformations biochimiques dues à des conditions extérieures ou par l'utilisation d'additifs. Les dépar-tements agrochimiques effectuent des recher-ches dans tous ces domaines afin de garantir la santé des consommateurs. Les recherches concernant la qualité s'appuyent sur des techniques analytiques très sensibles en chimie minérale et organique et en biochimie.

Intensief onderzoek wordt uitgevoerd op de valorisatie van afval en nevenproducten van de agro-industriële sector. Door toepassing van biotechnologische technieken kunnen nieuwe producten bekomen worden met een hogere toegevoegde waarde voor de landbouw.

Het is evident dat de aangehaalde onderzoeksprojecten slechts realiseerbaar zijn door gebruik te maken van spitstechnologie in zake analytische scheikunde. De ontwikkeling van nieuwe methoden en het garanderen van de kwaliteit van de analyseresultaten is een constante zorg in het CODA, het spenderen van voldoende tijd en energie hieraan vormen op lange termijn een rendabele investering.

De kwaliteit van de onderzoekingsprogramma's wordt beoordeeld door de Wetenschappelijke Raad van het Centrum, maar ook door verschillende colleges van deskundigen van nationale en internationale organismen die bepaalde projecten financieren. Het belang van onze onderzoekingen voor de veeteelt en de economie, wordt gewaarborgd door de landbouwsectoren die verschillende projecten financieren.

La valorisation des déchets et des sous-produits du secteur agro-industriel fait l'objet de recherches approfondies. L'application des techniques biotechnologiques permet d'obtenir de nouveaux produits à plus grande valeur ajoutée ayant une finalité agricole.

Il va de soi que les projets de recherche ne sont réalisables que grâce à une technologie de pointe dans le domaine de la chimie analytique. Le développement de nouvelles méthodes et la garantie de la qualité des résultats d'analyse sont un souci constant du CERVA. Consacrer suffisamment de temps et d'énergie à cette fin constitue, à longue échéance, un investissement rentable.

La qualité des programmes de recherche est évaluée par le Conseil Scientifique du Centre, ainsi que par les comités d'experts de plusieurs organismes nationaux et internationaux qui financent les projets. L'intérêt immédiat des recherches pour l'élevage et l'économie a reçu la caution des secteurs agricoles qui participent au financement de plusieurs projets.

I. Enzoötische en epizoötische ziekten bij herkauwers en varkens

Sinds de vaccinatie tegen mond- en klauwzeer en varkenspest werd verboden in de EU, is het belang van de serologische bewaking van de veestapel nog groter geworden. Dit geldt ook voor ziekten als enzoötische runderleukose en brucellose, waarvan de eradicatie wordt nagestreefd. Daarom wordt veel aandacht besteed aan het ontwikkelen van snelle, gevoelige en specifieke diagnosemethoden, zoals PCR en ELISA, alsook aan het uitwerken van preventiemethoden met inbegrip van vaccins. Zo kan het gebruik van gemerkte vaccins wenselijk worden in de schutkringen in geval van uitbraken, teneinde gevaccineerde van besmette dieren te kunnen onderscheiden. Daartoe is basisonderzoek op het vlak van de moleculaire biologie essentiëel.

I. Maladies enzootiques et épizootiques des ruminants et des porcs

Depuis que la vaccination contre la fièvre aphteuse et la peste porcine a été interdite dans les pays de l'UE, la surveillance sérologique des élevages a pris plus d'importance. C'est aussi vrai pour des maladies en voie d'éradication comme la leucose bovine enzootique et les brucelloses. Il faut donc développer des nouvelles méthodes de diagnostic spécifiques, rapides et sensibles, comme la PCR et l'ELISA. Les méthodes préventives, y compris la vaccination, ne doivent pas être négligées. Par exemple, la mise au point de vaccins marqués pourrait être utile dans les zones de protection pour distinguer les animaux vaccinés des animaux infectés. En ce domaine, des recherches fondamentales en biologie moléculaire sont indispensables.

I.1. Encephalomyocarditis virus (EMCV) infecties bij varkens : pathogenesestudie, moleculaire en antigenische typering van Europese virale stammen en verbetering van de diagnose

Verantwoordelijke onderzoekers :

CODA	:	Koenen F.*, Vanderhallen H.
Buiten	:	Papadopoulous O. (University Thessaloniki), Paschaleri E (IPID Thessaloniki), Knowles N. (Pirbright, U.K.), De Simone F. (Izsel, Bresicia).
Financiering	:	EU (AIR 3)
Vermoedelijke duur	:	1993 - 1997
Diersoort	:	Varken.

*promotor - promoteur

I.2. Controle van Klassieke Varkenspest door moleculaire diagnose en epidemiologie.

Verantwoordelijke onderzoekers :

CODA	:	Vanderhallen H., Koenen F.*
Buiten	:	Paton D. (The Veterinary Laboratories Agency, Addlestone, UK), Belak S. (The national Veterinary Institute, Uppsala, Sweden), Ruttili D., (Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e Delle marche, Perugia, Italy), Moening V., (Hannover Veterinary school, Hannover, Germany), Pesjak Z., (National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland), Hoffman M. (Institute of Virology and Immunoprophylaxis, Mittelhausern, Switzerland).
Financiering	:	E.U. (FAIR 1)
Vermoedelijke duur	:	1996 - 1999
Diersoort	:	varken

I.3. Epidemiologie, diagnose en controle van Klassieke varkenspest en de mogelijke toepassing van een marker-vaccin.

Verantwoordelijke onderzoekers :

CODA	:	Koenen F.*
U.Gent	:	Deluyker H.*
Financiering	:	Aangevraagd bij DG 6
Vermoedelijke duur	:	1998 - 2003

I.4. Detectie van vesiculaire ziekten veroorzakende virussen via PCR techniek

Verantwoordelijke onderzoekers : De Clercq K.*, Callens M.

Financiering	: DG6, CODA
Vermoedelijke duur	: 1993 - 1996
Diersoorten	: Rundvee, varken.

I.5. Contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine

Chercheurs responsables	:	Wellemans G.*, Vanopdenbosch E., Kerkhofs P., Letellier C.
Financement	:	Fonds sanitaire
Durée probable	:	1995 - 1998
Espèce animale	:	Bovin.

I.8. Epidemiologie, diagnose en bestrijding van klassieke varkenspest bij hoge varkensdensiteit en niet-vaccinatie

Verantwoordelijke onderzoekers :

Buiten	:	Deluyker H. (U. Gent)*
CODA	:	Koenen F.*
Financiering	:	DG6, EU
Vermoedelijke duur	:	1996 - 1999
Diersoort	:	Varken.

I.10. Ontwikkeling van een differentieel diagnostische ELISA voor de detectie van γ-interferon bij varkens na pestivirusinfecties (BVDV en KVPV)

Verantwoordelijke onderzoekers	: Caij A.
Financiering	: Werkgroep varkenspest
Vermoedelijke duur	: 1995 - 1996
Diersoort	: Varken.

I.11. Mise au point d'une technique de détection du BVDV par la méthode PCR

Chercheurs responsables	:	Letellier C.*, Vanopdenbosch E., Wellemans G.
Financement	:	CERVA
Durée probable	:	1995 - 1997
Espèce animale	:	Bovin.

I.12. Développement d'une nouvelle méthode de diagnostic par mesure de l'immunité à médiation cellulaire : application aux maladies enzootiques de l'espèce bovine

Chercheurs responsables :

CERVA	:	Godfroid J.*,Walravens K., Wellemans V.
FUNDP	:	Letesson J.-J.
Financement	:	DG6 / Fonds sanitaire
Durée probable	:	1995 - 1997
Espèce animale	:	Bovin.

I.13. Réactions sérologiques non spécifiques dans la brucellose bovine. Développement de moyens de diagnostic permettant de différencier la brucellose d'une infection par *Yersinia enterocolitica* O:9 dans l'espèce bovine

Coordinateur	:	Garin B.* (CNEVA - France)
Chercheurs responsables :		
CERVA	:	Clavareau C., Godfroid J.
Extérieurs	:	Dubray G. (INRA, France), Mac Millan A. (CVL, Royaume Uni), Bekker D. (ID/DLO, Pays-Bas), Benet J.-J. (Alfort, France), Milward F. (Mérieux, France), Letesson J.-J. (FUNDP, Belgique)
Financement	:	Programme FAIR (programme Agriculture et Pêche de l'Union Européenne).
Durée probable	:	1995 - 1998
Espèce animale	:	Bovin.

I.14. Mise au point d'un test ELISA pour la détection des anticorps dirigés contre la glycoprotéine gE du virus IBR

Chercheurs responsables :		Letellier C.*, Vanopdenbosch E., Wellemans G.
Financement	:	CERVA
Durée probable	:	1996 - 1998
Espèce animale	:	Bovin.

I.15. Ontwikkeling van een discriminerende gamma-interferon ELISA voor de detectie van met Aujeszky Disease Virus gevaccineerde of geïnfecteerde varkens

Verantwoordelijke onderzoekers	: Caij A.
Financiering	: werkgroep Varkensziekten
Vermoedelijke duur	: 1996 - 1997
Diersoort	: Varken.

I.16. Essai de terrain pratiqué dans le cadre d'un plan de lutte contre la rhinotracheite bovine infectieuse en Belgique à l'aide de vaccins marqués vivants et inactivés

Chercheurs responsables :

CERVA	:	Dispas M., Kerkhofs P.*,Vanopdenbosch E.
Exterieur	:	Thiry E., Lemaire M. (U.Lg.)
Financement	:	Fonds sanitaire
Durée probable	:	1996 - 1998
Espèce animale	:	Bovin

I.17. Ontwikkeling van moleculair diagnostische testen voor de identificatie van mycoplasmosen bij rund, varken en pluimvee

Wetenschappelijk verantwoordelijke	: D'hooghe I., Peeters J.*
Financiering	: Sanitair Fonds
Vermoedelijke duur	: Onbepaald
Diersoort	: Rund, varken, pluimvee.

I.17. bis *Mycoplasma hyopneumoniae* infecties bij varkens : moleculaire en antigenische typering, pathogeniciteit en epidemiologie

Verantwoordelijke onderzoekers :

CODA	:	D'hooghe I., Peeters J.*
Buiten	:	De Kruif A.*, Haesebrouck F.(Universiteit Gent)
Financiering	:	Aangevraagd bij DG6
Vermoedelijke duur	:	1998-2003
Diersoort	:	Varken.

I.18. Improved diagnosis of swine vesicular disease (SVD)

Verantwoordelijke onderzoekers	:	Callens M., De Clercq K.*
Financiering	:	E.U.
Vermoedelijke duur	:	1997-1999
Diersoort	:	Varken.

I.19. De immunologische respons van lymfocyten *in vitro* na vaccinatie met ofwel levend geattenueerd vaccin of geïnactiveerd vaccin bij varkens met of zonder maternale antistoffen

Verantwoordelijke onderzoekers	:	Caij B.
Financiering	:	Werkgroep varkens
Vermoedelijke duur	:	1997-1998
Diersoort	:	Varken.

I.20. Approche moléculaire de la vacination contre le virus de la diarrhée virale bovine BVD/MD

Chercheurs responsables	:	Kerkhofs P.*, Letellier C., Vanopdenbosch E.
Financement	:	Demande auprès de la DG6
Durée probable	:	1998-2004
Espèce animale	:	Bovin.

I.21. Etude de la vaccination pour le contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine

Chercheurs responsables	:	Kerkhofs P.*, Letellier C., Vanopdenbosch E.
ULg	:	Thiry E.*, Lemaire M., Schyns F.
Financement	:	Demande auprès de la DG6
Durée probable	:	1998-2004
Espèce animale	:	Bovin.

I.22. Développement d'outils de diagnostic et de prophylaxie médicale pour le contrôle de la paratuberculose bovine

Chercheurs responsables :

CERVA	: Godfroid J.*, Wellemans G.
Inst.Pasteur Brussel	: Huygen K.*
IMT/ITG	: Portaels F.*
Financement	: Demande auprès de la DG6
Durée probable	: 1998-2003
Espèce animale	: Bovin.

I.23. Evaluation de *Brucella suis* biotype 2 comme candidat vaccin anti-*Brucella* chez les ruminants

Chercheurs responsables :

CERVA	:	Godfroid J.*, Walravens K.
Extérieur	:	Letesson J.-J.*
Financement	:	CERVA
Durée probable	:	1998 - 1999
Espèces animales	:	Bovin, ovin, caprin.

I.24. Immunogénicité et efficacité protectrice d'un vaccin ADN Ag 85A contre *M.bovis*

Chercheurs responsables :

CERVA	:	Walravens K.*, Godfroid J., Wellemans G.
Extérieur	:	Huygen K.*, Letesson J.-J.
Financement	:	CERVA
Durée probable	:	1997-2000
Espèce animale	:	Bovin.

II. Kwaliteitsbewaking van het milieu en de voedselketen

Sommige ziekteverwekkers die bij onze landbouwhuisdieren voorkomen kunnen worden overgedragen op de consument. Zo zijn *Salmonella* en *Brucella* spp. verantwoordelijk voor ernstige ziekten bij mens en dier. Dolle koeienziekte (BSE) zorgde de laatste jaren voor heel wat opschudding in de openbare opinie. *Cryptosporidium parvum* bij kalveren, besmet het oppervlakte- en grondwater. Opname van besmet water en voedsel door de mens kan leiden tot diarree en toxi-infectie. Het is de taak van het CODA om nieuwe diagnostische testen en preventieve metodes te ontwikkelen, met de bedoeling vleesprodukten vrij van microbiële contaminanten aan te bieden aan de consument en de contaminatie van het milieu door *Cryptosporidium* tot een minimum herleiden. Dit is van groot belang voor het imago van de veeteelt in de publieke opinie, voor de exportpositie van de producenten en in het kader van het IKB-principe (integrale keten bewaking).

II.Surveillance de la qualité du milieu et de la chaîne alimentaire

Des agents pathogènes pour les animaux peuvent également atteindre le consommateur. C'est le cas pour des germes comme *Salmonella* et *Brucella* qui sont responsables de maladies graves chez l'homme et l'animal. Ces dernières années, la maladie des vaches folles (BSE) inquiète l'opinion publique. *Cryptosporidium parvum* chez le veau contamine les eaux. L'absorption d'eau contaminée peut provoquer des diarrhées chez l'homme. Il entre dans les tâches du CERVA de développer de nouveaux tests de diagnostic et méthodes préventives pour rendre les produits d'origine animale inoffensifs pour le consommateur et pour diminuer au maximum la contamination du milieu par *Cryptosporidium*. Ceci donnera une meilleure image de nos producteurs et de notre élevage dans l'opinion publique, chez les clients étrangers et dans le cadre de la CSI (chaîne de surveillance intégrale).

II.1. Epidemiologie van *Salmonella spp.* en identificatie van virulentiefactoren die *de novo* worden geïnduceerd

Verantwoordelijke onderzoekers :

CODA	:	De Filette M., Charlier G., Pohl P.*
Buiten	:	Hernalsteens J.P. (VUB)*.
Financiering	:	DG6.
Vermoedelijke duur	:	1992-1998
Diersoorten	:	Rundvee, pluimvee.

II.3. Studie van de immuunrespons tegenover *Cryptosporidium parvum* bij het rund

Verantwoordelijke onderzoekers : de Graaf D., Villacorta I., Charlier G., Peeters J.*
Financiering : DG6, E.U., CODA, Industrie.
Vermoedelijke duur : 1994 - 2000
Diersoort : Rund.

II.4. Moleculaire typering van *Salmonella*

Verantwoordelijke onderzoekers : Imberechts H.
Financiering : Sanitair Fonds (dotaties)
Duur : 1997 - 2001
Diersoort : Rund, varken, pluimvee, mens.

II.6. Studie van enterohemorraghische *E.coli*

Verantwoordelijke onderzoekers :
CODA : Imberechts H.
VUB : De Greve H.
Financiering : Aangevraagd DG6
Vermoedelijke duur : 1997-1999
Diersoort : Rund, mens.

II.7. Analyse van virulentiefactoren bij *Salmonella* Hadar als basis voor de ontwikkeling van nieuwe diagnostica en vaccins

Verantwoordelijke onderzoekers : De Filette M., Pohl P.
Financering : Aangevraagd DG6
Vermoedelijke duur : 1998 - 2002
Diersoort : Pluimvee

III. Pluimveeziekten

De diagnose van virale ziekten en hun preventie zijn een belangrijke bekommernis van de pluimveeindustrie. Vermits de virale diagnose uitsluitend wordt gesteld in het CODA, wordt daarom permanent onderzoek verricht naar snellere, goedkopere en betere diagnostische tests. De epizoötiologie van vogelpesten staat onder permanente controle en een constante monitoring wordt bereikt voor de ziekte van Newcastle dank zij de hulp van monoclonale antilichamen die werden geproduceerd in ons laboratorium. Anderzijds wordt onze pluimveeteelt bedreigd door hypervirulente stammen van het Gumborovirus. Het CODA verwacht een betere kennis van het virus en van zijn immunogeniciteit te verwerven om alzo een efficiëntere profylaxis te kunnen waarmaken. Het virus van infectieuze anemie bij pluimvee tenslotte, is verantwoordelijk voor een acute ziekte bij kuikens en interfereert met de vaccinatie bij oudere dieren, verhoogt hun gevoeligheid voor opportunistische infecties en ontwikkelt een synergisch effect met de virussen van de ziekten van Gumboro en van Marek. Ook hier moeten de diagnostische en profylactische mogelijkheden dringend worden verbeterd. Coccidiose verhoogt de kosten-structuur van de mestkuikenproduktie door sterfte, groeivertraging en ongunstige voe-deromzet. Het op de voet volgen van resistentie-ontwikkeling tegenover de toegepaste chemotherapeutica laat toe gebruik van ondoeltreffende middelen te vermijden.

III. Maladies aviaires

Le diagnostic des maladies virales et leur prévention sont le principal souci de l'industrie de la volaille. Puisque ce diagnostic viral ne se pose qu'au CERVA, il s'y fait une recherche permanente pour trouver de nouvelles méthodes plus rapides, plus économiques et plus sensibles. L'épizootiologie des pestes aviaires est contrôlée de façon permanente et un monitoring constant est effectué en maladie de Newcastle à l'aide d'anticorps monoclonaux produits dans le laboratoire. Par ailleurs, nos élevages avicoles sont toujours confrontés aux souches hypervirulentes de la maladie de Gumboro. Le CERVA cherche à mieux connaître le virus et son immunogénicité pour mettre au point une prophylaxie efficace. Le virus de l'anémie infectieuse des volailles, enfin, est responsable d'une maladie aiguë chez le poussin puis interfère avec la vaccination des sujets plus âgés, augmente leur sensibilité aux germes opportunistes et exerce un effet synergique avec les virus des maladies de Gumboro et de Marek. Ici aussi, les méthodes diagnostiques et de prophylaxie doivent d'urgence être améliorées. La coccidiose diminue la rentabilité des élevages de poulets de chair en provoquant de la mortalité, une diminution de la croissance et une mauvaise consommation alimentaire. En surveillant la résistance aux produits chimioprophylactiques, on évite l'utilisation de moyens de lutte inefficaces.

III.2. Base moléculaire de la variation antigénique et de la pathogénicité du virus de la maladie de Gumboro (IBDV) : implications vaccinales et diagnostiques.

Chercheur responsable	:	van den Berg T.
Financement	:	CERVA.
Durée probable	:	1995 - 1998
Espèce animale	:	Aviaire.

III.4. Diagnostic, épidémiologie et prophylaxie de l'anémie infectieuse virale (CAV) chez le poulet de chair.

Chercheurs responsables	:	Meulemans G., van den Berg T.
Financement	:	Fonds sanitaire.
Durée probable	:	1995 - 1998.
Espèce animale	:	Aviaire.

III.5. Epizootiologie de la pseudopeste et de la peste aviaire.

Chercheurs responsables	:	Meulemans G.*, van den Berg T.
Financement	:	Fonds sanitaire.
Durée probable	:	recherche permanente.
Espèce animale	:	Aviaire.

III.7. Production et utilisation de cytokines aviaires à des fins fondamentales, diagnostiques et prophylactiques

Chercheurs responsables	:	Lambrecht B., van den Berg T.*
Financement	:	Services du Premier Ministre (SSTC)
Durée probable	:	1996 - 1998
Espèce animale	:	Aviaire.

III.8. Développement et validation de tests de mesure de l'immunité à médiation cellulaire chez la volaille par le dosage de cytokines aviaires

Chercheurs responsables	:	van den Berg T, Lambrecht B., Meulemans G.
Financement	:	Demandé auprès de la DG6
Durée probable	:	1998-2001
Espèce animale	:	Aviaire.

IV. Spijsverteringsaandoeningen bij rund, varken en konijn

Colibacillose is één van de belangrijke verliesoorzaken bij kalveren en biggen. Vermits regelmatig nieuwe types of varianten worden gedetecteerd, is het nodig de virulentiefactoren te bepalen en nieuwe specifieke diagnostische testen te ontwikkelen. Deze studies openen de mogelijkheid vaccinale componenten te identificeren en alternatieve immunisatie-technieken uit te testen. Een betere colibacillosebestrijding zal ook leiden tot verminderd antibioticagebruik en een eindprodukt vrij van residuën, wat bijdraagt tot een betere kwaliteit.

IV. Maladies digestives des bovins, porcs et lapins

La colibacillose constitue une des plus importantes causes de pertes chez les veaux et les porcelets. Puisqu'on détecte régulièrement de nouveaux types ou variants colibacillaires, il est nécessaire d'identifier les facteurs de virulence et de développer de nouveaux tests spécifiques de diagnostic. Ces études ouvrent des perspectives pour identifier des antigènes vaccinaux et pour mettre au point des méthodes alternatives d'immunisation. Une meilleure lutte contre la colibacillose permettra de diminuer l'utilisation des antibiotiques et finalement à favoriser la production d'un aliment sans résidus.

IV.1. Onderzoek naar de pathogenese van attaching effacing *Escherichia coli* van boviene oorsprong (Ref. IV.1).

Verantwoordelijke onderzoekers :

CERVA	:	Cleenwerck I, Charlier G., Pohl P.,
Buiten	:	China B., Mainil J. (Université de Liège)
Financiering	:	DG6.
Vermoedelijke duur	:	1994-2000.
Diersoort	:	Rund.

IV.2. Ontwikkeling van een diagnostische test voor de detectie van enteropathogene *Escherichia coli* besmetting bij vleeskonijnen.

Verantwoordelijke onderzoekers	: Vandekerchove D., Peeters J.*
Financiering	: DG6, CODA
Vermoedelijke duur	: 1993 - 1997.
Diersoort	: Konijnen.

IV.5. Gerichte mutagenese van enteropathogene *Escherichia coli* stammen als basis voor de ontwikkeling van een vaccin voor vleeskonijnen

Verantwoordelijke onderzoekers	: Vandekerchove D., Peeters J.*, Marien J.
Financiering	: DG6 / CODA
Vermoedelijke duur	: 1997 - 2003
Diersoort	: Konijn.

V. Studie van de interacties landbouw-leefmilieu

Sedert het begin van de jaren 70 maakten de projecten met betrekking tot de interacties tussen landbouw en leefmilieu een belangrijk deel uit van het onderzoek aan het toenmalige I.S.O.
Via de media zijn vooral de problemen aan het grote publiek bekend gemaakt waarbij sommige landbouwactiviteiten het milieu schade toebrengen; vooral de problematiek van nutriënten in bodem en water, zware metalen in de bodem en residus van fytofarmaceutische producten zijn in dit opzicht benadrukt. De problematiek waarbij de landbouw te lijden heeft van lucht- en bodemvervuiling wordt echter zelden onder de aandacht gebracht, we vermelden in dit verband de verhoogde luchtconcentraties aan zwavel- en stiktofoxiden, ozon en CO2 en de fall out van zware metalen in de omgeving van industriële sites.

De agrochemische departementen van het CODA die deze milieuproblemen bestuderen hebben de opdracht enerzijds het juiste aandeel van de landbouw in de milieuverontreiniging en de risico's ervan te kwantificeren en anderzijds de aard en het economisch belang van de schade toegebracht aan de landbouwproductie of het kwaliteitsverlies van landbouwproducten in te schatten.

V. Etude des interactions agriculture-environnement

Depuis le début des années 70, les problèmes concernant les interactions entre l'agriculture et l'environnement ont fait l'objet de recherches à l'ex-IRC.
C'est surtout par les médias que le grand public a pris connaissance de ce que certaines activités agricoles pouvaient causer du tort à l'environ-nement. Dans cette optique, on a mis l'accent sur la problématique des nutriments dans le sol et l'eau, des métaux lourds dans le sol et des résidus de produits phytopharmaceutiques. La problématique suivant laquelle l'agriculture subit des dommages par la pollution de l'air et de l'eau n'est que rarement citée. Mentionnons, à ce propos, l'augmentation dans l'atmosphère des teneurs en oxydes de soufre et d'azote, en ozone et en CO2 et aussi les retombées des métaux lourds aux abords des sites industriels.

Les départements agro-chimiques du CERVA ont pour tâche d'une part de déterminer la part réelle de l'agriculture dans la pollution de l'environnement et les risques qui en découlent, et d'autre part la nature et l'importance économique du préjudice causé par la pollution de l'environnement aux productions agricoles ou à la qualité des produits agro-alimentaires.

V.1. Etude de l'impact de différents systèmes de culture sur les teneurs en nitrates des eaux à l'aide de cases lysimétriques

Chercheur responsable : Scokart P.
Durée probable : indéterminée

V.2. Quantification des apports régionaux en nutriments dans les eaux de surface provoqués par l'activité agricole

Chercheurs responsables : Pauwelyn J.,Vanderheyden V., Scokart P.*
Durée probable : 1995 - 1998

V.3. Comportement des pesticides dans les eaux et le sol

Chercheurs responsables :
CERVA : Beernaerts S., Debongnie Ph., Vanderheyden V. Pussemier L.*,
Extérieur : F.R.I.A. : Goux S.
Durée probable : 1992 - 2003

V.4. Onderzoek naar de effecten van ozonverontreiniging op de gewassen *in situ* (UN-ECE project)

Verantwoordelijke onderzoekers : Vandermeiren K., De Temmerman L.*
Vermoedelijke duur : 1990 - 1998 (wordt per jaar verlengd)
Financiering : CODA

V.5. Studie van de mechanismen van ozoninwerking op gewassen (begassingonderzoek)

Verantwoordelijke onderzoekers : Vandermeiren K.*, De Temmerman L.
Vermoedelijke duur : 1994 - 1998

V.6. Onderzoek van de depositie van zure en zuurvormende componenten

Verantwoordelijke onderzoeker : De Temmerman L.
Vermoedelijke duur : 1996 - 1999

V.7. Invloed van een toename van het CO_2-gehalte in de omgevingslucht op de groei, de productie en de kwaliteit van landbouwgewassen

Verantwoordelijke onderzoekers : Vanhoutvin S., De Temmerman L.*
Financiering : E.U.- Programma ESPACE-Wheat
Vermoedelijke duur : 1994 - 1996

V.8. Boomfysiologisch onderzoek als indicatie van ozonschade

Verantwoordelijke onderzoekers	:	Bortier K. (U.I. Antwerpen), Vandermeiren K., De Temmerman L.*
Financiering	:	Contract Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap
Vermoedelijke duur	:	1996 - 1998

V.9. Verontreiniging van bodem en gewassen door zware metalen door middel van grasculturen

Verantwoordelijk onderzoeker	:	De Temmerman L.
Financiering	:	Contract Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap
Vermoedelijke duur	:	1981 - 1999

V.10. Potentiële invloed van de wijziging van het klimaat op de opbrengst en de kwaliteit van aardappel

Verantwoordelijke onderzoekers	:	Vandermeiren K., Guns M., De Temmerman L.*
Financiering	:	EU-programma CHIP
Vermoedelijke duur	:	1998 - 2000

VI. Bewaking van de kwaliteit van landbouwproducten

De consument eist meer en meer kwalitatief hoogwaardige producten. Om kwaliteitsnormen te kunnen meten, worden analytische methoden ontwikkeld voor het bepalen van o.a:

- de zuiverheid van voedingsoliën op basis van hun samenstelling aan triglyceriden of vetzuuresters;
- aroma's in voedingsmiddelen;
- additieven in fytosanitaire producten;
- mycotoxinen op granen;
- natuurlijke kleurstoffen van vruchten en bloemen en hun anti-oxidative eigenschappen.

VI. Contrôle de la qualité des produits agricoles

Le consommateur exige de plus en plus des produits de qualité. Dans ce contexte, des méthodes analytiques ont été développées pour la détermination entre autres:

- de la pureté d'huiles agroalimentaires via leur composition en triglycérides ou en esters d'acides gras;
- des arômes dans les aliments;
- des additifs de produits phytosanitaires commerciaux;
- de mycotoxines dans les céréales;
- des colorants naturels des fruits et des fleurs et leurs propriétés anti-oxydantes.

VI.1 Onderzoek naar de verontreiniging van zeeorganismen door zware metalen

Verantwoordelijke onderzoekers : Hoenig M., Guns M.*
Vermoedelijke duur : 3 jaar

VI.2. Identification des acides carboxyliques présents dans la sève en relation avec le dépérissement des forêts

Chercheur responsable :
CERVA : Motte J.C.
Extérieur : Michaux Ch. (Fac. Agr. Gembloux)
Durée probable : 1994 - 1999

VI.3. Détermination des acides aminés dans les plantes polluées aux oxydes d'azote et des alcools et phénols dans des solutions aqueuses

Chercheurs responsables :
CERVA : Motte J.C.*, Callebaut A.,Vandermeiren K.
Extérieur : Windey R.(Waters s.a.)
Durée probable : 1994 - 2002

VI.4. Détection des mycotoxines dans les aliments

Chercheur responsable : Motte J.C.
Durée probable : 1996 - 2002

VI.5. Anthocyanen en anthocyaan-acyltransferasen in cel- en weefselculturen van *Ajuga reptans*

Verantwoordelijke onderzoekers :

CODA : Callebaut A.*, Decleire M.
Samenwerking : Prof. Terahara N., laboratory of Food Chemistry, Minami-Kyushu, University, Japan, Prof. Vlietinck A., Departement Farmaceutische Wetenschappe UIA.
Vermoedelijke duur : 1 jaar

VI.6. Hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le lait

Chercheur responsable : Motte J.C.
Durée probable : 1996 - 1999

VII. Valorisatie van nevenproducten en afval afkomstig van de agro-industriële sector

In eerste instantie zijn de mogelijkheden onderzocht om melkwei te valoriseren. Hiervoor werd een fermentatieproces gekozen, waarbij glucon- en galactonzuur gevormd worden met behulp van een genetisch gemodifieerde bacterie. Later werd het onderzoek geheroriënteerd naar de valorisatie van chitine. Chitine is na cellulose het meest voorkomende polysaccharide in de natuur. De valorisatie wordt nagestreefd via de productie van chitinasen. Chitinasen zijn enzymen die celwanden van schimmels kunnen afbreken en op die manier als een natuurlijk en biodegradeerbaar fungicide kunnen aanzien worden. De hydrolyse van chitine met behulp van specifieke chitinasen levert wateroplosbare oligomeren met laag moleculair gewicht op. Deze producten hebben een aantal interessante eigenschappen, waardoor ze kunnen gebruikt worden in de landbouw en de diergeneeskunde.

VII. Valorisation des sous-produits et des déchets du secteur agro-industriel

Après avoir étudié les possibilités de valorisation du lactosérum par la mise au point d'une bactérie génétiquement modifiée produisant les acides gluconique et galactonique,les recherches s'orientent vers la valorisation de la chitine (polysaccharide le plus abondant après la cellulose) via la production de chitinases qui, en agissant sur les parois des moisissures constitueraient un biofongicide naturel et biodégradable. L'étude des produits d'hydrolyse de la chitine par des chitinases spécifiques devrait aussi aboutir à la production d'oligomères solubles, à faible poids moléculaire, ayant des propriétés intéressantes dans les domaines agricole et vétérinaire.

VII.1. Etude des chitinases produites par diverses souches de *Serratia* et de leur propriété fongicide

Chercheurs responsables : Callebaut A.,Van Huynh N., Decleire M.*
Durée probable : 1995 - 1999

VII.2. Etude du clônage de différentes chitinases de *Serratia marcescens*

Chercheurs responsables : Van Huynh N.*, Motte J.C., Decleire M.,
Durée probable : 1995 - 1999

VIII. Ontwikkeling en toepassing van analytische methodologie

De ontwikkeling van analysemethoden vormen geen doel op zichzelf maar zijn een noodzaak om de andere onderzoeksprogramma's doeltreffend te ondersteunen. Deze onderzoeksprogramma's hebben als onderwerp het leefmilieu, de landbouw, de biochemie, de diergeneeskundige klinische biologie of zijn interessant voor de agro-industrie.

De methodes die momenteel ontwikkeld worden zijn:

a) analyse van hoofdelementen op micro- en ultramicroschaal. Hiervoor wordt vooral aandacht geschonken aan :

- de methode van de monstervoorbereiding
- de eigenlijke meetmethode voor deze elementen

b) scheiding en karakterisatie van eiwitten en enzymen op microschaal met behulp van 2D-electroforese.

VIII. Développement et application des méthodologies analytiques

Les études analytiques et méthodologiques ne sont pas une fin en soi, mais un moyen inévitable pour satisfaire avec un maximum d'efficacité les autres programmes de recherche qui peuvent concerner aussi bien l'environnement, l'agriculture, la biochimie, la biologie clinique vétérinaire ou l'agro-industrie.

Les méthodologies actuellement à l'étude concernent :

a) l'analyse des éléments majeurs traces et ultra-traces. A cet effet sont développées :

- des méthodes pour la préparation des échantillons à l'analyse
- des méthodes pour la mesure de ces éléments

b) la séparation et la caractérisation des protéines et enzymes à l'état de traces au moyen d'une technique d'électrophorèse à deux dimensions.

VIII.1. Méthodologie de la préparation de l'échantillon à l'analyse

Chercheur responsable : Hoenig M.
Durée probable : 3 ans

VIII.2. Méthodologie de mesure d'éléments traces par spectrométrie atomique

Chercheur responsable : Hoenig M.
Durée probable : 3 ans

VIII.3. Participation à la production et dissémination de matériaux de référence de laboratoire (LRMs)

Coordination générale du projet : Apesa, Pau (F)
Chercheur responsable : CERVA : Hoenig M.

Partenaires scientifiques : Universidad de Barcelona (E)
Vrije Universiteit Amsterdam (NL)
INRA Bordeaux (F)
EPAL Lisbonne (P)
ENEA Rome (I)
CERVA (B)

Financement : CE (DG XII, Standards, Measurement and Testing, SMT)
Durée probable : 2 ans

VIII.4. Microkarakterisering van eiwitten

Verantwoordelijke onderzoeker : Callebaut A.
Vermoedelijke duur : 1996 - 2002

IX. Varia - Divers

IX.2. Embryo-pathogeen interactie tijdens het *in vitro* fertilisatie proces bij het rund

Verantwoordelijke onderzoekers :

Buiten	:	Vanroose G., Nauwynck H., De Kruif A. (U.G.)*
CODA	:	Charlier G.
Financiering	:	Onderzoeksfonds UG en IWT
Vermoedelijke duur	:	1995 - 1999
Diersoort	:	Rund.

IX.3. Invloed van verschillende enterotoxigene *E.coli* antigenen op de immuunrespons en op MHC klasse II expressie ter hoogte van de dunnedarm bij het varken

Verantwoordelijke onderzoekers :

Buiten	:	Cox E.*, Goddeeris B., Van den Broeck W. (U.G.)
CODA	:	Charlier G.
Financiering	:	Onderzoeksfonds UG en IWT
Vermoedelijke duur	:	1995 - 1997
Diersoort	:	Varken.

IX.4. Ontwikkeling van een verbeterde diagnostische test voor Amerikaans vuilbroed (*Paenibacillus larvae*) bij de honigbij

Verantwoordelijke onderzoekers :

CODA	:	Dobbelaere W., de Graaf D.*, Peeters J.
Buiten	:	Jacobs, De Vos (U.Gent)
Financiering	:	DG6 / CODA / K. VL. Imkersbond
Vermoedelijke duur	:	1997 - 2001
Diersoort	:	Honigbij.

IX.5. Amélioration de l'approche vaccinale de la bronchite vermineuse bovine

Chercheurs responsables	:	Lonneux J.F., Peeters J.*
Financement	:	Projet demandé auprès de la DG6
Durée probable	:	1998-2003
Espèce animale	:	Bovin.

X. Programma's van het Coordinatiecentrum voor Diergeneeskundige Diagnose (CCDD)

Programmes du Centre de Coordination du Diagnostic Vétérinaire (CCDV)

X.1. Sero-epidemiologische bewaking van de ziekte van Aujeszky

Verantwoordelijke onderzoekers	:	Van Vlaenderen I., Claes M.
Financiering	:	Sanitair Fonds
Vermoedelijke duur	:	1995 - 2000
Diersoort	:	Varken.

X.2. Survey voor onderzoek van populatie-immuniteit van Infectieuse Boviene Rhinotracheitis

Verantwoordelijke onderzoekers	:	Boelaert F.*, Kerkhofs P.
Financiering	:	Sanitair Fonds
Vermoedelijke duur	:	1996 - 2005
Diersoort	:	Rund.

X.3 Survey voor prevalentie onderzoek van paratuberculose

Verantwoordelijke onderzoekers	:	Boelaert F.*, Godfroid J., Walravens K.
Financiering	:	Sanitair Fonds
Vermoedelijke duur	:	1997 - ?
Diersoort	:	Rund.

Wetenschappelijke publicaties

Publications scientifiques

A. TIJDSCHRIFTEN EN BOEKEN - REVUES ET LIVRES

1. ADAM (E.), KERKHOFS (P.), MAMMERICKX (M.), BURNY (A.), KETTMANN (R.) WILLEM (L.). The CREB, ATF-1, and ATF-2 Transcription Factors from Bovine Leukemia Virus-Infected B Lymphocytes Activate - Viral Expression. Journal of virology, 1996, 1990-1999.

Animal species : Bovine, sheep.

Key words : Bovine leukemia virus, transcription, B lymphocyte.

Summary : Efficient transcription and replication of the bovine leukemia virus (BLV) genome require both the viral long terminal repeat (LTR) and the virus-coded transcriptional activator Tax, which functions through a 21-bp sequence (Tax-responsive element [TxRE]) which is repeated three times within the LTR. Since Tax does not bind directly to DNA, host cell transcription factors play a central role in BLV expression. Electrophoretic mobility shift assays with nuclear extracts prepared with infected bovine B lymphocytes revealed five TxRE-specific complexes (C1, C2, C3, C4, and C5). Here, by using a UV-induced indirect labeling technique (UV cross-linking) in conjunction with mobility shift assays, eight major polypeptides of 31, 33, 42, 46, 51, 57, 87, and 119 kDa were identified within these five complexes. Immunoprecipitation experiments identified the 57-and 119-kDa proteins as cyclic AMP response element-binding (CREB) proteins, the 46-and 51-kDa proteins as activating transcription factor-l (ATF-1), and the 87-kDa as protein ATF-2. All of these proteins (except the ATF-1 protein of 51 kDa) belong to the complex C1, which is the major complex identified in freshly isolated BLV-infected lymphocytes from cattle with persistent lymphocytosis. In transient-cotransfection experiments, these three transcription factors were able to activate LTR-directed gene expression in the presence of protein kinase A or Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase IV. CREB protein, ATF-1, and ATF-2 thus appear to be the major transcription factors involved in the early stages of viral expression.

2. BECO (L.), FONTAINE (J.), LEE GROS (T.), CHARLIER (G.). Colour dilution alopecia in seven Dachshunds. A clinical study and the hereditary, microscopical and ultrastructural aspect of the disease. Veterinary Dermatology, 1996, **7**, 91-97.

Animal species : Canine.

Key words : Colour dilution alopecia, Dachshund, ultrastructure, electron microscopy.

Summary : Seven Dachshunds from five different families were studied for late-onset alopecia. All were born blue and tan in litters containing unaffected wild boar coated animals. Six of the seven dogs changed their colour during the first months of their life from blue and tan to 'deadleaf' or grey and tan. Histopathology, light microscopy of hairs and scanning electron microscopy of the hairs showed similarities with those previously described in blue Doberman Pinschers and confirmed the diagnosis of colour dilution alopecia (CDA). Transmission electron microscopy of cross-sectioned hairs showed vacuoles containing melanin granules of different size in medullary, subcortical and intracortical areas. Some opened at the hair surface and released melanin granules. Study of the pedigree proved autosomal recessive inheritance.

3. BORTIER (K.), VANDERMEIREN (K.), DE TEMMERMAN (L.), CEULEMANS (R.). Critical tropospheric ozone levels: preliminary results of ozone fumigations of trees. In: Impacts of Global Change on Tree Physiology and Forest Ecosystems, G.M.J. Mohren *et al* (eds.) 1997, 135-139.

Key words : Ozone level, trees, critical levels

Summary: The response of four tree species - i.e. *Populus nigra* cv. Wolterson (poplar), *Fagus sylvatica* (beech), *Quercus robur* (oak) and *Pinus sylvestris* (Scots pine) - to tropospheric ozone was studied in controled environment growth chambers during one growing season. With the aim to contribute to the evaluation of critical ozone levels, concentrations were set at: 0 ppb ozone, 40 ppb, 80 ppb (with AOT40 of 10 ppm.h, the proposed critical level) and 100 ppb (with AOT40 of 15 ppm.h). Preliminary results show negative effects of 80 and 100 ppb ozone treatments on stem biomass, stem diameter, leaf abscission rate as well as visible leaf injury. Effects were most pronounced in poplar.

4. BOULARD (C.), VILLEJOUBERT(C.), MOIRE (N.), LOSSON (B.), LONNEUX (J.F.). Sero-surveillance of *hypodermosis* in a herd under therapeutic control. Effect of low level of infestation. Veterinary Parasitology, 1996, **66**, 109-117.

Animal species : Bovins.

Key words : *Hypoderma bovis*; immunodiagnosis; eradication programme; herd immunological survey.

Summary : A cattle herd from the experimental farm of INRA in Nouzilly has been treated for hypodermosis since October 1990. Additionally, a regional eradication scheme has been implemented in this area since autumn 1992. Bi-monthly warble counts were performed between March and July each year on an average of 200 animals. No warble was recorded in this herd from 1991 to 1994 with the exception of two dairy cows in 1993. In autumn 1994, therapeutic control measures were stopped. Serological surveys were performed in the autumn of each year from 1991 until 1995. Anti-hypoderma antibodies were found in 25 %, 27.2%, 4.3 %, 3.2 % and 0 % of the animals respectively. An experimental low infestation was conducted in the summer of 1994. During the spring 1994, third instars of *Hypoderma bovis* were collected from naturally infested animals. From a total of 13 pupae, six adults (four males and two females) emerged and were released in the herd of Nouzilly on 24 June and 4 July. In october 1994 serological investigations revealed two animals seropositive for hypodermosis. This number increased to six in January 1995. The antibody kinetics of these six animals remained parallel throughout the next six months: the titres increased up to April and started to fall in May to return to negative values in August. Manual examinations of the animals at weekly intervals between April and July revealed the presence of four warbled animals with one, one, two and three warbles respectively. The two other seropositive animals remained warble free. One other animal showed antibody titre fluctuations between negative and low positive values, but was warble free in the spring. In October 1995 all the animals of the herd were seronegative. The interpretation and the value of a sensitive immunodiagnosis in a large eradication programme are discussed and compared with warble counts, especially in the case of a low level of infestation.

5. BROCHIER (B.), COSTY (F.), DESCHAMPS (P.), HALLET (L.), PEHARPRE (D.), MOSSELMANS (F.), BEYER (R.), LECOMTE (L, MULLIER (P.), BAUDUIN (B.), DESMECHT (M.), PASTORET (P.-P.) Epidémiosurveillance de la rage en Belgique: bilan 1995. Ann. Méd. Vét., 1996, **140**, 347-354.

Animal species : Fox, badger, domestic animals.

Key words : Fox, rabies, epidemiology, Belgium, vaccination, control.

Summary : Epidemiosurveillance of rabies in Belgium: 1995 assessment.
In Belgium, the level of rabies epidemiosurveillance has increased in 1995: an average of 15 foxes/100 km2 were collected in vaccination aera and submitted to rabies diagnosis.
During this year, rabies was confirmed in 135 foxes, 2 badgers and 76 domestic animals collected in southern Belgium (provinces of Luxemburg and Namur). As compared with the epidemiological situation observed in 1994, these cases demonstrated an increase of rabies incidence. Several campaigns of fox vaccination carried out in 1995 were not abble to stop the spread of the disease. Results from both tetracycline (biomarker) and rabies antibodies detection tests showed that protection against rabies was not confered to a sufficient fraction of the fox population.
Regarding the current epidemiological situation, strategies of vaccine-bait distribution need to be adapted to the higher density of fox population.

6. CALLEBAUT (A.), TERAHARA (N.), DECLEIRE (M.)
Anthocyanin acyltransferases in cell cultures of *Ajuga reptans*.
Plant Science, 1996, **118**, 109-118.

Key words: *Ajuga reptans*; cell cultures; acylated anthocyanins; hydroxycinnamoyltransferase; malonyltransferase.

Summary: Two separable anthocyanin acyltransferases were identified in cell cultures of *Ajuga reptans* which accumulate acylated cyanidin- and delphinidin-based anthocyanins. One catalysed the transfer of hydroxycinnamic acids from their CoA-esters to cyanidin 3-sophoroside, anthocyanidin 3,5-diglucosides, anthocyanidin 3-sophoroside-5-glucosides and delphinidin 3-glucosides. The other transferred the malonyl moiety from malonyl-COA preferably to anthocyanidin 3-coumaroylglucoside-5-glucosides and anthocyanodin 3-glucosides. Anthocyanidin 3,5-diglucosides, anthocyanidin 3-sophoroside-5-glucosides, anthocyanidin 3-biosides and cyanidin 3,3'-diglucosides were less effective substrates for the malonyltransferase. The substrate specificity was rather broad, as anthocyanins which were not detected in cell cultures or plants of *Ajuga reptans* were acylated as well. In vitro the hydroxycinnamoyltransferase transferred only one acylgroup per anthocyanin molecule, while in vivo the main anthocyanins of callus, suspension cultures and flowers of *A. reptans* contain two aromatic acylgroups per pigment molecule. The hydroxycinnamoyltransferase activity was totally absent in acyanic calli, while the malonyltransferase activity could be detected in two acyanic callus lines of *A. reptans*. The hydroxycinnamoyltransferase was inhibited by several divalent ions.

7. CALLEBAUT (A.), TERAHARA (N.), DE HAAN (M.), DECLEIRE (M.) Stability of anthocyanin composition in *Ajuga reptans* callus and cell suspension cultures Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1997, **50**, 195-201.

Key words : acylated anthocyanins, cyanidin glycosides, delphinidin glycosides, food colors, Lamiaceae.

Summary: Callus cultures of *Ajuga reptans* produced a complex mixture of cyanidin- and delphinidin-based pigments, of which more than 90 % were acylated. The anthocyanin composition varied little during one growth period. During a time span of 5 years no new anthocyanin classes appeared. Quantitative differences in anthocyanin composition between the callus lines and during a 5 year time span were more pronounced. In general, the accumulation of delphinidin-based anthocyanins decreased. The percentage of acylated anthocyanins was stable in time. The accumulation of metabolically evolved anthocyanins (5'-substituted and acylated) decreased during passage from solid culture to liquid culture. The accumulation of acylated anthocyanins was influenced by the type of aeration in liquid cultures.

7.a. CALLENS M. and De CLERCQ K. (1997). Differentiation of the seven serotypes of FMDV by RT-PCR. Journal of Virological Methods, 67, 35-44.

Animal species : domestic and wild cloven-hoofed animals

Keywords : FMDV, RT-PCR, typing of FMDV

Summary : A strategy for reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) using multiple primers has been developed to detect and to differentiate the seven serotypes of foot-and-mouth disease virus (FMDV) simultaneously, quickly and accurately. The development of the test has been performed on virus isolates grown in tissue culture prior to cDNA synthesis and PCR using various sets of primers. Primers P33 and P32 were used for the consensus PCR to detect FMDV regardless of the serotype. Positive cDNA was assayed in two multi-primer PCR mixes containing type-specific primers capable of distinguishing between the seven serotypes. The serotype-specific primers were selected to correspond to regions of the genome coding for parts of the VP1 polypeptide that is responsible for the antigenic diversity of the virus group. Multi-primer mix P33- P(A-C-O-ASIA 1) gave products of 732, 596, 402, 292 bp for the A, C, O and ASIA 1 serotypes respectively, and no target products for South African Territories serotypes (SAT 1, SAT 2 and SAT 3). The multi-primer mix P33-P(A-C-O-ASIA 1) was also capable of detecting a mixture of two different serotypes. Multi-primer mix P1- P(SAT 1-3-2) gave products of 246, 201 and 75 bp for the SAT 1, SAT 3 and SAT 2 serotypes respectively, and no specific products for serotypes A, C, O and ASIA 1. This is the first time that a PCR assay has been described that differentiates between the SAT serotypes of FMDV. The method has been applied to 25 cell-culture derived isolates of the SAT serotypes of FMDV and the results were totally compatible with the standard techniques for FMDV detection and serotyping.

8. CARMELIET (P.), STASSEN (J.M.), VAN VLAENDEREN (I.), MEIDELL (R.S.), COLLEN (D.), GERARD (R.D.). Adenovirus-mediated transfer of tissue-type plasminogen activator augments thrombolysis in tissue-type plasminogen activator-deficient and plasminogen activator inhibitor-1-overexpressing mice. Blood 1997 Aug 15, **90**(4), 1527-1534

Animal species : Mouse.

Key words : Gene Therapy / Fibrinolysis / Plasminogen Activator Inhibitor 1.

Summary:Impaired fibrinolysis, resulting from increased plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) or reduced tissue-type plasminogen activator (t-PA) plasma levels, may predispose the individual to subacute thrombosis in sepsis and inflammation. The objective of these studies was to show that adenovirus-mediated gene transfer could increase systemic plasma t-PA levels and thrombolytic capacity in animal model systems. Recombinant adenovirus vectors were constructed that express either human wild type or PAI-1-resistant t-PA from the cytomegalovirus (CMV) promoter. Both t-PA-deficient (t-PA(-/-)) and PAI-1-overexpressing transgenic mice were infected by intravenous injection of these viruses. Intravenous injection of recombinant adenovirus resulted in liver gene transfer, t-PA synthesis, and secretion into the plasma. Virus dose, human t-PA antigen, and activity concentrations in plasma and extent of lysis of a 125I-fibrin-labeled pulmonary embolism were all closely correlated. Plasma t-PA antigen and activity were increased approximately 1,000-fold above normal levels. Clot lysis was significantly increased in mice injected with a t-PA-expressing virus, but not in mice injected with saline or an irrelevant adenovirus. Comparable levels of enzyme activity and clot lysis were obtained with wild type and inhibitor-resistant t-PA viruses. Adenovirus-mediated t-PA gene transfer was found to augment clot lysis as early as 4 hours after infection, but expression levels subsided within 7 days. Adenovirus-mediated transfer of a t-PA gene can effectively increase plasma fibrinolytic activity and either restore (in t-PA-deficient mice) or augment (in PAI-1-overexpressing mice) the thrombolytic capacity in simple animal models of defective fibrinolysis.

9. CARMELIET (P.), MACKMAN (N.), MOONS (L.), LUTHER (T.), GRESSENS (P.), VAN VLAENDEREN (I.), DEMUNCK (H.), KASPER (M.), BREIER (G.), EVRARD (P.), MULLER (M.), RISAU (W.), EDGINGTON (T.), COLLEN (D.). Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. Nature 1996 Sep 5, **383**(6595), 73-75.

Animal species : Mouse.

Key words : Tissue Factor / Blood Vessels / Embryology.

Summary : Tissue factor, a member of the cytokine-receptor superfamily and high-affinity receptor and cofactor for plasma factor VII/VIIa, is the primary cellular initiator of blood coagulation. It is involved in thrombosis and inflammation associated with sepsis, atherosclerosis and cancer, and can participate in other cellular processes including intracellular signalling, metastasis, tumor-associated angiogenesis, and embryogenesis. Here we report that inactivation of the tissue factor gene (TF) results in abnormal circulation from yolk sac to embryo beyond embryonic day 8.5, leading to embryo wasting and death. Vitelline vessels from null mice were deficient in smooth-muscle alpha-actin-expressing mesenchymal cells, which participate in organization of the vessel wall. This implies that tissue factor has a role in blood vessel development.

10. CHINA (B.), PIRSON (V.), JACQUEMIN (E.), POHL (P.), MAINIL (J.G.). Pathotypes of bovine verotoxigenic *Escherichia coli* isolates producing attaching/effacing (AE) lesions in the ligated intestinal loop assay in rabbits.
in: Mechanisms in the pathogenesis of enteric diseases. Paul et al. Edit. Plenum Press, New York, 1997, pp. 311-316.

Animal species : Cattle, rabbit.

Key words : Colibacillosis, pathogenesis, molecular biology.

Summary : Effacement of the microvilli and intimate attachment to the enterocytes are common properties of enteropathogenic (EPEC) and many verotoxigenic (VTEC) E.coli from human and animals. Bovine VTEC isolates harbour a variant of the original eaeA gene of the human EPEC E 2348/69 but neither the eaf nor bfp loci present in the same strain, and not all of them possess an eaeB gene. The production of AE lesions in rabbit ligated intestinal loop assay was correlated with the presence of an ieaeiA gene, but not with the presence of an eaeB gene. The eaeA- negative VTEC isolates from cattle produced no AE lesions.

11. DECLEIRE (M.), DE CAT (W.), MOTTE (J.C.), VAN HUYNH (N.), CALLEBAUT (A.) Effect of the peptide and vitamin composition of casein hydrolysates on the β-galactosidase activity of *Kluyveromyces bulgaricus* cells.
Acta Biotechnol., 1996, **16**, 293-301.

Key words : β-galactosidase, peptide, vitamin, casein, *Kluyveromyces*.

Summary : Instead of yeast extracts, casein hydrolysates from several supplies were added to culture media and analyzed with respect to their ability to stimulate β-galactosidase activity in` *Kluyveromyces bulgaricus* cells. Four enzymatic casein hydrolysates caused a significantly higher stimulation of enzyme activity, while acid casein hydrolysates clearly reduced the enzyme activity. Enzymatic casein hydrolysates, inducing high and low lactase activity, were analyzed with respect to average peptide lenght (APL), vitamins (niacin, panthothenate) as well as free and bound amino acids. The molecular weights of these casein hydrolysates were estimated by gel filtration. No correlation was found between the degree of enzyme stimulation and the vitamin contents, the APL values and the free amino acid contents of the casein hydrolysates. Casein hydrolysates stimulating the lactase activity were less soluble in water and, in gel filtration column, they showed three peaks with slightly lower molecular weights than the three peaks seen in hydrolysates which had no effect on activity. APL values of alcoholic precipitates of casein hydrolysates showed an inverse correlation to lactase activity. The molecular weights of alcoholic precipitates of lactase-stimulating digests were also lower compared to non-stimulating ones.
Alcoholic precipitates with lactase- stimulating activity were more hydrophilic, as shown by a smaller proportion absorbed in C18 column and by amino acid analysis. Our results suggest that alcoholic precipitates could probably be important in the lactase stimulation and their composition should be further investigated. The mechanism is nevertheless complex and may be caused by various simultaneous factors.

12. DECLEIRE (M.), DE CAT (W.), TANG (V.H.), MARAITE (H.), MINIER (M.), LE GOFFIC (F.), GULLINO (M.L.), VAN HUYNH (N.).
Determination of endo- and exochitinase activities of *Serratia marcescens* in relation to the culture media composition and comparison of their antifungal properties. Chitin Enzymology, 1996, **2**, 165-169.

Key words: *Serratia*, chitinase, fungicide.

Summary: Endo- and exochitinase activities were determined by measuring the absorbance at 700 nm of a colloidal chitin suspension and the release of acetylglucosamine. Endo- and exochitinases produced by *Serratia marcescens* were measured in relation to the culture media containing various sources of peptones and chitins. The best chitinase activities were obtained with acid casein digests and meat peptones in the presence of chitin.The exo/endo ratios were superior to 0.65. When *Fusarium oxysporum, Botrytis cinerea* and *Aspergillus niger* were used as chitin sources in the presence of acid casein digest, endochitinase activities reached respectively 60, 33 and 22% of the activity induced by chitin and the exo/endo ratios were inferior to 0.15. The antifungal property of culture media was proportional to the activity of chitinases.

13. DECLEIRE (M.), CALLEBAUT (A.), DE CAT (W.), VAN HUYNH (N.). Valorisation de la chitine. Agricontact, 1996, 278, 1-3.

14. DECLEIRE (M.), CALLEBAUT (A.), DE CAT (W.), VAN HUYNH (N.), KHOURY (C.), LE GOFFIC (F.), MINIER (M.). Comparison of extracellular endochitinase activities and antifungal properties of the culture medium after growth of nine *Serratia* species.
Advances in Chitin Science, 1997, 2, 260-265.

Key words: Chitinases, fungicide, *Serratia.*

Summary: Chitinase activity was not directly correlated to antifungal properties. Seven *Serratia marcescens* inhibited *Fusarium oxysporum* at 50 µg of proteins/ ml. The DSM 30121 strain inhibited at 20 µg/ml. *Serratia liquefaciens* and *Serratia plymuthica* were as antifungal as *Serratia marcescens.*

15. DE CLERCQ (K.), LAMBOT (M.), HUBERT (P.), KOENEN (F.), DEBECQ (J.), LETESSON (J.J.), DANES (M.). Bovine lymphocyte responses to foot-and-mouth disease virus antigens. Studies and Researches in Veterinary Medecine, 1996, **4**, 39-46.

Animal species : Domestic and wild cloven-hoofed animals.

Keywords : Lymphocyte responses, foot- and mouth disease, bovine.

Summary : Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from cattle vaccinated with commercial Belgian foot-and-mouth disease virus (FMDV) vaccine proliferated to FMDV O1 in vitro. The lymphocytes largely responsible for the proliferative response to the virus were T-helper cells as defined by experiments on separate subpopulations of T cells. To identify which of the FMDV capsid polypeptides (VP1, VP2 and VP3) were recognized by T-helper cells, the viral polypeptides were separated electrophoretically and collected by electroelution before being tested in a blastogenic assay. All three capsid polypeptides equally stimulated a cellular immune response with PBMC from FMDV-immunized

animals. There was also a significant cellular immune response at a final protein concentration as low as 0.5 mg/ml. The results indicate that a proliferative response to FMDV capsid polypeptides is detectable in cattle immunized against FMDV. Key antigenic determinants involved in the activation of T cells could be identified by using the approach reported in this study.

15.a. De CLERCQ K. en CALLENS M. (1997). Detectie en differentiatie van virussen verantwoordelijk voor vesiculaire ziekten via PCR. Agricontact, 297, 9-11.

Diersoort : tweehoevigen

Keywords : MKZ, RT-PCR, typering, differentiatie

Samenvatting : Een RT-PCR-protocol werd ontwikkeld dat toelaat in twee multiplex PCR's alle zeven de serotypes van MKZV te identificeren. Het systeem werd met succes toegepast op veldstalen afkomstig van de laatste uitbraken in Europa en Zuid-Amerika. De resultaten op stalen afkomstig van contactschapen toonden de noodzaak aan voor een uiterst gevoelige MKZV-detectie. Het toepassen van de vernieuwingen op RT-PCR gebied leidde tot een uiterst gevoelige RT-PCR-ELISA. Deze test laat toe zeer lage concentraties aan virus te detecteren. Bovendien levert deze test een tijdswinst op van een anderhalve dag in vergelijking met virusisolatietest voor lage virus concentraties. We kunnen dus met nog meer zekerheid dieren en dierproducten een MKZV-vrij label geven.

16. DE CLERCK (R.), VYNCKE (W.), GUNS (M.), VAN HOEYWEGHEN (P.). Concentrations of mercury, cadmium copper, zinc and lead in sole from belgian catches (1973-1991). Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent, 1995, 60/1, 1-6.

Key words : Heavy metals, mercury, cadmium, copper, zinc, lead, sole, Belgium.

Summary : Trace metals were determined in sole (Solea solea) from commercial catches from the North Sea, Liverpool Bay, the Bristol Channel, the English Channel and the Bay of Biscaye. Mercury concentrations decreased in the North Sea, Liverpool Bay and the Bristol Channel. Zinc values diminished in the North Sea, Liverpool Bay and the English Channel. Copper values remained at the same level except in the Bristol Channel and the English Channel where they decreased. Lead values showed a downward trend in the North Sea and Liverpool Bay. On the whole, levels of heavy metals in sole have decreased significantly in the past twenty years.

17. DE COCK (H.), VAN ROY (M.R.), DUCATELLE (R.), KINNAER (K.), BROECKAERT (D.), ROELS (S.) Cytokeratin expression in Equine Seborrhoiec Dermatitis of the pastern region. Ter gelegenheid van het 13th European congress on Veterinary Pathology, Edinburgh 27 - 30 september 1995, Abstractboek, 5B - 1. Proceedings verschenen in Eur J Vet Pathol , vol 2, Supplementum, 1996, p 27 (86).

Animal species : Horse.

Keywords : cytokeratin, seborrhoiec dermatitis, pastern region.

Summary: Seiborrhoeic dermatitis in the pastern region of the horse was diagnosed in 20 cases after clinical, parasitological and histological examination. On macroscopic examination the skin was alopecic, thickened and scaling. Profound parasitological

examination remained negative. On histological examination of punch biopsies a lymphocytic perivascular, hyperplastic dermatitis was noticed. Cryostat sections from these samples and from 9 clinically unaffected horses were used for immunohistochemical demonstration in the epidermis and adnexa of the following cytokeratins: CK5, CK6, CK8, CK14, CK16, CK18, CK19 and CK20. The cytokeratins were demonstrated using an indirect immunoperoxidase technique. In the normal skin there was expression of CK5 and CK14 in all layers of the epidermis, as well as in hair follicle epithelium, sweat glands and sebaceous glands. There was no detectable expression of CK6, CK8, CK18 and CK19. In the affected skin, the most important change was an extensive expression of the hyperproliferative markers CK6 and CK 16 in the suprabasal layers of the epidermis. These results represent the first molecular evidence supporting the hypothesis of an altered keratinisation pattern in seborrhoeic dermatitis in the pastern region of the horse.

18. DE COOMAN (P.), HATSE (I.), GUNS (M.). De beoordeling van sedimentkwaliteit: analyse van anorganische parameters. Water, 1996, **89**, 162-168.

Key words : Sediments, water soils, inorganic pollutants, heavy metals, quality assessment.

Summary : At present little is known about the pollution of water soils of Flemish watercourses. Some existing analyses let us presume that the pollution of the surfacewater has lead in many cases to a general deterioration of the sediment quality and to an accumulation of toxic substances. This publication presents the results of a research aiming at developing a practical methodology for the analysis of inorganic micropollutants and for the assessment of the inorganic chemical quality of water soils. The developed and presented methodology can directly be integrated in a triad approach at which quality assessment, risk assessment and proposals for remediation are estimated from the physical-chemical, biological and ecotoxicological properties of the sediment.

19. de GRAAF (D.C.), PEELMAN (L.J.), CLAEREBOUT (E.), HILDERSON (H.), SCHALLIG (H.D.F.H.), VERCRUYSSE (J.). Cloning and sequencing of an excretory/secretory antigen from *Ostertagia ostertagi* fourth-stage larvae containing multiple tandem repeats. Molecular and Biochemical Parasitology, 1995, **72**, 239-241.

Animal species : Bovine.

Key words : Nematode, cDNA-clone, excretory-secretory antigen, parasitology, molecular biology.

Summary : In order to study the excretory-secretory products from *Ostertagia ostertagi,* a gastrointestinal nematode of cattle, a cDNA library was constructed from the 4th-stage larvae and screened using rabbit sera originally developed against *O. ostertagi* or *Haemonchus contortus* ES products. A 1439-bp cDNA clone (pOoES11) was isolated and sequenced.

20. de GRAAF (D.C.), BERGHEN (P.), MOENS (L.), DE MAREZ (T.M.), RAES (S.), BLAXTER (M.L.), VERCRUYSSE (1996). Isolation, characterization and immunolocalization of a globin-like antigen from *Ostertagia ostertagi* adults. Parasitology, 1996, **113**, 63-69.

Animal species : Bovine.

Key words : Nematode, globin, parasitology, molecular biology.

Summary : Western blot analysis using an anti-globin rabbit-serum Rb94 revealed a major band of 17 kDa in extracts of *Ostertagia ostertagi* adults and 4th-stage larvae. The adult stage globin-like antigen (OoAdGlb) was purified from total worm extracts by liquid chromatography. The protein has an estimated molecular mass of 36 kDa under non-reducing conditions, suggesting a dimeric structure containing two non-covalently linked 17 kDa monomers. Tryptic peptides were sequenced and showed strong similarities with the globins of free-living and parasitic nematodes. Immunolocalization revealed the presence of this globin-like antigen in the body wall musculature and/or the cuticle of *O. ostertagi* adults. An enzyme linked immunosorbent assay based on the purified OoAdGlb showed no differences in response between calves infected by *O. ostertagi* and/or *Cooperia oncophora* and the negative controls.

21. de GRAAF (D.C.), PEETERS (J.E.). Specific interferon-gamma, IgA and IgM responses after experimental infection of neonatal calves with *Cryptosporidium parvum*. International Journal for Parasitology, 1997, **27** (1), 131-134

Animal species : Bovine.

Key words : Coccidia, interferon-gamma, immune response, experimental infection, parasitology.

Summary : The in vitro interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells and the local antibody build up was monitored in experimentally *Cryptosporidium parvum*-infected neonatal calves and negative controls of the same age. From day 6 p.i. on, an infection-induced interferon-gamma response was observed in lymphocyte cultures after stimulation with *Cryptosporidium* oocyst antigen preparation. Only the *Cryptosporidium*-infected calves developed local IgA and IgM responses from day 6 p.i. on, with peak values at day 10 p.i. These antibodies disappeared quickly, what might be due to the strict hygienic measures and consequently the absence of a continuous antigenic stimulation.

22. DE GROOTE (D.), ROELS (S.), DUCATELLE (R.), HAESEBROUCK (F.) Hyperkeratosis of the gastric pars oesophagea in pigs: histological and immunohistochemical study of the early lesions. Joint meeting 14th Congress of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP) & 10th Annual Meeting of the Gesellschaft für Toxicologische Pathologie, Gent 24-28 september 1996, Abstractbook p.113.

Animal species : Swine.

Keywords : Hyperkeratosis stomach, pigs, early lesions.

Summary: In this study H.E. stained sections of pars oesophagea samples were studied from piglets (5 - 14 weeks) and sows for different histopathological features and divided in groups. In order to asses the proliferative activity of the epithelium, expression of Ki67 and PCNA was studied immunohistochemically. Generally, epithelial cell proliferative activity was situated in the stratum basale and extended up to 2 - 5 cell layers. Lymphoid cells in the epithelium and lymphoid follicles in the propria also showed strong proliferative activity. Using computerized quantitative image analysis, a higher proliferative was shown

in the epithelium in sows as compared to the piglets. PCNA expression was more extensive than Ki67 expression. Future studies aim at correlating different histological parameters with proliferative activity.

23. DE JONGHE (S.), DE VRIESE (L.), DUCATELLE (R.), HAESEBROUCK (F.), ROELS (S.). Verrucous endocarditis in a Persian cat due to E coli. Meeting 15th Congress of the European society of Veterinary Pathology (ESVP) Sassari - Alghero, Sardinïe, 16 - 19 september 1997, abstractbook p.81.

Animal species : Cat.

Keywords : Endocarditis, E coli.

Summary: A three year old Persian cat with a four week old kitten was examined because of an acute onset of dyspnea, anorexia and hypothermia. Symptomatic treatment was unsuccessful. At necropsy the enlarged heart showed bilateral dilatation and red/grey vegetations involving the aortic valves. Samples were taken for further histological and bacteriological examination. Histologically the heart valves presented a localised papillomatous proliferation of the tunica media with central mucinous area covered with a necrotic plug and mixed with a focal inflammatory infiltrate. Giemsa stained sections showed large aggregates of bacterial proliferation. These bacteria were Gram - negative. On Von Gieson stained section a large amount of collagen fibers was present. E coli was isolated on pure culture from the aortic valves. The bacteriological isolation of E coli and the presence of Gram - negative bacterial proliferations in the vegetations lead to the conclusion that E coli was the etiologic agent. The animal had hypothermia, which may be induced by the endotoxin of a Gram - negative bacterium. The large amount of collagen fibers means that the lesion was already present for a longer period. Endocarditis can result from bacteremia from an infectious focus or a more generalized septicemia. In the present case there was no infectious focus at the time of examination, so the original site of infection could not be determined. A possible hypothesis in this case would be that the parturation 4 weeks before the onset of clinical signs resulted in traumatisation and maybe infection of the genital tract with bacteremia. To our knowledge this is the first report of an E coli induced endocarditis in a cat.

24. DE HERDT (P.), HAESEBROUCK (F.), CHARLIER (G.), DUCATELLE (R.), DEVRIESE (L.A.), VANDENBOSSCHE (G.). Intracellular survival and multiplication of virulent and less virulent strains of *Steptococcus bovis* in pigeon macrophages. Vet. microbiol., 1995, **45**, 157-167.

Animal species : Avian.

Key words : Pigeon, *Streptococcus bovis*, macrophage, virulence, electron icroscopy.

Summary : The intracellular fate of pigeon *S. bovis* strains ingested by macrophages was studied in vivo and in vitro. During in vivo experiments, histological and electron microscopical examinations demonstrated numerous cocci, which appeared to be actively multiplying, within splenic macrophages of pigeons experimentally inoculated with a highly virulent *S. bovis* serotype 1 strain. In pigeons inoculated with a low virulence serotype 3 strain, intracellular cocci were only occasionally observed. For in vitro experiments, pigeon peritoneal macrophages were inoculated with a *S. bovis* serotype1 or serotype 3 strain and incubated. Following an initial decrease, an increase in the number of

intracellular bacteria was observed in tests performed with the *S. bovis* serotype 1 strain, demonstrating intracellular multiplication. Macrophages in these experiments had all died after 7 h of incubation, possibly indicating that the intracellular replication of *S. bovis* resulted in the release of substances toxic for macrophages. In experiments performed with the *S. bovis* serotype 3 strain, the number of intracellular bacteria continuously decreased, reflecting killing of organisms. Significant changes in the number of adhering macrophages in *S. bovis* serotype 3 inoculated cultures were not observed.
These results indicate *S. bovis* in pigeons is a facultative intracellular bacterium and intracellular multiplication may be involved in virulence.

25. DE HERDT (P.), DUCATELLE (R.), LEPOUDRE (C.), CHARLIER (G.), NAUWYNCK (H.). An epidemic of fatal hepatic necrosis of viral origin in racing pigeons (*Columba livia*). Avian Path., 1995, **24**, 475-483.

Animal species : Avian.

Key words : Adenovirus, *Columba livia*, liver, electron microscopy.

Summary : In October 1992, a new disease characterised by acute death in racing pigeons of all ages was noted among the Belgian pigeon population. Clinical symptoms were minimal since affected birds usually died within 24 h. Mortality in pigeon lofts usually amounted to 30%. The most typical necropsy finding was a yellow, pale and swollen liver. Histological and cytological examinations revealed extensive focal or diffuse hepatic necrosis and the presence of eosinophilic or amphophilic nuclear inclusion bodies. This hepatic necrosis of viral origin was diagnosed in 151 (15%) of 988 submissions of pigeons at our Institute in 1993 and 1994.
Oral and intramuscular inoculation of pigeons with a bacteria-free homogenate prepared from the liver of pigeons that died from the disease did not result in clinical signs. However, when similar inoculations were done in pigeons previously treated orally with dexamethasone, pigeons died very suddenly within 4-5 days of inoculation. Necropsy findings in experimentally infected pigeons were identical to those observed in naturally occuring cases. Electron microscopic examination of the liver of inoculated pigeons showed the presence of numerous adenovirus-like particles inside nuclei of hepatocytes. The virus could not be cultured in the allantoic cavity or on the chorioallantoic membrane of embryonated chicken eggs. Clinical signs and lesions described here are clearly different from adenovirus enteritis in young pigeons abundantly described since 1976.

26. DEQUIEDT (F.), HANON (E.), KERKHOFS (P.), PASTORET (P.), PORTETELLE (D.), BURNY (A.), KETTMANN (R.), WILLEMS (L.). Both Wild-Type and Strongly Attenuated Bovine Leukemia Viruses. Protect Peripheral Blood Mononuclear Cells from Apoptosis. Journal of Virology, 1997, **71**, p. 630-639.

Animal species : Sheep, bovine

Key words : Bovine leukemia virus, attenuation, apoptosis, blymphocyte

Summary : Bovine leukemia virus (BLV) and the human T-cell leukemia viruses belong to the same subfamily of oncoviruses. Although much attention has focused on the mechanisms of cell proliferation and transformation by these viruses, experiments on the apoptotic process have yielded conflicting data in in vitro cell culture. Experimental infection of sheep with BLV proviruses offers the opportunity to analyze apoptosis in vivo.

Here, we show that BLV-infected peripheral mononuclear cells, cultivated ex vivo, are protected from spontaneous programmed cell death. Moreover, the virus is able to specifically interfere with the apoptotic program of infected B lymphocytes. Strongly attenuated mutant proviruses that harbor deletions in the G4 and/or R3 genes also decrease the global susceptibility to apoptosis at levels similar to those obtained with the wild-type virus. In addition, cell culture supernatants from wild-type and mutant viruses can prevent uninfected cells from undergoing programmed cell death. These observations demonstrate that the R3 and G4 genes are not required to maintain both direct and indirect protection against apoptosis. They also imply that the level of programmed cell death observed ex vivo is independent of the amounts of proviruses in the animals. The failure of these cells to undergo apoptosis might be related to the pathogenesis induced by BLV.

27. D'HOOGHE (I.), MICHIELS (J.), VLASSAK (K.), VERRETH (C.), WAELKENS (F.), VANDERLEYDEN (J.) (1995). Structural and functional analysis of the *fixLJ* genes of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* CNPAF512. Mol. Gen. Genet. Nov 1995, vol. 249(1),117-126.

Animal species :

Key Words: *Rhizobium*, nitrogen fixation, two-component systems, FixL, FixJ

Summary: The *fixLJ* genes of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* CNPAF512 were identified by DNA hybridization of a genomic library with an internal fragment of the *Rhizobium meliloti fixJ* gene. The nucleotide sequence was determined and the corresponding amino acid sequence was aligned with the amino acid sequences of the FixL proteins *of R. meliloti, Bradyrhizobium japonicum* and *Azorhizobium caulinodans*. While the FixJ protein and the carboxy-terminal part of the FixL protein are highly homologous to the other FixL and FixJ proteins, the homology in the central heme-binding, oxygen-sensing domain and in the amino-terminal domain of FixL is very low. The *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* FixL protein does not contain the heme-binding motif defined for the previously described FixL proteins. *R. leguminosarum* bv. *phaseoli fixLJ* and *fixJ* mutants were constructed. These mutants can still fix nitrogen, albeit at a reduced level. Expression analysis of *nifA-gusA* and *nifH-gusA* fusions in the constructed mutants revealed that the *R. leguminosarum* bv. *phaseoli fixLJ* genes are involved in microaerobic *nifH* expression but not in *nifA* expression.

28. D'HOOGHE (I.), VANDER WAUVEN (C.), MICHIELS (J.), TRICOT (C.), DE WILDE (P.), VANDERLEYDEN (J.), STALON (V.) (1997). The arginine deiminase pathway in *Rhizobium etli:* sequence analysis and functional study of the *arcABC* genes. J. Bacteriol. Dec. 1997 ; vol. 179(23),7403-7409

Key Words: *Rhizobium*, nitrogen fixation, arginine deiminase pathway, catabolic ornithine carbamoyltransferase

Summary: Sequence analysis upstream of the *Rhizobium etli fixLJ* homologous genes revealed the presence of three open reading frames homologous to the *arcABC* genes of *Pseudomonas aeruginosa*. The *P. aeruginosa arcABC* genes code for the enzymes of the arginine deiminase pathway: arginine deiminase, catabolic ornithine carbamoyltransferase (cOTCase), and carbamate kinase. OTCase activities were measured in free-living *R. etli* cells and in bacteroids isolated from bean nodules. OTCase activity in free-living cells was observed at a different pH optimum than OTCase activity in bacteroids, suggesting the

presence of two enzymes with different characteristics and different expression patterns of the corresponding genes. The characteristics of the OTCase isolated from the bacteroids were studied in further detail and were shown to be similar to the properties of the cOTCase of *P. aeruginosa*. The enzyme has a pH optimum of 6.8 and a molecular mass of approximately 450 kDa, is characterized by a sigmoidal carbamoyl phosphate saturation curve, and exhibits a cooperativity for carbamoyl phosphate. *R. etli arcA* mutants, with polar effects on *arcB* and *arcC*, were constructed by insertion mutagenesis. Bean nodules induced by *arcA* mutants were still able to fix nitrogen but showed a significantly lower acetylene reduction activity than nodules induced by the wild type. No significant differences in nodule dry weight, plant dry weight, and number of nodules were found between the wild type and the mutants. Determination of the OTCase activity in extracts from bacteroids revealed a strong decrease in activity of this enzyme in the *arcA* mutant compared to the wild-type strain. Finally, we observed that expression of an *R. etli arcA-gusA* fusion was strongly induced under anaerobic conditions.

29. GIANGASPERO (M.), VANOPDENBOSCH (E.), DE CLERCQ (K.), TABBAA (D.), NISHIKAWA (H.) . Seroepidemiological survey for Bluetongue, Orf virus, caprine herpesvirus type 1 and Foot and Mouth Disease virus type A, O and C in Awassi sheep in Syria. Veterinaria Italiana, 1995, **17**, 24-29

Animal species : Ovine.

Key words : Bluetongue (BT), Orf, Caprine herpes virus type 1, Foot and Mouth Disease (FMD) types A5,01 and C1 , Antibody, Sheep, Syria.

Summary : Syrian Awassi sheep flocks were screened for antibodies against Bluetongue (BT) virus (AGID test), Orf virus and caprine Herpesvirus type 1 (CHV1) (IIF test), and Foot anf Mouth Disease (FMD) virus types A5, O1 and C1 (ELISA test). Eight hundred and ninety six animals, out of 1,353, showed seropositiviness (66.2%) to Btv. Levels of BT infection were found in all the screened provinces. In a limited number of samples (n=116) 40.5% of test sera showed anti-Orf antibodies. Anti-CHV1 antibodies were found in 46 sera (43%) out of 107 tested. higher larval output of Muellerius, Prostrongilus and neostrongilus lungworms appeared to be related to seropositiviness to CHV1; None of the tested sheep sera (n=72) reacted to FMD virus types used.

30. GIANGASPERO (M.), VANOPDENBOSCH (E.), BLONDEEL (H.), NISHIKAWA (H.). Seroepidemiological survey on bovine herpesvirus type 1, bovine viral diarrhoea, parainfluenza virus type 3, respiratory syncytial virus and adenovirus type 3 in goats in North west Syria. Veterinaria Italiana, 1996, **2**, 29-30.

Animal species : Caprine.

Key words : Adenovirus type 3, Bovine Herpesvirus type 1, Bovine Viral diarrhoea, goats, Parainfluenza virus type 3, respiratory syncytial virus, Syria.

Summary : A seroepidemiological survey was undertaken in goats in North west Syria.Out of 72 sera, the 25% of animals were seropositive for respiratory Syncytial virus and Adenovirus type 3. five sera only reacted for Bovine Herpesvirus type 1 (6.9%). None of the tested sera reacted neither to Bovine Viral Diarrhoea virus or Parainfluenza virus type3.

31. GIANGASPERO (M.), VANOPDENBOSCH (E.), NISHIKAWA (H.), TABBAA (D.). Prevalence of antibodies against respiratory viruses (Parainfluenza virus type 3, Respiratory Syncytial Virus, Reovirus and Adenovirus) in relation to productivity in Syrian Awassi sheep. Trop. Anim. Hlth. Prod., 1997, **29**, 2, 83-91.

Animal species : Ovine.

Key Words : Respiratory Syncytial virus (RSV), Para Influenza virus type 3 (PI3), Respiratory Enteric Orphan (REO) virus and Adenovirus, Antibody, Sheep, Productivity.

Summary : Awassi sheep sera from all the provinces of the Syrian Arab Republic were tested for RSV, PI3, REO and Adenoviruses (IIF and AGID tests). RSV was the prevalent infection with 63.6% of seropositiviness. REO and PI3 infections were less frequent, showing 27.3% and 24%, respectively. Adenovirus showed the lowest prevalence (8.1%). Animals were more frequently infected by RSV alone. Mixed infections were also identified, but the occurrence was not high. The RSV and REO virus infections occurred more frequently when transhumant flocks travelled for long distances ($P<0.001$). The prevalence of RSV, PI3, REO and Adenovirus infections was higher in animals sheltered in bad conditions ($P<0.001$; $P<0.001$; n.s.;
$P<0.05$). RSV and PI3 virus were more related to an adult mortality rate of 10-20% ($P<0.001$); REO virus was also proportionally related to mortality from low to high rates ($P<0.05$). Concerning mortality of lambs, only Adenovirus infection was related to losses (<20%) ($P<0.001$). REO virus was related to low milk yield ($P<0.05$).

32. GIERTICH (M.J.), DE TEMMERMAN (L.O.), RACHWAL (L.). Distribution of elements along the length of Scots pine needles in a heavily polluted and a control environment. Tree physiology, 1997, **17**, 697-703.

Key words : Chemical elements, needle part, nutrients, *Pinus sylvestris*, pollution.

Summary : Pollution often causes visible symptoms of foliar injury. The injury is sometimes associated with an increase in the accessibility of toxic elements to plants as a result of acidification of the soil. We investigated the distribution of elements (N, P, K, Ca, Mg, Mn, S, Fe, B, Cu, Zn, Al, F, Pb, Cd, Cr, Ni and Co) in healthy current year needles of Scots pine (*Pinus sylvestris L.*) growing at an unpolluted control site and at site polluted mainly by SO2, HF and Al3+ from a fertilizer factory established in 1917. Needles from both sites were sampled before the appearance of visible injury and cut into five sections to equal length (tip, base and three middle parts). The mean concentrations of major nutrients were 20-30 % lower in needles at the polluted site than in needles at the control site, whereas the concentrations of aluminium and fluorine were higher in needles at the polluted site. An increase in concentration from needle base to tip was detected for N, Fe, B and Al at both sites and for Mn only at the polluted site. Fluoride accumulated in the tips of the needles only at the polluted site, which could explain the necroses of needle tips at this site. The distribution of elements along the length of the needles was influenced by pollution, element mobility and the distal accumulation of toxic elements.

33. GODFROID (J.), CZAPLICKI (G.), KERKHOFS (P.), WEYNANTS (V.), WELLEMANS (G.), THIRY (E.), LETESSON (J.-J.). Assessment of the cell-mediated immunity after bovine herpes virus 4 (BHV4) infection in cattle by in vitro BHV4 Antigen-Specific IFN-γ Production. Vet. Microbiol., 1996, **53**, 133-141.

Animal species : Bovine

Key words : BHV4 - CMI - IFN gamma

Summary : The cell-mediated immunity (CMI) following bovine herpesvirus 4 (BHV4) infection has been poorly investigated in cattle. The in vivo response measured by a Delayed Type of Hypersensibility (DTH) assay has been reported to be negative or positive in only few animals showing serological evidences of BHV4 infection. We have investigated the CMI following BHV4 infection by an in vitro antigen-specific Interferon gamma (IFN-γ) release assay, as an indicator of an actively acquired immunity to BHV4. Our preliminary results using a partially purified antigen suggest that there was a measurable CMI in 75 out of 168 animals (44.4%) originating from a farm with a clinical history and serological evidences (76.3% seropositivity) of BHV4 infection. If the results of serological tests and BHV4 IFN-γ test are interpreted in parallel, 81.5% of the animals are classified positive, attesting the complementarity of these tests. The specificity of the BHV4 IFN-γ test was attested by the absence of a measurable CMI in 41 animals originating from a farm with no clinical history or serological evidence of BHV4 infection. In an allied study, we developed a bovine herpesvirus 1 (BHV1) IFN-γ test. This allowed us to measure the antigen specific IFN-γ release after stimulation with a mixture of BHV1 and BHV4 antigens. Animals that were classified negative by the BHV4 IFN-γ test and by the BHV1 IFN-γ test, were classified negative after stimulation with a mixture of both antigens. Animals that were classified positive by the BHV4 IFN-γ test or the BHVl IFN-γ test, were classified positive after stimulation with a mixture of both antigens. All together these results suggest that the in vitro assessment of the CMI after BHV4 infection should be further investigated as a specific and valuable alternative to the DTH assay.

34. GOFFAUX (F.), MAINIL(J.), PIRSON (V.), CHARLIER (G.), POHL (P.), JACQUEMIN (E.), CHINA (B.). Bovine attaching and effacing *Escherichia coli* possess a island related to the LEE of the human enteropathogenic *Escherichia coli* strain E2348/69.

Animal species: catlle

Key words:Attaching-effacing *Escherichia coli* , catlle, molecular pathogenesis.

Pathogenesis of AEEC was mainly studied in human enteropathogenic *E.coli* strain E2348/69 in which the viruence correlated with the presence of a 35.4 kb island called LEE. We showed that several strains isolated from calves with diarrhea were able to produce attaching and effacing lesions in a rabbit ileal loop model and that they possess a pathogenesis island related to the LEE. Moreover, we showed that the LEE from bovine strainswas inserted mainly at a different position in the chromosome compared to the human enteropathogenic *E.coli* strain E2348/69.

35. GOOVAERTS (D.), ROELS (S.), PAUL (G.), DUCATELLE (R.)Klossiella equi Infection in Horses in the Netherlands and Belgium. Joint Meeting 14th Congress of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP) & 10th Annual Meeting of the Gesellschaft für Toxicologische pathologie, Gent, 24-28 september 1996, Abstractbook p.43.

Animal species : Horse.

Keywords : Klossiella equi, Netherlands, Belgium.

Summary: We describe the result of two surveys for Klossiella equi, a coccidian parasite which occurs in the kidneys of the horse and other equines. This parasite has been reported in various regions of the world but its prevalence is still unknown. Most of the recorded cases were accidentally encountered in histological sections. The first survey was carried out over a two year time period at the Intervet Experimental Farm in the Netherlands and encompassed 53 horse. Eight horses (15.9 %) were positive for K. equi and schizogonic, gametogonic and sporogonic stages were encountered in most of them. No clinical nor macroscopic were seen in any of the affected horses. In fresh and deep frozen urine of some positive horses, oval thin - walled structures containing sporozoites could easily be identified as sporocysts. Urine analysis was demonstrated to be easy and useful although not very sensitive for diagnostic purposes. The second survey conducted in Belgium, encompassed 47 horses which were routinely presented for autopsy. Only 1 horse (2.1 %) presented Klossiella equi parasites. Microscopically, 20 of 53 (Netherlands) and 33 of 47 presented interstitial nephritis. We conclude that the prevalence of K. equi infection is probably underestimated and that endemic infection is likely to occur.

36. GOUX (S.), VAN ELSEN (Y.), AGATHOS (S.N.), PUSSEMIER (L.). Biodegradation of 3 s-triazine herbicides in liquid medium under different nutrient conditions. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen, Universiteit Gent, 1997, **62/2a**, 235-242

Key words: triazine herbicides, biodegradation, bacterial community, water clean-up

Summary: The effects of the presence of nutrients (glucose, ammonium) on the biodegradation of atrazine, simazine and cyanazine (at the µg/l level) by a bacterial community adapted to atrazine degradation are reported. The addition of ammonium (with or without glucose) to the basal synthetic medium enhanced the degradation rates of the herbicides, leading to DT50 values lower than 10 days for atrazine and simazine. The addition of glucose alone had little effect on herbicide degradation. Degradation in natural water (lake water) was slow presumably due to different pH and nutrient conditions that were not favorable to the microbial community activity. Cyanazine was the most reccalcitrant pesticide in most of the experimental conditions tested.

37. GUITTET (M.), MEULEMANS (G.), VINDEVOGEL (H.), DUCHATEL (J.P.). Avian Vaccines. In : Veterinary Vaccinology, P.P. Pastoret, J. Blancou, P. Vannier and C. Verschueren Editors, Elsevier, 1997, p.395-405.

Animal species : Avian

Key words : Vaccine

38. GUNS (M.), VAN HOEYWEGHEN (P.), BAETEN (H.), HOENIG (M.), VYNCKE (W.), HILLEWAERT (H.). Evolutie van de gehalten aan zware metalen in sedimenten van het Belgisch continentaal plat (1979-1995). Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (CLO Gent). Publicatie nr. 242 - D/1997/0889/1 (+ engelstalige versie voor Oslo/Parijs commissie, OSPARCOM).

Key words : Heavy metals, sediments, Belgian Continental Shelf.

Summary : Results of investigations on thirteen stations on the Belgian Continental Shelf in the period 1979-1995 are discussed. Four of these areas are dumping sites for dredge spoils. Mercury, lead, copper, zinc, chromium, nickel and aluminium were assessed. In most stations, concentrations of trace metals showed a downward trend, indicating lower inputs of contaminants in the marine environment. Study of the spacial distribution of metal showed the concentrations to diminish with the distance to the coast. Comparisons with background concentrations from the pre industrial period allowed to calculate enrichment factors. These were high for mercury, lead and zinc. Applying ecotoxicological assessment criteria, 'no observed effect concentrations' were not exceeded. Nevertheless, on five stations including three dumping areas, contents were higher than the proposed lower toxicity limit (safety coefficient of 10) and should receive special attention.

39. HILDERSON (H.), BERGHEN (P.), de GRAAF (D.C.), CLAEREBOUT (E.), VERCRUYSSE (J.). Immunisation of calves with *Ostertagia ostertagi* fourth stage larval antigens failed to protect calves from infection. International Journal for Parasitology,1997, **25** (6), 757-760.

Animal species : Bovine.

Key words : Nematode, vaccination, parasitology.

Summary : Excretory-secretory and somatic antigens of *Ostertagia ostertagi* fourth stage larvae, emulsified with complete Freund's adjuvant, were intraperitoneally administered to calves on three occasions. Two weeks after the last immunisation all calves were infected with a single dose of 130.000 O. ostertagi third stage larvae. All animals were necropsied 25 days after infection. The immunisation procedure resulted in IgG1 and IgG2 antibodies, however no protective immunity was induced as *O. ostertagi* worm burdens and worm length were similar in all groups.

40. HOENIG (M.). Critical discussion of trace element analyses of plant matrices. The Sciences of the Total Environment, 1995, **176**, 85.

Key words : Plant samples, mineralization, atomic spectroscopy.

Summary : This survey shows the possibilities and limitations of atomic spectroscopy methods for trace metal analyses of plant material. It drew attention to the problem of the validity of routine results and showed that suitable mineralization procedure and proper use of possibilities of the apparatus allows to avoid severe errors.

41. HOENIG (M.), DHEERE (O.). Evaluation of end-capped tubes for transverse heated graphite atomizer electrothermal atomic absorption spectrometry. Microchimica Acta, 1995, 119, 259.

Key words : Electrothermal AAS, transverse heated atomizer, performance.

Summary: Transverse heated graphite tubes with (EC-THGA) and without (THGA) end caps have been tested with respect to characteristic mass, detection limits and reproducibilities at two levels of concentration for four different types of analytes. Compared for Cd, Pb and Cr with a standard THGA tube, the EC-THGA tube exhibits a gain of sensitivity by a factor of about 1.4 in terms of characteristic masses. Also detection

limits are significantly improved for the end-capped tube design tested. The presence of end caps increases the mass of the tube and decreases consequently the heating rate achieved. As shown on the molybdenum example, the atomization efficiency of refractory metals is not so good as with standard THGA tubes. Interference effects studied on the Cd, Pb and Cr determinations in environmental samples (sediments, plants and animal tissues) are similarly negligible for the two tubes tested.

42. HOENIG (M.), DE KERSABIEC (A.-M.). Comment assurer la qualité des résultats analytiques en spectrométrie d'absorption atomique électrothermique? Réponses à 77 questions essentielles. Editions C-Cube, Paris, 1995.

43. HOENIG (M.), DE KERSABIEC (A.-M.). Sample preparation steps for atomic spectroscopy methods: present status. M. Hoenig, A.-M. de Kersabiec - Spectrochimica Acta reviews (part B), 1996, **51B**, 1297.

Key words: Sample preparation, atomic spectroscopy methods.

Summary: A comprehensive review on the sample preparation steps (mineralization, solubilization, pre-concentration, separation, direct analysis) for trace element analysis using atomic spectroscopy techniques.

44. HOENIG (M.). Importance des étapes de préparation de l'échantillon lors de l'analyse des éléments traces. Spectra Analyse, 1996, **189**, 23.

Key words: Sample preparation steps, mineralization, solid sampling.

Summary: Review of methods to apply to the samples before determinations.

45. HOENIG (M.), BAETEN (H.), VANHENTENRIJK (S.), PLOEGAERTS (G.), BERTHOLET (T.). Evaluation of various commercially available nebulizers for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Analusis, 1997, 25, 13.

Key words: ICP-AES, environmental samples, pneumatic nebulizers, micro-concentric nebulizer, ultrasonic nebulizer, spray chambers.

Summary: Behaviours of different commercially available sample introduction devices for ICP-AES, i.e. pneumatic nebulizers (concentric, V-groove, micro-concentric), plus one ultrasonic nebulizer and two spray chambers (Sturman-Masters, cyclonic) were studied and their figures of merit (LODs, RSDs, memory effects) were determined. Also the influences of added nitric acid and of the main matrix elements on the emission signals of trace elements were investigated. In most cases, these effects may be considered as negligible for usual routine ICP-AES analysis of environmental samples. Recovery studies were done for the main matrix elements (Ca, Na, K, Mg, P, Fe) and trace elements (Mn, Cu, Co, Cr, Zn, Pb, Ni) for two reference plant samples. They have confirmed the validity of the method for all nebulization systems studied.

46. IMBERECHTS (H.), DEPREZ (P.), VAN DRIESSCHE (E.), POHL (P.). Chicken egg yolk antibodies against F18ab fimbriae of *Escherichia coli* inhibit shedding of F18 positive *E. coli* by experimentally infected pigs. Vet Microbiol., 1997, **54**, 329-341.

Animal species : Pig.

Key Words : *Escherichia coli,* pig-bacteria, edema disease, diarrhea, adherence inhibition, hen egg yolk antibody purification.

Summary : F18ab and F18ac are antigenic variants of a colonizing fimbria commonly found on *E. coli* associated with postweaning diarrhea and edema disease in pigs. Chicken F18ab antibodies were obtained by immunising hens with purified F18ab fimbriae. For their in vitro characterisation antibodies were isolated from diluted egg yolks by ammonium sulfate precipitation. In vitro adhesion tests demonstrated that the chicken F18ab antibodies inhibited attachment of F18ab positive *E. coli* bacteria to the intestinal mucosa. Just weaned piglets were experimentally infected with an F18ab positive edema disease strain of *E. coli*, or with an F18ac positive postweaning diarrhea *E. coli* strain. The animals were infected on the second day of a period during which chicken F18ab antibodies were added to their feed. During the same period, pigs of the control group received commercial eggs in which no F18 antibodies were detected. In both experimental infections the excretion of the F18 positive strain was reduced in pigs that received the F18ab antibodies as compared to the control animals. The F18ab antibodies diminished the cases of diarrhea and death in animals infected with F18ac positive *E. coli*.

47. IMBERECHTS (H.), BERTSCHINGER (HU.), NAGY (B.), DEPREZ (P.), POHL (P.). Fimbrial colonisation factors F18ab and F18ac of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhea and edema disease. Adv Exp Med Biol, 1997, **412**, 175-183.

Animal species : Pig.

Key words : *Escherichia coli,* adhesion factors, edema disease, postweaning diarrhea.

Summary: During the last 5 years at least four new types of colonisation factors have been described in association with porcine postweaning diarrhea and edema disease strains of *E. coli*. Recently, evidence was presented that these fimbrial factors are closely related to each other, and therefore the common denomination F18 was proposed. Until now, two variants F18ab and F18ac were identified that can be distinguished by serology. Alternatively, to circumvent elaborate growth conditions for the optimal expression of F18 fimbriae in vitro, PCR and subsequent restriction enzyme digestion of the amplification product can be used to differentiate F18ab from F18ac positive isolates. Reports that studied the prevalence of F18 positive *E. coli* show that this factor is present in about 30% to more than 50% of the PWD or ED strains negative for F4, F5, F6 or F41. Susceptibility of pigs to colonisation depends on the availability of intestinal receptors, and is under the control of a chromosomal locus. In young pigs susceptibility increases with age. Intestinal infection with F18 positive *E. coli* induces protection against repeated colonisation with *E. coli* bearing the homologous or the heterologous fimbrial variant of F18. Finally, preliminary passive protection studies suggest that F18 antibodies inhibit the colonisation of the pig's intestine by F18ab and F18ac positive strains.

48. IMBERECHTS (H.), WILD (P.), CHARLIER (G.) DE GREVE (H.), LINTERMANS (P.), POHL (P.) . Characterization of F18 fimbrial genes *fed*E and *fed*F involved in adhesion and length of enterotoxemic *Escherichia coli* strain 107/86. Microb Pathog.,1996, **21,** 183-192.

Animal species : Pig.

Key words : oedema disease, F18 fimbriae, minor subunits, FedE, FedF, adhesion.

Summary: Infection of susceptible weaned pigs with oedema disease strains of *E. coli* is associated with bacterial adhesion to the small intestine. F18 fimbria (previously named F107) was the first colonisation factor described on oedema disease strains, and its genetic determinant was cloned. In the present study, genes *fed*E and *fed*F were positioned in the F18 gene cluster, downstream of the major structural subunit gene *fed*A. Two *fed*E and two *fed*F mutants were identified that had lost their capacity to adhere to isolated porcine villi. Moreover, these mutants produced significantly longer fimbriae. In vitro adhesion tests, electron microscopy study, transcomplementation tests, and nucleotide sequence analysis indicated that proteins FedE and FedF are F18 minor subunits essential for fimbrial adhesion and effecting fimbrial length.

49. IMBERECHTS (H.), STOKMANS (A.), MARIN (M.), POHL (P.). 1997. A propos des *Salmonella* étudiées à l'Institut National de recherches Vétérinaires (INRV): nouveau système de collecte des données et leur exploitation. Exemple des souches isolées de septembre à décembre 1996. Ann Méd Vét **141**: 407-410.

Animal species: livestock

Key words: *Salmonella*, serotyping, resistance profile, centralisation of data

Summary: Since September 1996 laboratory data of *Salmonella* isolates sent to the Laboratory for General Bacteriology for characterization are registered together with a more detailed description of their origin. In poultry *S.* Enteritidis, *S.* Hadar and *S.* Infantis are most prevalent and in pigs the main serovar is *S.* Typhimurium. In general, the resistance profiles of strains belonging to these serovars are independant of their origin, with *S.* Enteritidis being resistant, whereas *S.* Typhimurium and *S.* Hadar are multiresistant. The centralisation of laboratory results and data on the origin of the isolates may help in recognizing trends.

50. IMBERECHTS (H.) 1997. Opsporing van *Salmonella* bij pluimvee. Vl Diergen Tijdsch: **66**: 309-313.

Animal species: poultry

Key words: *Salmonella*, breeders, broilers, layers, monitoring/surveillance system

Summary: In 1993 the Veterinary Services of the Ministry of Middle Class and Agriculture started a sanitary programme in the poultry sector to bacteriologically monitor all hatcheries and breeder flocks. Due to the consumer's concern for safe food, the interest of the distribution and retail sectors, the implementation of the zoonoses directive, and in order to protect the poultry sector in our country, additional investigations are carried out

since 1 November 1997 that aim at the detection of *Salmonella*. This paper outlines the new programme, and discusses its aims and perspectives.

51. ISSA (S.), WOOD (M.), PUSSEMIER (L.), VANDERHEYDEN (V.), DOUKA (C.), VIZANTINOPOULOS (S.), GYORI (Z.), BORBELY (M.), KATAI (J.). A comparative study of subsurface degradation in four European countries. In "Pesticides, soil microbiology and soil quality", (Anderson J.P.E., Arnold D.J., Malkomes H.P., Lagacherie B., Oliveira A.B., Plücken U., Tarry A., Soulas G., Torstensson L., Editors), published by SETAC Europe, 1996, 139-142.

Animal species :

Key words: Atrazine, biodegradation, subsurface, intercomparison.

Summary: In the framework of the European Project dealing with pesticide degradation in the subsurface environment, it has been decided to perform an intercomparison exercise in order to check the validity of the various methods used by the different teams involved in the project. This paper (first presented as a poster at the COST66 meeting in Stratford-upon-Avon) summarizes the main results gathered in Belgium, Greece, Hungary and United Kingdom.

52. KERKHOFS (P.), ADAM (E.), DROOGMANS (L.), PORTETELLE (D.), MAMMERICKX (M.), BURNY (A.), KETTMANN (R.), WILLEMS (L.). Cellular Pathways Involved in the Ex Vivo Expression of Bovine Leukemia Virus. Journal of Virology, 1996, **70**, 2170-2177.

Animal species : Bovine.

Key words : Bovine leukemia virus, signal transduction, blymphocyte.

Summary : Bovine leukemia virus (BLV) is the etiologic agent of enzootic bovine leukosis. The virus adopts a strategy based on the lack of viral expression in vivo: only very rare BLV-infected B lymphocytes express viral information. When the cells are isolated from animals in persistent lymphocytosis and cultivated ex vivo, a tremendous increase in viral expression occurs. To gain insight into this mechanism, we employed a general approach using chemicals that interfere specifically with cellular pathways involved in signal transduction from the cell membrane to the nucleus. Our data demonstrate that BLV expression is not correlated with the activity of protein kinase A (PKA) and is even inhibited by cyclic AMP (cAMP). The AMP/PKA pathway is thus apparently not involved in ex vivo viral expression. In contrast, PKC appears to play a key role in this process. Phorbol myristate acetate can directly activate viral expression in B cells (in the absence of T cells). Furthermore, calphostin C, a highly specific inhibitor of PKC, partly decreases ex vivo BLV expression. Our data further demonstrate that calmodulin and calcineurin, a calmodulin-dependent phosphatase, play a key role in the induction of viral expression. The involvement of this calmodulin-dependent pathway could explain the induction of expression that cannot be assigned to PKC. Furthermore, it appears that the activation of viral expression requires a calmodulin but not a PKA-dependent pathway. These data highlight major differences between transient transfection and ex vivo experiments. Finally, despite their homologies, BLV and human T-cell leukemia virus appear to use different signal transduction pathways to induce viral expression.

53. KHOURY (C.), LE GOFFIC (F.), DECLEIRE (M.), VAN HUYNH (N.), MINIER (M.). Production d'enzymes hydrolytiques par *Serratia marcescens* 990 E en vue de la conception d'un biofongicide. Génie de la réaction en microbiologie et biochimie, 1997, **11**, 61-66.

Key words: Chitinases, *Serratia marcescens,* biofongicide.

Summary: The kinetics of production of chitinases by *Serratia marcescens* 990 E was determined under various conditions of culture. A minimal medium containing 10 g of chitin/ L and 0.5 g of yeast extract/ L allowed the production of 32 chitinase U/ ml after 120 H. Dissolved oxygen was necessary for growth and production of chitinases. Increasing pO2 between 5-20 % led to an increase of productivity.Fed-batch- mode addition of chitin did not induce a better yield. By chomatofocusing, four chitinases with pI's of 8.55, 8.37, 8.29 and 8.16 were visualized

54. KHOURY (C.), MINIER (M.), VAN HUYNH (N.), Le GOFFIC (M.). Optimal oxygen concentration for the production of chitinases by Serratia marces cens. Biotech Lett. 1997, 19, 1143-1146.

Key words: Chitinases, Serratia marcescens, oxygen.

Summary: Chitinase production by Serratia marcescens 990E was maximal for a dissolved oxygen concentration ranging from 20 to 50 % saturation. Growth rate was highest at 50 % oxygen saturation and it decreased at 80 %. Under 5 % saturation, production of chitinase was delayed. Chitin addition (6 g/l) at the end of fermentation reactivated bacterial growth but did not bring about further chitinase production.

55. KOENEN (F.), VAN CAENEGEM (G.), VERMEERSCH (J.P.), VANDENHEEDE (J.), DELUYKER (H.). Epidemiological characteristics of an outbreak of CSF in an area of high pig density. Vet Rec. 1996, **12**, 367-371.

Animal species : Pig.

Key words : CSFV-pigs-epidemiology-Belgium.

Summary : The objective of this study was to analyse an outbreak of csf under a policy of non-vaccination, intensive surveillance and eradication in an area of high pig density. The virus was found in 52 herds, where some 90,0000 pigs were slaughtered. The clinical signs were vague and the reports of suspect herds generally coincided with increased mortality. The interval between the first occurrence of clinical signs and the report of a suspect herd was shorter when the disease was first diagnosed in fattening pigs than when it was diagnosed in sows, boars or suckling piglets. Among fattening pigs, mortality and morbidity appeared to increase with age. The proportion of clinically ill animals was positively correlated with the proportion of serologically positive animals in a pig house during the phase when the disease was spreading. Fifty-eight per cent of pig houses containing only clinically healthy animals but some positive pigs were serologically negative. Antigen detection was therefore critical for early disease detection. Serology nevertheless useful to ascertain that swine fever was endemic in the area. The secondary cases were concentrated in the close contact of the herd initially infected.

56. KOENEN (F.), VANDERHALLEN (H.). Comparative study of the pathogenic properties of a Belgian and a Greek Encephalomyocarditis Virus (EMCV) isolate for sows in gestation. J. Vet. Med., 1997, **B 44**, 281-286.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV-pigs-Belgium-Greece.

Summary : Thirteen conventional sows were inoculated between 61 and 92 days of gestation with a Belgian or a Greek EMCV isolate to investigate the difference in pathogenicity of both strains for sows in gestation. The Belgian EMCV strain was isolated from the offspring of a sow with reproductive failure and without myocardial lesions. The Greek strain was isolated from a three months old pig with prominent myocardial lesions. The present study demonstrates a transplacental virus transmission with fetal death following an infection of the sows in gestation with both isolates. The fetal pathogenicity was more severe with the Greek strain than with the Belgian isolate. Although no myocardial lesions were noticed.

57. KOENEN (F.), VANDERHALLEN (H.), PAPADOPOULOS (O.), BILLINIS (C.), PASCHALERI-PAPADOPOULOU (E.), BROCCHI (E.), DE SIMONE (F.), CARRA (E.), KNOWLES (N.J.). Comparison of the pathogenic, antigenic and molecular characteristics of two Encephalomyocarditis Virus (EMCV) isolates from Belgium and Greece. Res. Vet. Sci., 1997, **62,** 239-244.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV-pigs-Belgium-Greece-pathology-antigenicity-molecular characterization.

Summary : The pathogenicity of two porcine encephalomyocarditis virus (EMCV) isolates for sows in gestation and young piglets was studied. One virus originated from a case of reproductive failure in pigs in Belgium and the other from a case of acute myocarditis in pigs in Greece. Sows in the mid-gestation period and 1-2 month old piglets were inoculated with each isolate. The molecular relationship between both isolates was studied by determining the nucleotide sequence located across the junction of the 1C and 1D capsid-coding genes. Antigenic analysis was performed using a panel of 35 monoclonal antibodies raised against an Italian field isolate of EMCV. All three approaches revealed differences between both isolates and also confirmed that there was no link between the two outbreaks of disease.

58. LONNEUX (J.-F.), NUYGEN (T.Q.), HOLLANDERS (W.), LOSSON (B.J.). A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to study the antibody response against *Psoroptes ovis* in cattle. Veterinary Parasitology, 1996, **66**, 109-117.

Animal species : Bovins.

Key words : *Psoroptes ovis,* ELISA, bovins, gale, immunologie.

Summary : A sandwich enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was developped using polyclonal antibodies from *P.cuniculi* infested rabbit and a crude *P.cuniculi* antigen. Sera from 133 *P.ovis* infested and 137 uninfested cattle were serially diluted from 1:100 to

1: 102,400 and analyzed. Curves obtained by plotting log dilution versus optical densities were used and a working dilution of 1:400 was choosen. Positive/negative cut-off values were calculated using the mean O.D. percentage (6 %) of all negative sera plus 3 standard deviations. Sensitivity and specificity according to the resulting cut-off (25%) were 98,5% and 97.8% respectively. Expressed as the dilution giving the cut-off value, results in ELISA showed a wide range of antibody titres (from 1:19 up to 1:2,240,000) with a geometric mean value of 1:35,480 probably related to the well-described *P.ovis* infestation hyperglobulinemia. Into two trials performed at one year interval, 18 Belgian White and Blue and 6 Friesian-Holstein calves were experimentally infested and sensitivity and specificity was calculated throughout the development of infections. Sensitivity reached 78 and 100 % on days 70 and 49 respectively in each 12 animal group (3 control animals, 3 infected F.H. animals and 6 infected B.W.B. animals). The development of the serum antibody activity to *Psoroptes* antigens was correlated with the development of lesions: in group 1, coefficient of correlation was 0.81 on day 56 post-infestion (P.I.) and in group 2, it was 0.83 on day 35 P.I. and 0.89 on day 63 P.I.

59. LONNEUX (J.-F.), LOSSON (B.J.). Coûts et risques liés aux traitements préventifs de l'hypodermose bovine. Annales de Médecine Vétérinaire, 1996, **140**, 233-237.

Animal species : Bovine

Key words : Bovins, hypodermose, varrons, traitements, accidents, coûts des traitements

Résumé : En Belgique, la chimioprophylaxie spécifique de l'hypodermose est peu répandue. Cela semble dû, au moins partiellement, aux risques d'accidents liés aux traitements hivernaux. Le présent article résume les données obtenues au cours des différentes campagnes d'éradication menées en Europe et présente les avantages et les erreurs liés à l'utilisation des différents traitements.

60. LONNEUX (J.-F.), LOSSON (B.J.). Epidémiologie des gales bovines. Annales de Médecine Vétérinaire. 1996, **140**, 317-327.

Animal species : Bovine

Key words : gale, bovins, *Psoroptes ovis,* épidémiologie, biologie du parasite.

Summary : This review article describes the biology and epidemiology of mange infestations in cattle. A particular attention is given to *Psoroptes ovis* which is the most economically important ectoparasite in Belgium. The purpose of the present paper is to give to veterinarians the keys of a sanitary policy which can lead to the eradication of the parasite. Mites populations decline during the summer and such season is considered as the best one for an eradication of the parasites. Maximum longevity of *P.ovis* off its host is 49 days at 4°C. and 70 % relative humidity but in natural conditions, its ability to produce new infestations is limited to 12 days.It is why a treatment of the fomites or a 14 day stanchion vacancy is advised. *Psoroptes ovis* can be transmitted by natural contact to susceptible cattle exposed to infested ivermectin-treated cattle 16 days after treatment was given. So, *P.ovis* infested, ivermectin treated cattle should be isolated from other cattle for at least 16 days after treatment. *P.ovis* eggs can hatch 10 days after laying whereas 10 days are at least necessary to complete a life cycle (egg to egg cycle). A 10 day interval between treatments by spraying with non-remanent acaricides is recommanded. The transmission of *P.ovis* between host species is possible but seems too difficult to seriously influence the

efficacy of an eradication schema. Individual resistance against *P.ovis* infestations seems related to the grooming behavior rather than the immune response. The shearing of the animals is highly recommanded at any time as it increases the efficacy of the grooming and as it eliminates most of the infestive material.

61. LOSSON (B.), LONNEUX (J.-F.). Field efficacy of moxidectin 0.5% pour-on against *Chorioptes bovis, Damalinia bovis, Linognathus vituli* and *Psoroptes ovis* in naturally infected cattle. Veterinary Parasitology, 1996, **63,** 119-130.

Animal species : Bovine

Key words : Efficacité, moxidectine, bovins, gale, Chorioptes bovis, Damalinia bovis, Linognathus vituli, Psoroptes ovis.

Summary : Field efficacy of a pour-on formulation of moxidectin, a macrocyclic lactone endectocide, was evaluated in cattle naturally infested with *Chorioptes bovis, Damalinia bovis, Linognathus vituli* and *Psoroptes ovis.* In trial 1, two experimental groups of cattle naturally infested with *Psoroptes ovis* were formed. Group 1 animals remained as untreated controls whereas Group 2 animals were treated on day 0 with 0.5 % moxidectin cattle pour-on at a dose of 0.5 mg kg^{-1} b.w. Efficacy was assessed by (a) taking skin samples from each animal on days -4, 7, 14, 21, 28, 42 and 56 post treatment (P.T.) and observing the numbers of viable *P.ovis* mites and (b) clinical examination of animals on days 7, 14, 21, 28, 42 and 56 with the percentage of affected body surface calculated and live body weight recorded for each animals on days 4, 28 and 42. The pour-on formulation of moxidectin yielded excellent efficacy as no live mites were found in treated animals at 14, 21, 28, 42 and 56 days P.T. except in one animal from which one adult mite was collected on day 42. Clinical indices showed a regular decrease in the affected body surface area. All untreated animals but one remained positive until day 28 and their clinical condition worsened rapidly.
In trial 2, two experimental groups of cattle naturally infested with *D.bovis* and *L.vituli* were selected. Group 1 remained as untreated control whereas Group 2 individuals were treated on day 0 with 0.5 %moxidectin cattle pour-on at a dose of 0.5 mg/kg b.w. Efficacy was assessed by identifying and counting lice on eight 15 cm hair partings at predefined anatomical sites on days 0, 14, 28 and 42. On the basis of animals cured and lice count reduction, efficacies were 100 % on day 14 and from then onwards for both species.
In trial 3, 24 animals naturally infested with *C.bovis* were divided into three experimental groups comprising eight (Group 1), seven (Group 2) and nine (Group 3) animals. Group 1 was the untreated control group whereas Groups 2 and 3 animals were treated on day 0 with 0.5 % moxidectin cattle pour-on at a dose of 0.25 mg and 0.5 mg kg^{-1} b.w. respectively. Efficacy was assessed as in trial 1. Skin scrapings were collected on days -3, 7, 14, 28, 42 and 56 P.T. A clinical index was calculated for each animal on days 0, 28 and 56 whereas body weights were recorded on days 0 and 56. At 0.25 mg kg^{-1} b.w., the efficacy of moxidectin cattle pour-on against *C.bovis* was incomplete. In contrast, at a dose of 0.5 mg kg^{-1} b.w., moxidectin cattle pour-on was fully effective and by day 14 P.T. all animals were negative for *C.bovis* and remained so until the end of the trial. No side-effects were observed during these three trials. These results indicate that at a dose of 0.5 mg kg^{-1} b.w., the pour-on formulation of moxidectin is highly effective against *C.bovis, D.bovis, L.vituli* and *P.ovis.*

62. LONNEUX (J.F.). Université de Liège. Faculté de Médecine Vétérinaire. Doctorat en sciences vétérinaires. *Psoroptes ovis,* agent de gale chez le bovin: étude de différents aspects de la réponse immunitaire, implications diagnostiques et thérapeutiques, évaluation de l'impact zootechnique.

Animal species : Bovine

Key words :Psoroptes ovis, bovins, gale, immunité humorale, immunité cellulaire, ELISA, traitements, cinétiques des anticorps, réactions croisées, reconnaissance antigénique, effets zootechniques.

Summary : The study of the immunity of Belgian White and Blue and Friesian calves against an experimental infestation with *Psoroptes ovis* revealed strong and sometimes early humoral and cellular responses. Immunodepression was not a feature of psoroptic mange in cattle: the development of the humoral response after immunization with a protein (keyhole limpet hemocyanin) or an attenuated virus vaccine was similar in infested and uninfested control animals. After intradermal injections of *Psoroptes cuniculi* antigens, non-specific hypersensitivity reactions were observed in infested as well in uninfested control animals. The presence of IgE in the serum was estimated by passive cutaneous anaphylaxis. The area of the P.C.A. wheals was correlated with the intensity of the immediate hypersensitivity reaction. The infested B.W.B animals presented delayed hypersensitivity reactions to *P. cuniculi* antigens. Such reactions were absent in infested Friesian-Holstein animals. After a second infestation, the increase of the mite population was reduced and large amounts of IgE were demonstrated by P.C.A. in most of the infested animals.
The development of the humoral response in *P.ovis* infested cattle as demonstrarted by a sandwich ELISA was very important. Using limiting dilutions, high titres were obtained according with the hyperglobulinemia which is one of the main feature of the chronic infestation with *P.ovis.*
This ELISA was used on the field and the conditions of its application were studied.
All individual antibody titres started to decline between day 7 and day 14 after treatment. Using a linear regression model, it was estimated by interpolation that most of the animals would have been seronegative within 7 months P.T. Such interpolation could not be completely ascertained by a follow-up of experimentally infested and treated animals until reaching of a seronegative status. The number of experimental was too low and their titres were not representative. The study of the individual kinetics of the antibody titres showed that the linearity of the curves was lost in case of failure of the treatment. In efficacy trials the serological data could be added to the parasitological counts and the records of the lesions to obtain a better estimation of the efficiency.

63. LONNEUX (J.-F.), NGUYEN (T.Q.), LOSSON (B.J.). Efficacy of pour-on and injectable formulations of moxidectin and ivermectin in cattle naturally infected with *Psoroptes ovis* : parasitological, clinical and serological data
Veterinary Parasitology, 1997, 69, 319-330.

Animal species : Bovine

Key words : *Psoroptes ovis,* bovins, méthodes de contrôle, moxidectine, ivermectine, pour-on, injectable, efficacité, serologie.

Summary :On the basis of *P.ovis* counts performed on day -7, 32 animals were randomly allocated to a control group of 5 animals or to 4 groups comprising 6 or 7 animals which

were respectively treated with pour-on ivermectin (I.P.O.), injectable ivermectin (I.I.), pour-on moxidectin (M.P.O.) and injectable moxidectin (I.M). Living mites were counted in skin scrapings on days 0, 7, 14, 28, 42 and 56 post treatment (P.T.). Lesions were recorded on a standardized map on day 0 and 56 P.T. Antibody kinetics were studied using ELISA on serially diluted sera. The antibody titres were expressed as the dilution giving the positive/negative cut-off. Until their treatment on day 28, the control animals remained parasitologically positive and their antibody titres increased. In treated groups, all living mite counts were negative on days 28 and 42 P.T. but some animals were still infected on day 7 and 14 P.T. On day 56, living *P.ovis* were found in one animal of the I.P.O. treated group. An equation of regression describing the antibody decrease was calculated with each individual data set. In most of the treated animals, the coefficient of determination R^2 which describes the closeness of fit to the linear model was above 0.9. The linear model could not be applied (low R^2) to the antibody kinetics of 4 animals: the D56 positive animal and its 2 neighbours in the I.P.O. group and one animal from the M.P.O. group. In the treated groups, the differences between the numbers of infected animals, the mean daily weight gains or the mean antibody titres were not statistically significant. Mean daily weight gains of the treated groups were higher than in control animals.

64. LONNEUX (J.-F.), NGUYEN (T.Q.), DELHEZ (M.), LOSSON (B.J.) . Antibody response after treatment in cattle infested with *Psoroptes ovis*. Research in Veterinary Science, 1997, **63**, 57-60.

Animal species : Bovine

Key words : Psoroptes ovis, méthodes de contrôle, cinétique des anticorps, éfficacité, contrôle d'éfficacité.

The decline of anti-*Psoroptes ovis* antibody titres after treatment was studied in 6 groups of naturally infected cattle. In all trials, using a limiting dilution technique, the specific antibody levels were assessed by ELISA on sera collected at regular intervals up to 78 days post treatment (P.T.). All individual antibody titres started to decline between day 7 and day 14 post-treatment. A linear decrease was observed. In a limited trial, 5 experimentally infected animals were bled monthly after treatment and seronegativity was reached within 4 months. The results obtained by limiting dilutions were in agreement with those obtained in the 5 field trials. Using a linear regression model, it was estimated by interpolation that most of the animals would have been seronegative within 7 months post-treatment. These results suggest that the exposure to specific *P.ovis* antigen stops with the end of parasite activity and that dead mites are relatively non immunogenic.

65. LOSSON (B.), LONNEUX (J.-F.), ROELANTS (B.), De KEULENAER (K.I.T.). Activité de la Doramectine, une nouvelle avermectine sur Psoroptes ovis chez le bovin lors d'infestations naturelles. Annales de Médecine Vétérinaire, 1996, **140**, 439-444.

Animal species : Bovine

Key words : *Psoroptes ovis*, gale, traitement, efficacité, Doramectine.

Summary : Trois essais de terrain différents ont été réalisés afin d'évaluer l'efficacité d'une dose unique de doramectine injectable (Dectomax T.M. Pfizer Animal Health, Groton, U.S.A.) à la posologie de 0,2 mg/kg de poids vifs chez le bovin lors d'infestations naturelles par *Psoroptes ovis*. Au total, quatorze animaux ont servi de témoins et vingt-cinq

individus ont reçu une dose de doramectine par voie sous-cutanée. Les prélèvements cutanés et les comptages parasitaires totaux (adultes, nymphes et larves de l'espèce *P.ovis* furent réalisés aux jours 0, 7, 14, 21 et 28 (essais 1 et 3) ou aux jours 0, 14 et 28 (essai 2). Des pesées furent effectuées au début ou à la fin de l'essai n°2. Elles permirent de mesurer les gains quotidiens moyens (G.Q.M.) dans les deux groupes expérimentaux. Au jour 28, tous les animaux traités étaient négatifs tandis que treize animaux témoins sur quatorze abritaient encore des acariens viables. Cette différence était statistiquement significative ($P<0,05$). Comme l'ivermectine, la doramectine agit lentement et une période d'isolement d'au moins 14 jours est nécessaire pour le contrôle de l'infestation au sein d'une exploitation. L'essai n°2 confirma l'effet négatif très marqué de la gale psoroptique sur la croissance chez le jeune bovin: durant la période expérimentale de 28 jours, les G.Q.M. moyens furent de 0,26 kg/jour chez les animaux témoins contre 0,84 kg/jour chez les animaux traités. Enfin, aucun effet secondaire au niveau local ou général n'a été observé durant ces trois essais.

66. MATHEISE (J-P.), WALRAVENS (K.), COLLARD (A.), COPPE (P.), LETESSON (J.-J). Antigenic analysis of the F protein of the bovine respiratory syncytial virus: identification of two distinct antigenic sites involved in fusion inhibition. Arch. Virol., 1995, **140**, 993-1005.

Animal species : Bovine.

Key Words : BRSV, F protein, antigenic sites.

Summary : From two independant fusions, fifteen Mabs directed to the F protein of the bovine respiratory syncytial virus (BRSV) were characterized by radioimmunoprecipitation assays. Competition binding assays among these Mabs identified two distinct antigenic sites (A and B) and one overlapping site (AB). All of the Mabs specific to epitopes belonging to site A neutralied the infectivity of the virus in vitro and recognized the human and bovine RSV strains. Only two out of the five Mabs directed to epitopes of site B were neutralizing and three reacted with all of the RSV strains tested, suggesting that the epitopes constituting this domain present heterogenous characteristics. In each of sites A and B, one of the neutralizing Mabs also inhibited cell fusion. The biological relevance of these domains was established by competing representative Mabs and sera from BRSV-infected calves.

67. MOTTE (J.C.), WINDEY (R.), DELAFORTRIE (A.). High sensitivity fluorescence derivatization for the determination of phenolic compounds by high performance liquid chromatography". Comptes Rendus du 21ème Congrès International de Chromatographie "ISC=96", 15-20 septembre 1996, Stuttgart (D).

Key words : Fluorescence derivatization, phenolic compounds, HPLC.

Summary : The utility of the fluorescent labelling reagent N-succimidyl-1-naphthyl-carbamate (SINC) for the determination of natural and aromatic alcohols was evaluated. Under very mild reaction conditions of 25°C for 1 min. In a basic buffer, all the tested phenols were derivatized with the reagent to yield fluorescent carbamate derivatives. The maximum excitation (290nm) and emission (370nm) were the same for all the tested phenolic compounds. The stability of the derivatives and their yields were greatly affected by the choosen pH in the range 5.5-9.5 and by the nature of the substituent group present

on the phenolic ring. All the derivatives were almost completely separated by reversed phase high performance liquid chromatography on a 20cm C18 column with a gradiant of aqueous sodium acetate buffer (pH=6) and acetonitrile. The detection limit (S/N=3) with fluorescence detection is at the picomole level. The influence of the aryl substituent was also determined. Application in the fields of water and food are described.

68. NAGY (B.), WHIPP (SC.), IMBERECHTS (H.), BERTSCHINGER (HU.) DEAN-NYSTROM (EA.), CASEY (TA.) SALAJKA (E.). Biological relationship between F18ab and F18ac fimbriae of enterotoxigenic and verotoxigenic *Escherichia coli* from weaned pigs with oedema disease or diarrhoea. Microb Pathog.,1997, **22,** 1-11.

Animal species : Pig.

Key words : *E. coli*, Shiga-like toxin, oedema disease, fimbriae.

Summary : Comparative fimbrial expression and adhesion studies were made on enterotoxigenic and verotoxigenic *E. coli* (ETEC and VTEC) strains isolated from cases of porcine postweaning diarrhoea or oedema disease. F107(F18ab) fimbriae--monitored by polyclonal and monoclonal antibodies and by electron microscopy--were poorly expressed on most VTEC strains. In contrast, 2134P(F18ac) fimbriae were more readily detected on most ETEC strains. The F18ac strains adhered in vivo to ligated intestinal loops in weaned pigs while the F18ab strains did not adhere or adhered weakly. Similarly, the F18ac strains adhered to isolated intestinal brush borders in weaned pigs but the F18ab strains (except for the F107 reference *E. coli*) did not adhere or adhered weakly in vitro. Neither the F18ab nor F18ac strains adhered to brush borders from newborn pigs. In vitro adhesion of F18ab and F18ac strains was mannose resistant and receptors for F18 seemed to differ from receptors for K88(F4). It is concluded that the antigenic variants of F18 fimbriae (F18ab and F18ac) are biologically distinct. F18ab fimbriae are expressed poorly both in vitro and in vivo and are frequently linked with the production of SLT-IIv and serogroup O139, while F18ac are more efficiently expressed in vitro and in vivo and most often are linked with enterotoxin (STa, STb) production, and serogroups O141, O157.

69. NYSSEN (P.), DE COOMAN (P.), SCOKART (P.). Agricultural nitrogen and phosphorus losses into belgian surface waters. Van Cleemput et al. Ed., Progress in Nitrogen Cycling Studies, 1996, 681-687.

Key words : Agriculture, nitrogen, nutrient losses, phosphorus, surface waters.

Summary: In Belgium, nutrient losses to surface waters resulting from agricultural activities can be calculated by a pragmatic and empirical model. In a first step, a theoretical maximum for seven categories of nutrient losses was determined using general statistical data. Then, more specific conditions were taken into account, such as local agricultural practices, geographical conditions or, when available, data from detail studies.The losses were calculated for each of the 586 municipalities and added up by hydrological catchment area. In order to validate these theoretical results, a field study has been conducted in three basins. The experimental measurements indicate that the theoretical estimations are only slightly underestimated and reflect the local variability. The model seems thus to be a good tool to evaluate nutrient losses for Belgium.

70. PEETERS (J.E.) . Bewaking van de Gezondheidstoestand en de Kwaliteit van de Belgische Veestapel door het Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie (C.O.D.A.). Opdracht, Personeelsformatie en Functiebeschrijving. Faculteit Politieke en Sociale Wetenschappen, Katholieke Universiteit Leuven, 1995, 60 blz.

Animal species : Human.

Key words : Human resources management, function description

Summary : In the framework of the fusion of the National Institute of Veterinary Research and the Institute of Chemical Research, the paper discusses the sanitary part of the mission of the new Veterinary and Agrochemical Research Centre (VAR). This part concerns the surveyance of the health status and quality of the Belgian livestock. The different tasks of this sanitary mission have been allocated respectively to the scientific staff, financed by the federal government, and the staff charged with diagnosis, epidemiological studies and field work (Co-ordination Centre of Veterinary Diagnosis, dotations, stamping out), financed by external funds. For each module (accreditation and interlaboratory testing, epizootic diseases, enzootic avian, bovine and porcine diseases, zoonoses, parasitic diseases), the scientific and field work is organised into a functional matrix. The responsibilities of each category are described. Several organograms focus on the link of each of these units with the research departments of the VAR and with external organisations. Based on the task and responsibilities of each functional unit, the needs of academic, technical and administrative staff are determined within the limits of the available funds. Finally, the paper gives a job description and profile for each of the 11 identified positions.

71. PEETERS (J.E.), VILLACORTA (I.) . *Cryptosporidium*. In : J. ECKERT, R. BRAUN, M. W. SHIRLEY and P. COUDERT, ed. "Guidelines on Techniques in Coccidiosis Research" COST 89/820. Luxemburg, Commissie van de Europese Gemeenschap, 1995, p. 202-240.

Animal species : Bovine.

Key words : Cryptosporidiosis, identification, culture.

Summary : *C. parvum* is a protozoan parasite affecting a broad range of mammalian species. This review gives an account of the present knowledge on molecular biological, immunological, parasitological and *in vivo/in vitro* techniques used in the study of cryptosporidiosis.

72. PLOPLIS (V.A.), CARMELIET (P.), VAZIRZADEH (S.), VAN VLAENDEREN (I.), MOONS (L.), PLOW (E.F.), COLLEN (D.). Effects of disruption of the plasminogen gene on thrombosis, growth, and health in mice. Circulation 1995 Nov.1, **92**(9), 2585-2593.

Animal species : Mouse.

Key words : Plasminogen / Fibrinolysis / Thrombosis.

Summary : Background : Circumstantial evidence suggests that the plasminogen/plasmin system plays a role in many biological processes, including hemostasis, cell migration, and development.
Methods and results : The in vivo function of the plasminogen/plasmin system was studied by generation of plasminogen-deficient (Plg-/-) mice. Inactivation of the murine plasminogen-gene (Plg) was achieved by replacing, via homologous recombination in embryonic stem cells, genomic sequences encoding the exons containing the catalytic site amino acids His605 and Asp648 with a neomycin phosphotransferase expression cassette. Germline transmission of the mutated allele, as determined by Southern blot hybridization and polymerase chain reaction, was obtained via blastocyst injection. Mendelian inheritance of the inactivated plasminogen allele was observed, and homozygous-deficient mice (Plg-/-) displayed normal viability but retarded growth up to at least 12 weeks of age. At 8 weeks of age, body weight was 21.8 +/- 1.2 g (n = 10) for wild-type (Plg+/+) mice, 21.0 +/- 1.1 g (n = 16) for heterozygous-deficient (Plg+/-) mice, and 17.4 +/- 1.3 g (n = 12) for Plg-/- mice; P < .05 versus Plg+/+ or Plg+/-. None of 36 Plg+/+ or 65 Plg+/- mice but 7 of 37 Plg-/- mice (19%) developed rectal prolapse at 7.4 +/- 0.6 weeks of age (P = .03 versus Plg+/+ and P = .003 versus Plg+/-); 4 of 37 Plg-/- mice (11%) became runted and apathic at 5.3 +/- 0.3 weeks of age (P = .041 versus Plg+/-); and 6 of 37 Plg-/- mice (16%) died prematurely at 8.8 +/- 1.7 weeks of age (P = .057 versus Plg+/+ and P = .029 versus Plg+/-). Although male and female Plg-/- mice were able to sire offspring, the fertility of Plg-/- female mice was reduced, possibly owing to their impaired health. Levels of plasminogen-related antigen in plasma, measured by ELISA, were 84 +/- 8 micrograms/mL (n = 4) in Plg+/+, 35 +/- 2 micrograms/mL (n = 3) in Plg+/-, and 0.076 +/- 0.032 microgram/mL (n = 6) in Plg-/- mice (P < .001 versus Plg+/- and Plg+/+). Plasmin activity generated by urokinase activation was unmeasurable in Plg-/- mice (< 5% of Plg+/+ mice). Plasminogen-specific immunoreactivity was observed in hepatocytes from Plg+/+ mice but not from Plg-/- mice (< 10% of Plg+/+ mice). Neither native nor variant plasminogen mRNA nor translation products could be identified by Northern or Western blot of liver extracts from Plg-/- mice. Spontaneous lysis within 24 hours of a 125I-fibrin-labeled pulmonary plasma clot was 85 +/- 5% (n = 5) in Plg+/+ mice, 62 +/- 7% (n = 3) in Plg+/- mice, and -2 +/- 1% (n = 3) in Plg-/- mice (P < .001 versus Plg+/- and Plg+/+). Delayed clot lysis within 72 hours was 33 +/- 1% (n = 3) in tPA-/- mice and 26 +/- 2% (n = 3) in Plg-/- mice (P = .054). Histological examination of several organs revealed fibrin deposition in the liver; lung; and in the stomach, associated with gastric ulcers, in 6- to 12-week-old Plg-/- mice but not in Plg+/+ or Plg+/- littermates.
CONCLUSIONS : Plasminogen-deficient mice survive embryonic development but develop spontaneous fibrin deposition due to impaired thrombolysis and suffer retarded growth and reduced fertility and survival. The Plg-/- phenotype is reminiscent of the combined tPA-/-:uPA-/- phenotype, which suggests that there is no significant additional pathway for physiological plasminogen activation in mice.

73. POHL (P.), CHASSEUR-LIBOTTE (M.L.), IMBERECHTS (H.), STOCKMANS (F.), MARIN (M.), VAN ROBAEYS (G.), ALLALI (N.), COUTURIER (M.). Progression de la prévalence des souches de *Salmonella* Hadar chez l'homme et les animaux en Belgique. Ann. Méd. Vét., 1995, **139**, 283 -285.

Animal species : Human, mammals, poultry.

Key words : *Salmonella* Hadar, epidemiology, drug resistance.

Summary : From 1993 on we observe an increase of the percentage of S. Hadar isolates from poultry, and from 1994 this serovar was significantly more identified isolated from

man and others mammals. This increase should be seen in relation to the onset of resistance of the S. Hadar serovar against tetracyclin, ampicillin and nalidixic acid.

74. POHL (P.), CONTREPOIS (M.), IMBERECHTS (H.), VAN MUYLEM (K.), OSWALD (E.), MAINIL (J.). Recherche de structures d'attachement et de facteurs de virulence chez des *Escherichia coli* adhérentes aux villosités intestinales du veau mais qui ne produisent pas les adhésines F5 (K99), F17 ni Att111 in vitro. Ann. Méd. Vét., 1995, **139**, 421 - 425.

Animal species : Cattle.

Key words : Diarrhea, *Escherichia coli*, Virulence factors, cattle.

Summary: A total of 139 *E.coli* strains were studied that were isolated from faeces of calves suffering from diarrhea. The isolates adhered to calf enterocytes but did noy produce F5 (K99), F17 and Att111 in vitro.. In 75% of thes strains, we identified adhesins (20K or C1209) or genes of which the products are involved in adhesion (F17, papA). Enterotoxin or cytotoxin coding genes (STaP, LT-II, CNF) werobserved in 29% of the isolates.Among these, 23 strains were papA+CNF1+, that could represent a new pathotype. Finally, none of the isolates was recognised by probes specific for SLT, LTp, or STb, nor by probe corresponding to intimin Eae or adhesins F4 or F6.

75. POHL (P.), MAINIL (J.). F17 positive *Escherichia coli*. Vet.Rec., 1995, **9**, 623 - 624.

Animal species : Cattle.

Key words : Colibacillosis, pathology, molecular biology.

Summary: The presence of genes coding for the three classical enterotoxins STaP, STb and LT-IIa was screened by hybridization in 134 F17 positive *E.coli* isolated from cattle, in Belgium, England, France, Italy, Japan and Switzerland. None of the isolates were recognised by the DNA probes. Thus F17 producing *E.coli* do not correspond to the definition of ETEC. However 45 per cent of these isolates possesed two virulence factors: resistance to complement and aerobactin production.It could thus be hypothesised that these latter strains might cause septicaemia in calves.

76. POHL (P.), IMBERECHTS (H.),DE FILETTE (M.),PIAZZA (M.), CHASSEUR - LIBOTTE (M.L.). Non clonal character of epidemic *Salmonella* Hadar strains in Belgium. Newsletter CRL Salmonella.,1996, 2, 3.

Animal species : Human, mammals, poultry.

Key words : Epidemic, *Salmonella* Hadar.

Summary : We thougt that the strains of S. Hadar observed in the epidemic in Belgium belonged to a same clone as generally observed in epidemics of Salmonella. But in fact these isolates possess various plasmidic profiles and belong to various biotypes. Our results were confirmed by phage typing.

77. POHL (P.), IMBERECHTS (H.), DE FILETTE(M.), CHASSEUR-LIBOTTE(M.L.). Top serovars of *Salmonella* from human, poultry, pigs and bovine identified in Belgium in 1996. Newsletter CRL Salmonella, 1997, 3, 5.

Animal species : Human, poultry, pigs, cattle.

Key words : *Salmonella* , Epidemiology.

Summary : The top serovars in human were S.Typhimurium, S.Enteritidis and to a lesser extent S.Hadar an S.Infantis. Since 1993, the prevalence of S.Hadar is increasing constantly in human (1,43% of the isolates in 1993, 5% in 1996). In poultry S.Hadar and S.Enteritidis were the main qerovars; S.Typhimurium was not frequently isolated. In pigs S.Typhimurium was predominant. In cattle S.Typhimurium and S.Dublin were predominant and S.Hadar was frequently isolated.

78. POHL (P.), CLEENWERCK (I.), IMBERECHTS (H.), JACQUEMIN (E.), MARIN (M.), CHINA (B.), MAINIL (J.). Différences entre les pathotypes et les sérogroupes des *Escherichia coli* isolées de veaux sains et celles isolées de veaux souffrant de diarrhée. Ann. Méd. Vét., 1997, **141**, 155 - 159.

Animal species : Cattle.

Key words : Colibacillosis, molecular epidemiology, VTEC.

Summary : Difference between pathotypes an serogroups of verotoxin producing *E.coli* strains (VTEC) isolated from diarrhoeic or heakthy calves was studied.
These VTEC are very heterogeneous.The detection of genes responsible for the production of verotoxins 1 and 2 (SLT1 and SLT2) and for the production of intimin EaeA make it pssible to classify thes strais in five different pathotypes.In addition serotyping demonstrates the existence of 30 different groups.
VTEC are isolated from diarrhoeic and also from healthy cattle; but the strains isolated from from from diarrhoeic or healthy animals are quite different.The first isolates generaly display the pathotype SLT1+/EaeA+ and belong mainly to the serogroups O26, O111, O118 and rough H11 or16. The latter display more often the pathotype SLT2+/EaeA- and there are no predominant serogroups among these. Thus it seems that the production of verotoxin by a strain of *E.coli* is not sufficient to assess his possible pathogenicity.

79. POHL (P.), IMBERECHTS (H.), MARIN (M.), SCHLICKER (C.), STOCKMANS (F.) Prévalence des gènes codant pour les cytotoxines nécrosantes (CNF1 & CNF2) chez des *Escherichia coli* isolées de bovins malades ou asymptomatiques. Ann. Méd. Vét., 1997, **141**, 161 - 164.

Animal species : Cattle.

Key words : Colibacillosis, molecular epidemiology, CNF producing E.coli.

Summary : DNA probes and PCR were used for the detection of CNF1 and CNF2 producing *E. coli* in a collection of 1 134 strains isolated in Belgium between 1991 and 1995.These strains were isolated from cales or adult cattle, healthy or with various pathologies. The presence of CNF1 *E. coli* is associated withsepticemias (24%), pneumonias (21%) and diarrhoea (19%) in calves.

CNF2 *E. coli* are more numerous in the feces of healthy adult bovines (28%) than in the feces of cows suffering diarrhoea (15%).They are however associated with pneumonias in calves (18%) and metritis in cows.It might be hupothetised that CNF+ *E. coli* isolated from disead animals carry other specific virulence factorsthat are not present on *E. coli* from healthy individuals.

80. POHL (P.), IMBERECHTS (H.), DE FILETTE (M.), STOCKMANS (A.) *Salmonella* Enteritidis in mammals in Belgium (1992 - 1996). Newsletter CRL Salmonella, 1997, 3, 15.

Animal species : Cattle, pigs, horses, dogs, cats, rabbits.

Key words : S. Enteritidis, mammals, prevalence.

Summary : S.Enteritidis is frequently isolated from poultry and human beings in Belgium. However this serovar is also found in other species. This prevalence is low in cattle and pigs, higer in horses and important in dogs, cats and rabbits. This mammals are also a possible source of contamination for human beings.

81. POHL (P.), DE FILETTE (M.), IMBERECHTS (H.).*Salmonella* Typhimurium DT104 in veterinary medicine in Belgium. CRL - Salmonella newsletter 1997, **3** , (n° 3), p.4.

Animal species: mammals, poultry.

Key words: *S.* Typhimurium, epidemiology, Belgium.

Summary:According to preliminary results DT 104 and his lineage seems to be widespread in Belgium as in other countries.

82. POHL (P.), PIAZZA (V.), STOCKMANS (A.), MARIN (M.), DE FILETTE M., IMBERECHTS H.Antibiorésistance des *Salmonella* Enteritidis isolées chez la volaille en Belgique. Evolution de 1991 à 1996. 17th Interdisciplinary Meeting on anti-infectious chemotherapy.1997, 393, P24.

Animal species:poultry.

Key words: drug resistance, *S.* Enteritidis, poultry, Belgium.

Summary:The number of resistant *S.* Enteritidis isolates is low (6.7 % of the strains). It does not increase from 1991 till 1996. The resistances to ampicillin, tetracyclin and thrimethoprim are encoded by transferable plasmids.

83. POHL (P.), IMBERECHTS (H.), DE FILETTE (M.) D'HOOGHE (I.).*Salmonella* Enteritidis in pigeons, cage birds and ostriches in Belgium. CRL - Salmonella Newsletter, 1997,**3**, (4), p.3.

Animal species : cage birds, ostrich, pigeon

Summary : Pigeons and cage birds are rarely contamined with S. Enteritidis.
Ostriches are more frequently contaminated.

84. PROZZI (D.), WALRAVENS (K.), LANGEDIJK (J.P.M.), DAUS (F.), KRAMPS (J.A.), LETESSON (J-J.) . Antigenic and molecular analyses of the variability of bovine respiratory syncytial virus G glycoprotein. J. Gen Virol., 1997, **78**, 359-366.

Animal species : Bovine.

Key words : BRSV, G protein, variability.

Summary : Antigenic variation among eight bovine respiratory syncytial virus (BRSV) isolates was determined using monoclonal antibodies (Mabs) specific for the attachment (G) protein. Two major (and one intermediate) subgroups were identified, as well as one strain that did not fit this pattern. The subgroups could also be differentiated on the basis of the F protein cleavage product , F2. The nucleotide sequence of the G gene of seven of the BRSV strains was determined and compared with published G gene sequences. Subgroup A and A/B were more closely related in protein sequence than subgroups A and B or subgroups A/B and B. These results could not be correlated with those obtained by the determination of the Mr of the F2 polypeptide. Multiple sequence alignments showed a high level of amino acid identity at the inter-subgroup level (85% identity between subgroup A and subgroup B strains), similar to the intra-subgroup human (H)RSV identity, suggesting that the BRSV isolates form a continuum rather than distinct subgroups. However, unusual variability was observed withion the dominant domain (amino-acids 174-188) in contrast with the situation in HRSV strains belonging to the same sugroup.

85. PUSSEMIER (L.), DEBONGNIE (Ph.), GOUX (S.), CHIANG (Cl.). Preliminary evaluation of alternative methods for the application of carbofuran in adapted soils. Soil Biology & Biochemistry, 1996, **28** (12), 1777-1782

Key words: Carbofuran, furathiocarb, alginate beads, seed treatment, accelerated degradation

Summary: Two methods of application of pesticides viz. (i) application of the chemical (carbofuran or furathiocarb, a carbofuran precursor) on seeds; and (ii) soil application of encapsulated formulations (alginate beads) of carbofuran were evaluated for their abilities to cope with practical problems resulting from the accelerated degradation of carbofuran in adapted soils. Persistence of the chemicals on seeds was always to short (only a few days). Encapsulation of the chemicals in alginate beads was much more promising.

86. PUSSEMIER (L.), SUETT (D.), DEBONGNIE (Ph.), JUKES (A.) SERNEELS (Fr.). Effect of a single soil pre-treatment with aldicarb and carbofuran on their subsequent behaviour and field performance. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen, Universiteit Gent, 1996, **61/2b**, 621-626

Key words: Carbofuran, aldicarb, accelerated degradation, efficacy, cross-adaptation, Belgium

Summary: In the spring of 1995, a field experiment was carried out in Ath in order to study the practical consequences of accelerated degradation of soil-applied insecticides under Belgian conditions. A significant reduction in biological efficacy of carbofuran was observed when it was applied to the previously carbofuran-treated soil but its performances in the untreated or aldicarb-treated soils were unchanged.

87. PUSSEMIER (L.), BEERNAERTS (S.). Estimation of pesticide emissions to surface and groundwater in Belgium using the SEPTWA95 model. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen, Universiteit Gent,1997, **62/2a**, 157-170

Key words: pesticide, emission, water, pollution, prediction model, river basins, Belgium

Summary: SEPTWA95 (System for the Evaluation of Pesticide Transport to Waters) is a screening model that has been developed for predicting pesticide emissions to surface and groundwater in the various river basins from Belgium. The most important input data for the model are the amount of pesticides applied, the period of application, the persistence (DT50) and mobility (Koc) parameters, and the pedoclimatic characteristics (type of soil, rainfall). The first results obtained allow to classify the pesticides according to the total and regional emissions values. Attempts were made to compare these outputs to the measurements carried out for several pesticides in different rivers and the fit between observed and predicted values was considered as fairly acceptable taking into account the number of approximations needed for developing such a screening model.

88. PUSSEMIER (L.), GOUX (S.), VANDERHEYDEN (V.), DEBONGNIE (Ph.), FOUCART (G.), TRESINIE (I.). Rapid dissipation of atrazine in soils taken from various fields. Weed Research, 1997, **37**, 171-179.

Key words : Atrazine, soil, accelerated degradation, maize, Belgium.

Summary: The VAR and the Center for the Promotion of Maize (Louvain-la-Neuve) have collaborated on a study on the persistence of atrazine in various Belgian soil. This herbicide degradation was much faster, in most of the samples, than generally announced in the literature. A statistical study showed that repeated use on the same site and high soil pH are factors that can lead to very fast detoxication of atrazin.

89. RIPPINGER (P.), BERTSCHINGER (HU.), IMBERECHTS (H.) NAGY (B.) SORG (I.), STAMM (M.), WILD (P.), WITTIG (W.). Designations F18ab and F18ac for the related fimbrial types F107, 2134P and 8813 of *Escherichia coli* isolated from porcine postweaning diarrhoea and from oedema disease. Vet. Microbiol.,1996, **45**, 281-95.

Animal species : Pig.

Key words : *Escherichia coli,* edema disease, postweaning diarrea, antigenic relationship, PCR.

Summary : The relatedness of the fimbriae produced by eight *E. coli* strains including type strains with F107 fimbriae, 2134P pili and colonization factor 8813 (preliminary F18), was examined. These strains had been isolated principally from pigs which were affected with postweaning diarrhoea or with oedema disease. The fimbriae were analyzed by means of electron microscopy, slide agglutination immuno-fluorescence,immunogold, labelling, immuno-diffusion, immuno-electrophoresis and western blot, molecular genetic techniques, and in vitro adhesion. The fimbriae of all the strains were long flexible filaments with a diameter not larger than 4.6 nm showing a zig-zag pattern. Results obtained by the serological techniques confirmed that the fimbriae possessed a common antigenic determinant designated 'a' in addition to a variant-specific determinant designated 'b' or 'c'. Immunoelectron microscopy demonstrated that the determinants 'a' and 'b' or 'a' and 'c' were localized along the same fimbrium. In immunoelectrophoresis, fimbrial

extracts of selected strains yielded a single precipitation line towards the cathode. One single major subunit of approximately 15 kDa was recognised in western blots by antisera against the common antigenic determinant and the variant specific determinants. All strains possessed sequences related to gene *fed*A, coding for the major subunit of fimbriae F107. Two types of *fed*A-related subunit genes were differentiated, corresponding to the 'ab' and 'ac' types of fimbriae as defined by serological methods. The results demonstrated that F107 fimbriae, 2134P pili and colonization factor 8813 are related, and that two serological variants can be distinguished. We propose designations F18ab (for F107), and F18ac (for 2134P and 8813) in analogy to the nomenclature of F4 fimbriae.

90. ROELS (S.), DUCATELLE (R.), CORNELISSEN (H.). Quantitative image analysis as an alternative to chemical analysis for treatment follow - up in liver biopsies from a toucan with hemochromatosis: a technique with potential value for the follow - up of hemochromatosis in humans. Analyt Quant Cytol Histol, 1996, **18**, 221 - 224.

Animal species: Toucan

Key words: Hemochromatosis, liver diseases, image analysis

Summary : To compare the reliability of quantitative image analysis of histologic sections versus chemical analysis for determination of the iron content of serial liver biopsies taken at regular intervals after onset of treatment, in a case of hemochromatosis in a channel - billed toucan treated with deferoxaminemesilate in combination with low - iron diet.
Study design: Two different image analysis systems were used, one developed for working with black - and - white pictures and another capable of processing colored images. Using Pearson's correlation test, the results with both quantitative image analysis systems were compared to the results obtained by chemical analysis
Results: There was a good correlation between the results of chemical analysis and those obtained with each of the two image analysis systems (0.86 and 0.89, respectively, with confidence interval of 95 %). The results of these serial liver biopsies indicated that the bird responded well to treatment.
Conclusion: Quantitative image analysis can be used to evaluate follow - up of this disease in toucans as an alternative to chemical determination of the iron content in biopsies of the liver. This technique may have potential value in follow - up of hemochromatosis in humans.

91. ROELS (S.), SIMOENS (P.), DUCATELLE (R.). Localised arteriosclerotic changes in congenital hyperostosis in pigs. Vet Rec, 1996, **139** (18), 446-447.

Animal species: Swine

Key words: arteriosclerotic, congenital hyperostosis

Summary: Congenital hyperostosis is a rare congenital disorder in piglets. The condition is characterised by thickening of radioulnar region of the forelimbs, resulting in death of the affected piglets within two days after birth. In this study some new insights in the syndrome of congenital hyperostosis in pigs was obtained following a thorough analysis of farm history, clinical signs, lesions, blood chemistry and feed during an outbrea k on a breeding farm. The most significant finding was the presence of hyperproliferative endarteritis in arteries and arterioles of the antebrachium and local filling defects of the

major arteries in the same region. A hypothesis is proposed concerning the pathogenesis of the disorder, based on these vascular alterations.

92. ROELS (S.), SCHOOFS (S.), DUCATELLE (R.). Juvenile nephropathy in a Weimaraner dog. J Small Anim Pract 1997, **38**, 115-118.

Animal species: Dog

Key words: Juvenile nephropathy, Weimaraner

Summary: A case of juvenile nephropathy in a two - years - old Weimaraner bitch is reported. Although juvenile nephropathy has been described in several bredds of dogs, this is the first report in a Weimaraner. Clinical aspects, blood analysis, renal pathology and extrarenal changes are described. The renal changes consisted of tubular as well as glomerular lesions, similar to those described in the miniature schnauzer. The main extrarenal lesion was degeneration and necrosis of subendocardial myocytes in the left atrial wall associated with an inflammatory reaction and focal necrotising arteritis.

93. ROELS (S.), DUCATELLE (R.), BROEKAERT (D.).Keratin pattern in hyperkeratotic and ulcerated gastric pars oesophagea in pigs. Res.Vet. Sc., 1997, **62**, 165-169

Animal species: Swine

Key words : Keratin, hyperkeratotic, gastric pars oesophagea

Summary: Ulceration of the gastric pars oesophagea is a serious problem in the pig industry, and in spite of numerous studies the underlying mechanism of the development of such ulcers remains largely unknown. This study was designed first to test the hypothesis that the epithelium of the pars oesophagea of affected pigs, would be more suscepible to the irritating action of acidic gastric content owing to a change in the pattern of expression of keratin, and second to look for a member of the keratin family that could be a suitable indicator of early lesions. Samples were collected from gastric pars oesophagea of slaughter pigs with and without grossly visible mucosal changes, and the keratin patterns of normal and hyperkeratotic and ulcerated epithelium were compared immunohistochemically. The keratin pairs K4/K13, and K5/K14 were present in both normal and affected epithelia, and had a similar pattern of expression in both conditions. K4 and K13 were expressed in all the suprabasal layers, and K5 and K14 were expressed only in the basal and epibasal cells. Immunological reactivity with monoclonal antibodies LL020 and LHK6 - markers for hyperproliferative conditions - was present in the suprabasal layers of the epithelium of the hyperkeratotic and the ulcerated pars oesophagea but not in the normal epithelium. These results indicate that K6 is expressed in association with the mucosal changes. The pattern of the intermediate filaments of keratin suggests that in basic to gastric ulcers in pigs there is an epithelial proliferation leading to visible hyperkeratosis.

94. SANCHEZ (R.), BEECKMANS (S.), POHL (P.), CHARLIER (G.), VAN DRIESSCHE (E.). The effect of plasma glycoproteins and antibiotics on the attachment of *E. coli* to calf intestinal brushborder membranes and mucus components. In : Effects of antinutrients on the nutritional value of legume diets. Vol 3, The impact of food antinutrients on the

microbial ecology of the gut, 1996, edit by S. Bardocz, F.V. Nekrep and A. Pusztai, COST 98.

Animal species : Bovine.

Key words : Glycoproteins, antibiotics, attachment, *E. coli* , intestine, electron microscopy.

Summary : our in vitro investigations on the attachment-inhibition of *E. coli* expressing fimbriae involved in the adhesion of the bacteria to the small intestinal wall of young calves clearly show that glycoproteins of cow plasma effectively inhibit adhesion. The inhibition observed is not due to specific antibodies directed against fimbriae. In vivo studies confirm that , at least in the case of *E. coli* expressing F17 or K99 fimbriae, cow plasma prevents attachment as well as the development of clinical symptoms.
The use of sub-inhibitory concentrations of antibiotics to interfere with adhesion seems to be limited to some fimbrial systems and, consequently, the successful application of this approach in husbandry or human health care is doubtful.

95. SANCHEZ (R.), BEECKMANS (S.), POHL (P.), CHARLIER (G.), VAN DRIESSCHE (E.). The effect of plasma glycoproteins and antibiotics on the attachment of *E.coli* to calf intestinal brushborders membranes and mucus components. in: Cost 9B. Volume 3. The impact of food antinutrients on the microbial ecology of the gut. S.Burdocyz*et al.* Edit. Brussels, Luxembourg , 1996, 16 - 20

Animal species: cattle.

Key words: Cattle, Colibacillosis, new therapy.

Summary: *In vitro* inestigations on the attachment of *E.coli* expressing fimbriae involved in
the adhesion of the bacteria to the small intestinal wall of young calves show that antibodies directed against fimbriae. *In vivo* studies confirmthat, at least in the case of *E.coli* expressing F17 or K99 fimbriae, cow plasma prevents attachment and the development of clinical symptoms.The use of sub-inhibitory concentrations of antibiotics to interfere with adhesion is less successfull.

96. SCOKART (P.), NYSSEN (P.), DE COOMAN (P.). Developing an expert system for the evaluation of nutrient losses from agriculture to waters in Belgium. Tuney et al. Ed., Phosphorus Loss from Soil to Water, 1997, 403-406.

Key words : Agriculture, nutrient losses, phosphorus, surface waters.

Summary : Before nutrients in agriculture can be managed by legislation, it is necessary to evaluate the share of all pathways to the total loading of surface waters. This study describes a functional, pragmatic and empirical method for the calculation and estimation of P losses on a macro-economic level and its evaluation in three representative catchment areas in Belgium.

97. SCOKART (P.), VAN CAUTER (R.). Long-term lysimeter studies on the influence of usual belgian farming systems on nitrate leaching. 6 Gumpensteiner Lysimetertagung "Lysimeter im Dienste des Grundwasserschutzes", 1996, 101-104.

Key words : Farming systems, nitrate leaching, lysimeter.

Summary : A multifactor experiment centered on fertilization rates (by mineral fertilizer and/or animal manure), soil type and crop rotation was started in 1987 in Belgium to study the interrelation-ships between agricultural systems and the leaching of nitrogen in drainage water.
As a result of eight years studies, it has been possible to obtain the following observations:

- N leaching from soils without any N fertilization can be relatively high and decreases very slightly with time from 35 to 25 and 85 to 35 kg $N.ha^{-1}.y^{-1}$ respectively for loamy and sandy-loam soils. These high losses give nitrate concentration peaks of nitrates varying from 20 to 70 mg $NO3.l^{-1}$
- For each agricultural system, nitrogen leaching is always higher in sandy-loam soils than in loamy soils.
- Maximum nitrate concentrations are observed when the volume of drained water is high (generally in january-february).
- Permanent grasslands permit to achieve very low concentrations of nitrates in water, generally lower than those observed under non fertilized arable crops, except the year just after ploughing and sowing.
- Interannual variability of nitrogen losses is quite similar to differences observed between agricultural systems.
- Only 5-10 % of the amount of mineral fertilizers applied on crops is leached into drainage water and the fraction leached increases very slowly with fertilizer application rate (in the range of common agricultural practices in Belgium).
- Fertilization with livestock slurry gives high N losses, particularly in sandy-loam soils (from 80 to above 200 kg $N.ha^{-1}.y^{-1}$), but it promotes a higher soil fertility, giving always the highest crop yields even two years after application.

98. SHARMA (A.K.), WOLDEHIWET (Z.), WALRAVENS (K.), LETESSON (J-J.). Immune responses of lambs to the fusion (F) glycoprotein of bovine respiratory syncytial virus expressed on insect cells infected with a recombinant baculovirus.
Vaccine, 1996, **14**, 773-779.

Animal species : Bovine.

Key words : BRSV, F protein, antigenic sites.

Summary : A group of lambs was immunized with the F protein of bovine respiratory syncytial virus expressed in a baculovirus (Bac-F) and their humoral and cellular immune responses to bovine RSV studied before and after challenge with infectious bovine RSV. Immunization with Bac-F resulted in significant humoral immune responses as measured by virus neutralisation and cellular immune responses as measured by lymphoproliferation against live or inactivated bovine RSV and specific cytotoxicity against autologous targets. Challenge infection with bovine RSV was characterized by significant anamnestic responses in Bac-F immunized lambs and virus sheding in nasal secretions was significantly lower in Bac-F immunized lambs than in control lambs.

99. SLAVEYKOVA (V.), HOENIG (M.). Electrothermal atomic absorption spectrometry determination of lead and tin in slurries. Optimization study. Analyst, 1997, **122**, 337.

Key words : Electrothermal atomic absorption spectrometry, lead, tin, slurry, iridium/magnesium modifier, fractional factorial design.

Summary : A comparative study of the efficiencies of different chemical modifiers for thermal stabilization of Pb and Sn in slurries was performed. The potential of fractional factorial design was explored to evaluate the effect of different parameters on the absorbance signals. An appropriate choice of various factors provides a consistent performance with good sensitivity, precision and analytical recovery.

100. SPELLMAEKER (M.), OUDDANE (B.), FISCHER (J.C.), WARTEL (M.), HOENIG (M.). Dosage d'éléments majeurs (Fe, Si, Al) dans les sédiments par ET-AAS après mise en suspension des échantillons. Analijsis, 1996, **24**, 76.

Key words : Sediments, main matrix elements, slurry sampling, electrothermal AAS.

Summary : This work deals with the direct determination of main matrix elements (Fe, Si, Al) in sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry after slurrying of the previously ground sample. The importance of the grinding and of the predigestion step is shown and possible interferences between Si and Al are discussed. Validation of the method was performed using standard reference materials.

101. SUETT (D.), FOURNIER (J.-Cl.), PAPADOPOULOU-MOURKIDOU (E.), PUSSEMIER (L.), SMELT (J.). Accelerated degradation: the European dimension. Soil Biology & Biochemistry, 1996, **28** (12), 1741-1748

Key words: Europe, accelerated degradation, pesticide

Summary: This paper illustrates the extent to which accelerated degradation is limiting the efficacy of a wide range of pesticides in European soils from as far as north of Scandinavia to the southern Mediterranean. The following topics are covered: impact on horticultural crops, impact on arable crops, soil fumigants and nematicides, impact in Mediterranean countries, and microbial aspects of pesticides accelerated degradation.

102. TERAHARA (N.), CALLEBAUT (A.), OHBA (R.), NAGATA (T.), OHNISHI-KAMEYAMA (M.), SUZUKI (M.). Triacylated anthocyanins from *Ajuga reptans* flowers and cell cultures Phytochemistry, 1996, **42 (1)**, 199-203.

Key words : *Ajuga reptans*; Lamiaceae; cell culture anthocyanins; triacylated anthocyanins; delphinidin and cyanidin 3-sophoroside-5-glucosides; p-coumaric; ferulic; malonic acid.

Summary : Four anthocyanins were isolated from *Ajuga reptans* flowers and one from the cell cultures. By FAB mass spectrometry measurements, the structure of these pigments were determined as delphinidin and cyanidin glucosides acylated with two cinnamic acids, while three of them were also malonylated. A delphinidin-based pigment in the crude extract from cell cultures was identical to the major flower pigment as shown by HPLC co-

chromatography. Moreover, by application of ^{1}H and ^{13}C NMR consisting of DQF-COSY, NOESY, ROESY, 2D-HOHAHA, HSQC and HMBC methods, the structures of two new anthocyanins were identified as delphinidin and cyanidin 3-O-(2-O-(6-O-(E)-p-coumaryl-b-D-glucopyranosyl)-(6-O-(E)-p-coumaryl)-b-D-glucopyranosyl)-5-O-(6-O-malonyl-b-D-glucopyranoside). The deacylated anthocyanins were confirmed as delphinidin and cyanidin 3-sophoroside-5-glucosides.

103. URBAIN (B.), GUSTIN (P.), CHARLIER (G.), COIGNOUL (F.), LAMBOTTE (J.L.), GRIGNON (G.), FOLIGUET (B.), VIDIC (B.), BEERENS (D.), PROUVOST (J.F.), ANSAY (M.). A morphometric and functional study of the toxicity of atmospheric ammonia in the extrathoracic airways in pigs. Vet. Res. Commun., 1996, **20**, 381-399.

Animal species : Swine.

Keywords : Ammonia, toxicity, trachea, nasal, electron microscopy.

Summary : The effects of atmospheric ammonia (NH_3) on the nasal and tracheal mucosa of pigs were investigated by morphometric and functional methods. Pigs were exposed to four concentrations of NH_3
[5 (control), 25, 50 and 100 ppm] for 6 days in a specially designed air-pollutant exposure chamber. Samples were taken from the turbinates and the trachea, and the respiratory mucosa was examined by light and scanning electron microscopy. Dose-response curves to carbachol and isoproterenol were constructed using isolated strips of tracheal smooth muscle, with or without epithelium. In pigs exposed to ammonia, considerable mucosal injuries were observed in the turbinates but not in the trachea. The number of neutrophils in the epithelial layer and in the lamina propia, and epithelial hyperplasia were closely and signicantly correlated with the concentrations of ammonia ($r=0.894$, $p<0.001$; $r=0.727$, $p<0.001$; and $r=0.818$, $p<0.001$, respectively). Except for the lamina propia, all these changes were significant ($p<0.05$) at ammonia concentrations as low as 25 ppm. The percentage of the surface of the turbinate mucosa that was ciliated tended to decrease with increasing ammonia concentration ($r=0.439$, $p<0.082$). Ammonia induced smooth-muscle hyperresponsiveness to carbachol with a close linear correlation between individual values of the carbachol-induced maximal effect and the NH_3 concentrations ($r=0.526$, $p<0.003$). While mechanical destruction of the epithelium induced an increase in E_{max} in the control group, no difference was observed between the intact and denuded strips from animals exposed to ammonia. The response to isoproterenol was not influenced by ammonia. It was concluded that quantitative histological analysis of the inflammatory infiltration and epithelial hyperplasia in the turbinates is a useful tool for quantifying the effects of atmospheric pollutants in pigs; a 6-day exposure to ammonia induces nasal irritation and functional disturbances of the tracheal smooth-muscle contractions at concentrations as low as 25 ppm.

104. VANDEGANS (J.), DE KERSABIEC (A.-M.), HOENIG (M.). Spectrométrie d'Absorption Atomique. Techniques de l'Ingénieur (fascicule Spectrométrie des vibrations et des particules), 1997, 3.

Revue monographique sur la technique.

105. VAN DEN BERG (T.P.), GONZE (M.), MORALES (D.), MEULEMANS (G.). Acute infectious bursal disease in poultry: immunological and molecular basis of antigenicity of a highly virulent strain. Avian Pathology, 1996, **25**, 751-768.

Animal species : Avian.

Key words : IBDV, monoclonal antibodies, sequencing.

Summary : This study has confirmed, by the use of immunological and molecular tools, that the recent failures of vaccination against infectious bursal disease (IBD) encountered in Europe were not related to an antigenic variation but to increased virulence of the circulating IBD virus strains.
Neutralising MAbs showed that the vaccines of intermediate virulence and the pathogenic strain 849VB had a similar pattern of reactivity in b neutralisation tests. Four distinct epitopes could be defined in seroneutralisation and addition ELISA tests. All neutralizing MAbs bound to the structural VP2 protein only in its native form. Moreover, MAbs which did not neutralize some strains precipitated well the VP2 protein from extracts of cells infected with the same virus. This suggests that slight changes in the conformation of the epitope were sufficient to allow the virus to escape to neutralisation.
VP2 sequencing results confirmed that the neutralising epitopes are clustered in the variable domain which is highly hydrophobic and flanked by two major hydrophilic peaks. Three potential 'minor' antigenic sites were identified within the hydrophobic region.
Comparison of the VP2 sequence of 849VB strain with other highly virulent isolates showed that they are close together and clearly distinct from 'classical' strains. Moreover, sequencing of IBD vaccines revealed that some of them had not been cloned.

106. VANDERHALLEN (H.), KOENEN (F.). Rapid diagnosis of Encephalomyocarditis Virus infections in pigs using a reverse transcription-polymerase chain reaction. J. Virol. Meth., 1997, **66**, 83-89.

Animal species : Pig.

Key Words : EMCV-pigs-diagnosis-RT-PCR.

Summary : The widespread of the encephalomyocarditis virus (EMCV), the economic losses caused by an EMCV outbreak in pig holdings and the similarity between a foot-and-mouth disease virus (FMDV) and an EMCV infection in young piglets stress the need for a fast, specific and broad diagnostic assay. An alternative to the time-consuming seroneutralisation assay, currently used for the characterisation of EMCV, is proposed. For this purpose an EMCV specific reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), using primers located in a conserved region of the 3D gene of the viral genome, was developed and tested on 114 different EMCV isolates. The identity of the respective amplicons was confirmed by sequencing. The potential of this assay for future diagnostic purposes was demonstrated by applying the developed RT-PCR on tissue samples collected from an experimentally infected piglet.

107. VANDERHEYDEN (V.-), DEBONGNIE (Ph.), PUSSEMIER (L.). Accelerated degradation and mineralization of atrazine in surface and subsurface soil materials. Pesticide Science, 1997, **49**, 237-242.

Key words : Atrazine, degradation, mineralization, surface, subsurface.

Summary : In surface soils, atrazine is considered to be a moderately persistent herbicide,, with half-lives ranging generally from one to two months. In subsoils, however, its degradation is generally slower. This paper reports the degradation of atrazine in soil and subsoil samples taken from six Belgian maize fields. Rapid degradation can take place in some samples taken from surface and in some subsurface soils. Subsoil samples were found to degrade atrazine either very strongly or not at all. Experiments with [ring-U-14C] atrazine showed that the micro-organisms responsible for the rapid degradation cleave the triazine ring and extensively mineralize the molecule.

108. VANDERMEIREN (K.), DE TEMMERMAN (L.), HOOKHAM (N.). Ozone sensitivity of *Phaseolus vulgaris* in relation to cultivar differences, growth stage and growing conditions. Water, Air and Soil Pollution, 1995, **85**, 1455-1460.

Key words : *Phaseolus vulgaris*, ozone, ethylene diurea (EDU), pod yield, visible injury, developmental stage, cultivar differences.

Summary : Exposure of *Phaseolus vulgaris* cv. Lit to ambient ozone caused a 14% pod yield reduction in 1994. This yield loss was assessed by comparing plants that were protected against ozone by treatment with EDU (ethylenediurea) with unprotected plants, both cultivated in pots with a continuous water supply. The plants had experienced an AOT40 of 8135 ppb.h during their growth. However, plant response to ozone depends on a large number of environmental and plant-specific conditions. Visible injury increased mainly after flowering and was much less severe on soil-grown bean cultivars (Lit, Stella and Groffy) not receiving additional water. Ozone fumigations in closed chambers before or after flowering proved that the growth stage during which the plants are exposed also plays a very important role with regard to injury development. Plants seem to be more susceptible during the generative growth stage and the relative cultivar sensitivity was related to the developmental stage during fumigation. However with regard to yield effects the timing of the ozone exposure seems to be less important.

109. VANDERMEIREN (K.), DE TEMMERMAN (L.). Different responses of *Phaseolus vulgaris* to sub-acute and chronic ozone fumigations at an equal AOT40 level. In: Kärenlampi, L. and Skärby, L. (Eds). Critical Levels for Ozone in Europe: Testing and Finalizing the Concepts. UN-ECE Workshop Report. Univ. of Kuopio, Dept. of Ecol. and Environ. Sci., 1996, 337-342.

Key words : Visible injury, photosynthetic rate, pod yield, closed chambers, growth stage, senescence.

Summary : Two cultivars of *Phaseolus vulgaris* (Lit & Forum) were exposed to a sub-acute fumigation of 100 ppb O_3 during 7h.day-1 for 8-9 days, either before (FBF) or after flowering (FAF). In another treatment they were subjected to a 70 ppb fumigation, during both periods (CHF). Each treatment resulted in an average AOT40 of 3332 ± 246 ppb.h. Plants exposed to charcoal filtered air were used as a control.
Eventhough all the ozone treatments resulted in a comparable AOT40 level, there was a clear difference in the effects on visible injury, photosynthetic rate and yield depending on the timing of the exposure and the O_3 concentration.
On the whole the plants were able to recover from a sub-acute ozone exposure during vegetative development so that the total yield (fresh weight of pods/plant) was not affected.

However, the impact of this sub-acute exposure was much more severe when the plants were fumigated during the reproductive phase. Photosynthesis of the exposed leaves was significantly reduced after the fumigation, resulting in a reduction of pod yield compared to the control plants (FW: -11% NS, DW: -7% *). Exposing the plants to 70 ppb O_3 during both periods caused the most significant yield reduction (FW: -20% **, DW: -15% *). Photosynthetic rate was already reduced during the first fumigation period and this effect became even more pronounced after the last fumigation. The effects on stomatal conductivity were not very consistent, though occasionally significant reductions were measured.
Yield reductions were not directly related to the extent of visible injury. The most severe injury appeared when the plants were fumigated at 100 ppb after flowering. Only minor injury occured with a sub-acute fumigation during vegetative growth. The chronic ozone exposure at 70 ppb caused intermediate injury.
The increase in the percentage dry matter of the pods, both in the FAF and CHF treatment indicated that these pods were more mature at the time of harvest probably as a result of earlier senescence. Weight per pod and seed percentage were the most sensitive yield parameters since they were reduced in all the ozone treatments.
These results clearly show that yield effects of ozone cannot be explained soley by the ozone dose to which the plants have been exposed. The timing of the ozone episodes in relation to the plant life cycle is of major importance.

110. VANDERSCHUEREN (S.), VAN VLAENDEREN (I.), COLLEN (D.). Intravenous thrombolysis with recombinant staphylokinase versus tissue-type plasminogen activator in a rabbit embolic stroke model. Stroke 1997 Sep.,**28**(9),1783-1788.

Animal species: Rabbit.

Key words: Cerebral Embolism and Thrombosis / Fibrinolytic Agents / Plasminogen Activators.

Summary:Background and purpose: Timely intravenous administration of recombinant tissue-type plasminogen activator (alteplase, rTPA) to patients with evolving ischemic stroke improves neurological outcome. The present study was designed to compare the effects of rTPA and recombinant staphylokinase (Sak), a highly fibrin-specific thrombolytic agent, in an experimental model of rabbit embolic stroke.
Methods : Groups of 5 to 12 rabbits were given intravenous saline or heparin and aspirin with, in addition, either Sak (1 or 2 mg/kg infused over 30 minutes or 2 mg/kg injected over 1 minute) or rTPA (3 or 6 mg/kg infused over 30 minutes or 6 mg/kg injected over 1 minute). Infusions were started 15 minutes after selective injection of standardized 125I-fibrin labeled rabbit plasma clots into the internal carotid artery.
Results : Mean clot lysis over 60 minutes increased from 3.8% after saline to between 27% and 44% after Sak regimens (P = .0001 versus control) and to between 15% and 34% after rTPA regimens (P = .0001). Median volume of the ischemic lesion at 5 hours decreased from 190 mm3 after saline to between 11 and 17 mm3 after Sak (P = .02) and to between 0.5 to 54 mm3 after rTPA (P = .04). Mean neurological impairment at 5 hours (on a scale of 0 to 3) decreased from 2.3 after saline to between 1.3 to 1.6 after Sak (P = .003) and to between 1.1 to 1.9 after rTPA (P = .02). At the highest doses used, fibrinogen depletion was marginal with Sak but total with rTPA. Marked prolongation of car puncture and cuticle bleeding times was only observed after bolus administration of rTPA.
Conclusion : In the present rabbit model of embolic stroke, Sak was significantly more fibrin-specific than rTPA and at least as effective in lysing arterial emboli and limiting ischemia and neurological impairment.

111. VAN DE VIJVER (B.), DUCATELLE (R.), DE KRUIF (A.), ROELS (S.), DE GROOTE (D.). Fibrosarcoma of the Prepuce in a Pony Stallion: Evaluation of Chemotherapy by PCNA Morphometry. Ter gelegenheid van de Joint Meeting 14th Congress of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP) & 10th Annual Meeting of the Gesellschaft f¸r Toxicologische Pathologie, Gent, 24 - 28 september 1996. Abstractbook p.42.

Animal species : Horse.

Keywords : Fibrosarcoma, prepuce, chemotherapy, PCNA.

Summary: An 18 months old cross - bredd Fjord pony stallion was presented with swelling of the prepuce. This swelling was due to diffuse infiltrating ulcerated lesion of the mucosa on the lamina interna of the prepuce. Previous parental treatment with antibiotics and NSAIDs had given only temporary relief. A biopsy of the lesion was taken for histological examination. The tumour was classified as a fibrosarcoma. Using a monoclonal antibody to PCNA (proliferating cell nuclear antigen), the mitotically active cells in the tumour were labeled. By computerized quantitative image analysis on PCNA stained sections, a proliferation index was determined. After three weeks of treatment by topical application of 5 - fluorouracyl in an ointment, a second biopsy was taken for quantitative image analysis of PCNA immunolabeled sections. These data were compared to the data obtained before treatement in an attempt to evaluate the effectiveness of the treatment.

112. VANGRYSPERRE (W.), De CLERCQ (K.). Rapid and sensitive polymerase chain reaction based detection and typing of foot- and mouth disease virus in clinical samples and cell culture isolates, combined with a simultaneous differentiation with other genomically and/or symptomatically related viruses. Archives of Virology, 1996, **141**, 331-344.

Animal species : Domestic and wild cloven-hoofed animals.

Key words : FMDV detection, RT-PCR.

Summary : Reverse transcription followed by the polymerase chain reaction method (PCR) allowed the detection of foot-and-mouth disease virus (FMDV), regardless of the serotype. A primer set corresponding to highly conserved regions of the 2B sequence was selected. By combining in a single reaction tube specific primer pairs for FMDV, swine vesicular disease virus (SVDV), encephalomyocarditis virus (EMCV) and bovine viral diarrhea virus (BVDV), all four viruses could be identified and differentiated in one amplification reaction, based on the different length of the respective amplified segments. In a similar way, FMDV types O, A, C, SAT 2 and Asia 1 could be identified and differentiated, using primers selected from the 1D (VP1) genome region. All results were confirmed by direct sequencing of the PCR product. The very fast RNA extraction, reverse transcription and PCR permitted us to read the agarose gels within three hours after samples (cell culture isolates as well as clinical material) arrived, which is of great importance in case of an FMDV suspicion. Furthermore, a very high sensitivity was achieved (less than one PFU). Therefore, our powerful detection assay by means of PCR for FMDV as well as for SVDV, EMCV and BVDV, has great advantages compared to the presently used procedures.

113. VANGRYSPERRE (W.), De CLERCQ (K.). Differential detection and typing of foot-and-mouth disease virus by polymerase chain reaction. Foot-and-Mouth Disease Newsletter, 1996, 1, 4, 21-28.

Animal species : Domestic and wild cloven-hoofed animals.

Key words : FMDV; RT-PCR; typing of FMDV.

Summary : A RT-PCR that detect different FMDV and differentiate 5 of the seven serotypes very fast and simultaneously was developed. In addition, other picornaviruses (SVDV, EMCV) that provoke total or respectively some similar symptoms as FMDV in pigs, as well as the genomically unrelated Pestivirus BVDV (mucosal disease), which might also be confused with FMD in cattle are also specifically amplified and can be differentiated from FMDV within a single reaction.

114. VAN HAM (L.), BRAUND (K.G.), ROELS (S.), PUTCUYPS (I.). Treatment of a dog with an insulinoma-related peripheral polyneuropathy with corticoids. Vet. Rec., 1997, 141, 98-100.

Animal species : Dog.

Key words : Insulinoma, peripheral polyneuropathy, corticoids.

Summary: A crossbred dog with a History of a chronic progressive tetraparesis had an insulinoma - related peripheral neuropathy. Frequent feeding and treatment with corticoids resulted in recovery from a non - ambulatory to an almost completely normal clinical state, despite the persistence of hypoglycemia and hyperinsulinism. After euthanasia for uncontrollable seizures, the presence of a beta - cell carcinoma of the pancreas and extensive axonal degeneration of the peripheral nerves was confirmed by histopathological examination. These findings may indicate an immune - mediated pathogenesis for insulinoma - related peripheral polyneuropathy.

115. VAN HAM (L.), VAN BREE (H.), VERMEERSCH (K.), PONCELET, (L.), LEMORT (M.), ROELS (S.), HEIMAN (M.). Ter gelegenheid van het 9th Annual Meeting of the European Society of Veterinary Neurology / European College of Veterinary Neurology, 29 - 30 september 1995, Proceedings p.21 - 22.

Computed Tomographic Examination of suspected and confirmed cases of Necrotising Encephalitis in Yorkshire Terriers.

Animal species : Dog.

Key words : Computed tomography, necrotising encephalitis, Yorkshire terriers.

Summary: In this study, the results of CT examination of 6 normal Yorkshire terriers, 5 cases with histopathologically confirmed necrotising encephalitis (NE), and 8 cases of suspected necrotising encephalitis are presented. In conclusion, it can be stated that in Yorkshire terriers with clinical signs suggestive of cerebral disease, the combination of hypodense areas, enlargment of the lateral ventricles and pathological contrast enhancement on CT images may indicate the presence of NE. However, in dogs with

clinical signs of brain stem disease only, no abnormalities are observed except for enlargement of the lateral ventricles.

116. VAN HUYNH (N.), DECLEIRE (M.), TANG (V. H.), MARAITE (H.), GULLINO (M.L.), MINIER (M.), JOLIVALT (M.). Screening of chitin-degrading soil bacteria by PCR. Advances in Chitin Science, 1995, Vol 1, 120-121.

Key words: Chitin, PCR, bacteria.

Summary: Two types of primers were designed for comparing the chitinase genes among soil bacteria: primers (I) bordering the whole sequences and primers (II) specific for the conserved domains. Soil bacteria can be classified into two groups. Class A possesed one or two amplicons when primers II were used. Class B displayed up two six amplicons. No genes completely identical to the chitinase genes of Serratia marcescens were observed when primers I were used. This study showed that the conserved domains were more variable than previously reported.

117. VAN ROMPAY (D.), CHARLIER (G.), DUCATELLE (R.), HAESEBROUCK (F.). Ultrastructural changes in avian *Chlamydia psittaci* serovar A-, B-, and D- infected *Buffalo Green Monkey* cells. Infect. Immun., 1996, **64**, 4, 1265-1271.

Animal species : Avian.

Key words : *Chlamydia psittaci*, BGM cells, electron microscopy, ultrastructure.

Summary : in order to find an explanation for the obseved differences in levels of pathogenicity in turkeys of *Chlamydia psittaci* 84/55 (avian serovar A), 89/1326 (avian serovar B), 92/1293 (avian serovar D), and the Texas Turkey strain (avian serovar D), the reproductive cycles of organisms of the four strains were studied in Buffalo Green Monkey cells by transmission electron microscopy, immunoelectron microscopy, and flow cytometry. Organisms of strains most pathogenic in turkeys, namely, the serovar A strain and the 92/1293 serovar D strain, replicated faster, since at 50 h postinoculation significantly larger inclusions with more numerous infections organisms were observed than with the less pathogenic strains; were often found devoid of inclusion membranes scattered throughout the cytoplasms; and induced severe degenerative changes in Buffalo Green Monkey cells. By immunoelectron microscopy and flow cytometry, chlamydial antigens could not be detected in the plasma membranes of infected host cells. However, the presence of chlamydial antigens in inclusion membranes was demonstrated by immunoelectron microscopy.

118. VAN ROMPAY (D.), CHARLIER (G.), DUCATELLE (R.), MAST (J.), HAESEBROUCK (F.). Incorporation of *Chlamydia psittaci* antigen into the chlamydial inclusion membrane may be an important phenomen in the cytopathogenicity of avian *Chlamydia psittaci* strains. Israel J. of Vet. Med., 1996, **51** (3/4), 146.

Animals species : Avian.

Key words : *Chlamydia psittaci,* cytopathogenicity, BGM cells, immunoelectron microscopy.

Summary : the reproduction cycle in vitro of avian *Chlamydia psittaci* strains, known to be pathogenic for turkeys, was studied by transmission electron microscopy. Buffalo Green Monkey microcarrier cell cultures were inoculated with strain 84/55 (avian *Chlamydia psittaci* strain of serovar A), strain 89/1326 (avian *Chlamydia psittaci* strain of serovar B), strain 92/1293 (avian *Chlamydia psittaci* strain of serovar D) or the Texas Turkey strain (avian *Chlamydia psittaci* strain of serovar D). A further Buffalo Green Monkey microcarrier cell culture was a sham inoculated control. Furthermore, the presence of *Chlamydia psittaci* antigens in the infected cells was studied by immuno electron microscopy and flow cytometry using polyclonal and monoclonal antibodies.
For all four *Chlamydia psittaci* strains, identical morphological forms were observed. Furthermore, a morphologically similar process appears to take place with *Chlamydia psittaci* serovars A,B and D strains entering BGM cells: all strains preferentially bound to cell surface microvilli and were often seen in association with dark, fuzzy, bristle areas on the cytoplasmic surface of the host cell membrane. Chlamydiae were internalized within a membrane-lined vacuole. For the serovar B and D strains, shortly after innoculation only single organisms were present within one vacuole whereas with the serovar A strain, often 2 organisms were present within a single vacuole. The serovar A strain produced the largest inclusions, containing the highest percentage infectious forms, followed by strain 92/1293 (serovar D), the Texas Turkey strain (serovar D) and finally the serovar B strain. However, serovar A organisms and organisms of one of the serovar D strains (92/1293) also often were found scattered through the cytoplasm without forming definite inclusions. The strains which induced the most severe clinical signs and lesions in specific pathogen free turkeys, namely the serovar A strain and strain 1293 serovar D gave also the most severe ultrastructural changes in BGM cells.
Using immuno electron microscopy and flow cytometry, chlamydial antigens incorporated into or present on the host cell plasma membrane could not be detected. Indications were found however that chlamydial antigens may become incorporated in the vacuole membrane surrounding the chlamydial inclusion. This may be an important phenomenon in the cytopathogenicity of *Chlamydia psittaci*.

119. VANROOSE (G.), NAUWYNCK (H.), VAN SOOM (A.), VANOPDENBOSCH (E.), DE KRUIF (A.). Susceptibility of zona-intact and zona-free in vitro produced bovine embryos at different stages of development to an infection with bovine herpesvirus-1. Theriogenology, 1997, **47**, 1389-1402.

Animal species : Bovine.

Key words : Bovine, in vitro produced embryo, Bovine Herpesvirus-1, zona pellucida.

Summary : The aim of the present study was to determine if BHV-1 is able to replicate in in vitro produced embryos and to investigate to what degree the zona pellucida (ZP) is able to protect in vitro produced embryos against infection with BHV-1. ZP-intact and ZP-free matured oocytes, ZP-intact and ZP-free zygotes
(1 day post insemination (1 dpi)), ZP-intact and ZP-free 8-cell stage embryos (3dpi),
ZP-intact and ZP-free morulae (6 dpi) and hatched blastocysts (9 dpi) were incubated during 1 hour into 1 ml of MEM containing BHV-1. Three titers of the Cooper strain were used: 10 5.7, 10 6.7 and 10 7.7 TCID 50/ml. Bovine embryonal lung cells (BEL) on microcarrieres were inoculated following the same protocol as for the embryos; At 0, 12, 24, 36 and 48 hours post inoculation (hpi), groups of embryos and BEL cells were collected for virus totration and determination of the percentage of viral antigen positive cells by immunofluorescence. For the three development stages in ZP-free embryos similar

maximal intracellular virus progeny titers were obtained on 24 to 48 hpi ranging from 10 1.32 to 10 1.43 TCID 50/100
embryonic cells. At the same time, the intracellular virus titer in the BEL cells peaked at 10 3.08 TCID 50/100 BEL cells. The percentage of cells that expressed viral antigens was 13% in ZP-free hatched blastocysts to 17% in ZP-free morulae and 100% in BEL cells. In ZP-intact embryos, no replication of BHV-1 was detected. These results clearly show that only after removal of the zona pellucida, BHV-1 is able to replicate in in vitro produced embryos, with only a subset of embryonic cells being fully susceptible.

120. VAN VLAENDEREN (I.), CARMELIET (P.), MOONS (L.), van den OORD (J.J.), DE VOS (R.), COLLEN (D.). Abnormal tissue remodeling in combined t-PA:u-PA deficient mice. Fibrinolysis 1996 June 24, **10** (suppl 3), 79.

Animal species : Mouse.

Key words : Plasminogen Activators / Fibrin Deposition / Tissue Remodeling.

Summary : Mice with combined deficiency of tissue-type plasminogen activator and urokinase-type plasminogen activator (t-PA-/-:u-PA-/-) spontaneously develop fibrin depositions in liver, intestines, gonads, lungs, in non-healing ulcerative lesions of skin, ears, rectum and kidneys. Liver, lung and kidneys - tissues with extensive microvasculature - of seven t-PA-/-:u-PA-/- and three wild-type mice were electron microscopically examined in order to determine the exact localization of these fibrin deposits. Small focal fibrin depositions appeared to develop extravascularly, in the space of Disse of the liver (7 of 7 mice), in the mesangial matrix of the renal glomeruli (3 of 7 mice), in the interstitium and occasionally in the alveolar space of the lung (4 of 7 mice). Intracapillary thrombosis occured in more pronounced lesions and was associated with endothelial cell damage. In addition, the foot processes of the podocytes that line the glomerular basement membrane were hypertrophic and fused to a single continuous layer, whereas the basement membrane was significantly thickened, indicative of extensive tissue remodeling. Calcification of the fibrin deposits was frequently observed. Such abnormalities were not observed in the wild-type mice.
The observation that extracellular fibrin deposition appears to preceed intravascular thrombosis suggests an important trigger role of u-PA in tissue remodeling and fibrin deposition. Similar observations were reported in a variety of acute ans chronic disorders of kidney and lung in man, in which extravascular fibrin deposition by deficient plasmin proteolysis occurs secondarily to reduced activity of u-PA.

121. VAN WAMBEKE (F.), PEETERS (J. E.). The effect of Paciflor® on the performances, carcass composition and caecal bacterial numbers of broilers. Arch. Geflügelk.,1995, **59**, 125-129.

Animal species : Avian.

Key words : Zootechnology, feed additives.

Summary : Two doses of Paciflor were added to a control diet : 0.5 and 1 x 10^6 CFU/g. The experiment was a two-factorial one : treatment (3) x sex (2) and was conducted as a randomised block design with 6 replicates per treatment (3 x 2 x 6 floor pens). Body weight was not affected by treatment at 3 weeks of age, but feed conversion was

significantly ($p < 0.05$) improved following Paciflor supplementation. From O-6 weeks of age no significant differences in body weight, feed conversion and feed intake were observed between treatments. However, the better feed conversion of the Paciflor treated groups approached significance (p:0.05). Abdominal fat was significantly reduced following Paciflor supplementation. Paciflor supplementation increased significantly ($p < 0.05$) the number of *Bacillus* spp. (total and spores) in the caecum.

122. VERCRUYSSE (J.), CLAEREBOUT (E.), DEREU (A.), LONNEUX(J.-F). Control of gastrointestinal nematodes in calves by prophylactic treatments with doramectin and ivermectin. The Veterinary Record, 1996, **139**, 547-548.

Animal species : Bovins.

Key words : Doramectine, Ivermectine, comparison de programmes de traitement, parasites gastro-intestinaux, Ostertagia ostertagi, Cooperia, efficacité.

Summary : To verify the extent of productivity benefits of a single dose of doramectin at turn-out, a comparison was made with a proven programme of two pour-on treatments of ivermectin, one at turn-out and the second six weeks later. Thirty first year grazing season calves were used: fifteen animals were injected with 200 mg/kg of doramectin (Dectomax; Pfizer) at turn-out (day 0) and fifteen other animals were treated with 500 mg/kg ivermectin at turn-out (day 0) and 6 weeks after turn-out (day 42).
During the pasture season, the weight gains of both groups were similar and none of the animals showed signs of parasitic gastro-enteritis. In the doramectin group the egg excretion started to rise from day 56 and reached a maximum (mean) level of 72 eggs per gram (e.p.g.) at housing . In the ivermectin group, the mean e.p.g. was 19 on day 42 and the maximum level of 84 e.p.g. was observed on day 84. *Cooperia* was the predominant genus but in the Doramectin group, the percentage *Ostertagia* increased to above 45 % after day 112 with a parallel increase of the serum pepsinogen value (mean up to 3295 mU tyrosine), indicating that the extent of control by doramectin was probably at its limit. The ivermectin group pepsinogen levels remained low. A substancial rise of pasture larval counts was also seen on the doramactin pasture at the end of the grazing season. Such rise was slight on the ivermectin pasture.
In conclusion, over a 126 day pasture period, doramectin controlled parasite infections sufficiently to match weight gains when compared to the two-dose programme. The efficacy of a single dose of doramectin could be impaired on longer period or on pastures with higher larval challenge.

123. VILLACORTA (I.), DE GRAAF (D.), CHARLIER (G.), PEETERS (J.). Complete development of *Cryptosporidium parvum* in MDBK cells. FEMS Microbiol. Letters, 1996, **142**, 129-132.

Animal species : Bovine.

Key words : *Cryptosporidium parvum* , in vitro cell culture, electron microscopy.

Summary : a rapid and technically simple system is reported that can be routinely used to infect MDBK cell monolayers with *C. parvum*. In the study we describe the complete development of *C. parvum* in MDBK cells. The oocysts observed in the cell cultures must have resulted from sexual reproduction of the parasite, since the inocula consisted only of sporozoites.

Cells were infected with sporozoites that were earlier liberated in vitro from oocysts. We have chosen for sporozoites as inoculum because during the excystation of *C. parvum* oocysts, as of other coccidial oocysts, toxic substances are liberated which may have a negative impact on development of this parasite in cultured cells. Although the isolation and purification of sporozoites significantly prolong the inoculum preparation, our results demonstrate that these procedures only minimally interfere with the sporozoite viability, which is essential for the infection of the MDBK host cells.
As determined by Giemsa staining, a parasite/host cell ratio of about 1:4 was obtained, which is higher than the percentages (3-20%) of cell infections that were reported by other. Recent reports suggest that infection of Caco-2 cells and HCT-8 cells may produce higher infection rates. Perhaps the parasite development in MDBK cells may be enhanced by addition of glucose, insulin, or vitamins in the medium as was reported for the HCT-8 cells.

124. VYNCKE (W.), HILLEWAERT (H.), GUNS (M.), VAN HOEYWEGEN (P.) Zware metalen in strandschelp (Spisula subtruncata) van de Belgische kustwateren. Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (CLO Gent). Publicatie nr. 245 - D/1997/0889/4

Key words: heavy metals, Belgian continental shelf, shellfish

Summary: In twelve stations of the Belgian continental shelf samples of 'Spisula subtruncata' (a shellfish species) were analysed for mercury, cadmium, lead, copper, zinc and chromium in the period 1991-1995. Overall there was a decreasing trend in the concentrations of these heavy metals. Geographic differences were observed between the sampling stations for lead, copper and chromium. The mean concentrations were found to be significantly lower than the allowed values.

125. WALRAVENS (K.), MATHEISE (J.P.), KNOTT (I.), COPPE (P.), COLLARD (A.), DIDEMBOURG (C.), DESSY (F.), LETESSON (J.-J.). Immunological response of mice to the bovine respiratory syncytial virus fusion glycoprotein expressed in recombinant baculovirus infected insect cells. Arch. Virol., 1996, **141**, 2313-2327.

Animal species : Bovine.

Key words : BRSV, F protein, baculovirus, mice model.

Summary : Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) is a major cause of respiratory disease in calves. The BRSV genome encodes two major glycoproteins, G and F, which are the major targets for the host antibody response. We have expressed the F glycoprotein in insect cells (Sf9) using a recombinant baculovirus vector. A comparison of the F protein expressed in mammalian and insect cells by SDS-PAGE showed that only part of the baculovirus-produced protein was soluble and processed like the native protein. The antigenicity of the soluble form of the F protein expressed in insect cells was identical to that of the F protein expressed in mammalian cells. Immunization with the F protein expressed in insect cells induced neutralizing antibodies in mice. Adjuvation of this antigenic preparation with Quil-A resulted in increased neutralizing antibody titer and induced protection to mice lungs.

126. WALRAVENS (K.), (1997). Variabilité et potentiel vaccinal des glycoprotéines d'enveloppe F et G du virus respiratoire syncytial bovin (BRSV). Dissertation doctorale en Sciences Biologiques/Ph.D thesis in Biological Sciences. Laboratoire d'Immunologie/Microbiologie, Unité de Recherches en Biologie Moléculaire. Promoteur (Advisor): Prof. Jean-Jacques Letesson.

Animal species : Bovine.

Key words : BRSV, G protein, variability.

Summary : The fusion (F) and the attachment (G) glycoproteins of the bovine respiratory syncytial virus (BRSV) are the main targets of the humoral immune response of infected calves. Despite low variability of the BRSV-G protein, the immunodominant domain of the protein was polymorphic, and this could be responsible of incomplete cross-reactive immunity. Analysis of the G protein's variability also suggested that BRSV is constituted of a *continuum* of variants belonging to a unique lineage. The BRSV-F protein is highly conserved between BRSV strains. To study the immunogenicity of this protein, the BRSV-F protein was expressed in insect cells (Sf9) with the help of a recombinant baculovirus (BacF). Even if a low percentage of the recombinant F protein was processed like the native protein, parenteral immunization of mice with the F protein expressed in insect cells and adjuvanted in Quil-A (Sf9 Bac-F/QA) induced serum neutralizing antibodies and protected against a BRSV challenge. On the contrary, intranasal injection of this preparation induced mucosal memory IgA response but was not protective in the absence of high titres of seroneutralizing antibodies. In cattle, parenteral inoculation of Sf9 Bac-F/QA was followed by systemic neutralizing antibody response and a cellular immune response but was not protective. However, intranasal inoculation of this preparation induced protection but we were unable to detect the parameters of this immunity. In conclusion, the fusion protein expressed in insect cells is able to induce a protective immune response in mice and cattle, suggesting that this protein gives a good basis for the development of an anti-BRSV subunit vaccine.

127. WEYNANTS (V.), GODFROID (J.), LIMBOURG (B.), SAEGERMAN (C.), LETESSON (J.-J.). Specific Bovine Brucellosis Diagnosis Based on an In Vitro Antigeno-specific IFN-γ Production. J. Clin. Microbiol., 1995, **33**, 706-712.

Animal species : Bovine.

Key words : Brucellosis - CMI - IFN gamma.

Summary : In order to improve the specificity of the diagnosis of bovine brucellosis, we developed a test which can be regarded as an in vitro correlate of the delayed type hypersensitivity test (DTH). A mixture of cytoplasmic proteins from Brucella melitensis B115 was used as specific antigenic stimulus in bovine whole blood culture. Supernatants harvested at 18 to 24 h after the in vitro antigenic stimulus were assayed for their gamma interferon (IFN-γ) content by using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay kit. The IFN-γ test was evaluated with 10 heifers during the course (80 days) of an experimental infection and with 14 cows from an ongoing brucellosis outbreak. All these animals were slaughtered, and pertinent organs were subjected to classical bacteriological analyses. In addition, we analyzed 23 field cases in which false-positive serological reactions occurred. The IFN-γ results were compared with those of the standard DTH and a battery of serological assays, and they were correlated with bacteriological data. Both for the experimental infection and for the the field brucellosis outbreak, the IFN-γ detected

infection in more animals than any combination of the serological tests, and it detected infection earlier than these tests. Finally, none of the samples from cows showing false-positive serological reactions was classified as positive by the IFN-γ assay, attesting to its specificity and to its usefulness in interpreting ambiguous serological results. A rapid and convenient alternative to the DTH, the IFN-γ assay appears to be an ideal method that is complementary to the serological diagnosis protocols.

128. WEYNANTS (V.), TIBOR (A.), DENOEL (P.), SAEGERMAN (C.), GODFROID (J.), THIANGE (P.), LETESSON (J.-J.). Infection of cattle with *Yersinia enterocolitica* O:9 a cause of false positive serological reactions in bovine brucellosis diagnostic tests. Vet. Microbiol., 1995, **48**, 101-112.

Animal species : Bovine.

Key words : FPSR, Brucellosis, *Yersinia enterocolotica* O:9

Summary : During the last four years, an increasing number of cattle herds were classified positive by brucellosis screening tests in areas of Belgium and France free of the disease. No clinical symptom of brucellosis was reported in these animals and no *Brucella abortus* strains were isolated. After two years, no brucellosis outbreak was registered in all of the herds concerned. On this basis, all the serological reactions observed were classified as false positive. An ELISA using *Yersinia* Outer membrane Proteins (YOPs) as antigens was developed in order to discriminate between a *Yersinia enterocolitica* O:9 infection and a *Brucella abortus* infection. Antibodies against YOPs were detected in sera from Y. enterocolitica O:9 experimentally infected cattle (n = 4) but not in sera from *B. abortus* experimentally infected cattle (n = 4). In a field study, 66.7% of 174 serum samples from cattle presenting false positive serological reactions showed anti-YOPs antibodies whereas only 10% of 454 serum samples classified negative by the brucellosis screening tests, showed anti-YOPs antibodies. Our results suggest that infections with *Y. enterocolitica* O:9 may cause false positive reactions in brucellosis testing.

129. WILLEMS (L.), KERKHOFS (P.), ATTENELLE (L.), BURNY(A.), PORTETELLE (D.) KETTMAN (R.). The major homology region of bovine leukaemia virus $p24^{gag}$ is required for virus infectivity *in vivo*. Journal of General Virology 1997, **78**, 637-640.

Animal species : Bovine, sheep.

Key words : Bovine leukemia virus, infectivity, MHR.

Summary : ln order to gain insight into the role of the major homology region (MHR) in the infectious potential of bovine leukemia virus (BLV), mutations were introduced into the capsid gene of an infectious molecular clone. A provirus that was designed to contain only a slightly modified version of the MHR (substitution of phenylalanine 147 with a tyrosine) was still infectious *in vivo*. Furthermore, the provirus loads were not significantly different from those obtained with a wild-type virus. A second mutant was designed to analyse a mild modification of the MHR at the level of arginine 150. The substitution of this residue with a lysine completely destroyed the infectious potential of the recombinant virus. Finally, a third mutant that was deleted in the MHR region was unable to infect the host. Thus it appears that the integrity of the MHR domain is essential for BLV infectivity *in vivo*.

130. WILLEMS (L.), GATOT (J.S.), MAMMERICKX (M.), PORTETELLE (D.), BURNY (A.), KERKHOFS (P.), KETTMANN (R.). The YXXL Signalling Motifs of the Bovine Leukemia VirusTransmembrane Protein Are Required for In Vivo Infection and Maintenance of High Viral Loads. . Journal of Virology. 1995, **69**, 4137-1141.

Animal species : Bovine, sheep.

Key words : BLV, attenuation, signal transduction.

Summary : The bovine leukemia virus (BLV) transmembrane protein (gp30) contains three YXXL motifs at its carboxyterminal end. Two of these motifs have been implicated in vitro in signal transduction pathways from the external to the intracellular compartment. In order to analyze the biological relevance of these motifs in vivo, recombinant BLV proviruses were constructed. A mutation of the tyrosine residue of the second YXXL motif completely destroyed the infectious potential of the virus in sheep. In contrast, the tyrosine of the first motif appeared to be dispensable for infectivity. However, the propagation of the recombinant virus within the animal was greatly impaired (as demonstrated by PCR and enzyme-linked immunosorbent assay). These recombinant BLVs thus exhibit an attenuated phenotype. Altogether, our data demonstrate the importance of the YXXL motifs of the BLV transmembrane protein for in vivo infection and viral propagation.

131. WILLEMS (L.), KERKHOFS (P.), BURNY (A.), MAMMERICKX (M.), KETTMANN (R.). Lack of LTR and ENV Genetic Variation during Bovine Leukemia Virus-lnduced Leukemogenesis. Virology 1994, **206**, 769-772 (1995).

Animal species : Bovine, sheep.

Key words : BLV, leukomogenesis, genetic variation.

Summary : Genetic variation of the Bovine Leukemia Virus (BLV) appears to be limited *in vitro* and during the latent phase of the disease. However, cells in tumors often harbor deleted proviruses that are defective for expression. In order to gain insight into the involvement of viral genetic variation during pathogenesis, the BLV LTR and the *env* proviral sequences were analyzed in tumor tissues. A sheep (M230) was injectec with the cloned BLV provirus 344 and became persistently infected with circulating lymphocytes reaching 345,000/mm^3. After 11 months, this infected sheep developed leukemia-lymphoma. DNA was extracted from peripheral blood leukocytes at the time of tumor development and the LTR and the *env* gene were amplified, using the polymerase chain reaction procedure, cloned, and sequenced. Twenty independent LTR and twenty *env* clones were analyzed. It appeared that the *in vivo* mutation rate in the *env* gene was 0.043% (eight mutations including seven transitions out of 18,300 bp). Five point mutations (all transitions) were identified in the LTR, corresponding to 0.041% modifications (four mutations out of 9740 bp). These mutation rate values (0.043 and 0.041) were close to those due to the Taq DNA polymerase errors (0.030%). Altogether, these data demonstrate the lack of genetic variation in the LTR and the *env* gene during this case of BLV-induced pathogenesis in vivo. They confirm that the defectiveness of some BLV proviruses *in vivo*, thus, is not a mandatory step in the leukemogenic process.

132. WOOD (M.), ISSA (S.), DIXON (A.), PUSSEMIER (L.), VANDERHEYDEN (V.), VIZANTINOPOULOS (S.), DOUKA (C.), GYORI (Z.), KATAI (J.) BORBELY (M.). Herbicide degradation in the surface and aquifer environment in Europe. In "The environmental fate of xenobiotics",(Del Re A.A.M., Capri E., Evans S.P., Trevisan M., Editors), Piacenza, Italia, 1996, pp 655-662

Key words: Herbicide, subsurface, degradation, Europe

Summary: This paper presents the objectives and the main results of a shared cost project carried out in four European countries (Belgium, Greece, Hungary and United Kingdom). It was important to note that different dissipation kinetics ans mecanisms were observed in the various countries regarding atrazine (and other pesticides) degradation in the subsurface environment. It appeared, indeed, that the detoxification potential of the subsurface materials was important in some specific sites. This was especially the case in Belgium and Hungary where atrazine has been used since a long time (continuous cropping of maize). In other places, however, the degradation potential was showed to be moderate (United Kingdom) and, even, non existent at all (Greece).

B. CONGRESSEN - CONGRES

133. BEERNAERTS (S.), PUSSEMIER (L.). Estimation des pertes en produits phytosanitaires vers les eaux souterraines dans les différents bassins hydrographiques belges. XXVII Congrès du Groupe Français des Pesticides, 1997, Bureau de Recherches Géologiques et Minières, Orléans (France)

Key words: Pesticide, eaux souterraines, bassins hydrographiques, Belgique, prédiction

134. BOELAERT (F.), WALRAVENS (K.), WEYNANTS (V.), SAEGERMAN (C.), GODFROID (J.), LETESSON (J.J.). *Yersinia enterocolitica* O:9, a cause of false positive serological reactions for brucellosis in sheep. 15 ème Congrès International Salmonellose-Brucellose, Chypre - 1997, pp.

Animal species : Brucellosis, False positive, reactions, sheep

Key words : Sheep

Summary : Belgium is officially free from ovine brucellosis (*Brucella melitensis* and *Brucella ovis*). Trade in the European Union is based on negative brucellosis serology, according to Directive EC91/68. Therefore blood samples of sheep for export, are tested by serological tests.
In a recent routine analysis, one sheep was detected positive for *B. melitensis* in some conventional tests (Rose Bengal and Complement Fixation Test) and *B. abortus* - LPS ELISA, and negative in the Slow Agglutination of Wright (SAW) with 9 ‰ and 5 % NaCl. In the absence of clinical signs of disease, false positive reaction was suspected.
To exclude *Brucella* infection, and to identify a pathogen, causing false positive serological titres for brucellosis, a second examination was carried out, 3 weeks after the onset of the positive results. Blood samples and swabs from tonsils and rectum were collected. Intradermal reaction test (IDR, lower eyelid) and gamma interferon (IFNγ) assay

with a *Brucella* allergen were also performed. Transient serology for B. melitensis was observed in several sheep from the herd. The SAW, IDR and the IFNγ assays were negative in all animals. Bacteriological examination was negative for *Brucella melitensis* and *ovis*, but yielded *Yersinia enterocolitica* O:9 isolation from faeces. In conclusion, *Yersinia enterocolitica* O:9 is suspected to be a cause of false positive serological reactions for brucellosis, in sheep.

135. CALLENS (M.), VANGRYSPERRE (W.), DE CLERCQ (K.). A rapid and sensitive RT-PCR method for RMDV detection, typing and differentiation with other genomically and/or symptomatically related viruses. Report of the Session of the FAO Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, September 2-6, 1996, Kibbutz Ma'ale Hachmisha, Israel, p. 77-83.

Animal species : Domestic and wild cloven-hoofed animals.

Keywords : RT-PCR , FMDV, serotyping, differentiation.

Summary : A PCR primer pair based on the conserved nucleotide sequences 2B in all known FMDV types, was used for the identification of FMDV, regardless of the serotype. As a consequence of a fast RNA extraction method, optimal reverse transcription and PCR protocol, amplification products could be identified on an agarose gel in less than three hours after receipt of a sample, which is of great advantage in the case of suspected FMD. Furthermore, a very high sensitivity was achieved.
By combining the specific primer sets in one reaction mixture, it was possible to differentiate FMDV, SVDV, EMCV and BVDV in a single PCR, and identify these viruses on the basis of the different length of the amplification product. In a similar way, two multiplex PCR's were developed to differentiate the seven serotypes of FMDV simultaneously, quickly and accurately. Therefore, our powerful detection assay by means of PCR for FMDV, as well as for SVDV, EMCV and BVDV, and also for serotyping has great advantages compared to the presently used procedures.

136. CALLENS (M.), DE CLERCQ (K.), DANES (M.), GRUIA (M.). Detection of FMDV by RT-PCR in contact sheep without clinical signs of FMD. Report of the Concerted action CT930909 28-29 April, 1997, Lelystad, the Netherlands, p.17.

Animal species : Sheep.

Keywords : RT-PCR, FMDV-detection.

Summary : Examination of various secretion samples and various tissue samples of two experimentally infected sheep and 4 contact sheep for the presence of FMDV by RT-PCR and by virus isolation indicated that sheep can be dangerous for the transmission of FMDV. The contact sheep displayed no clinical signs but were serologically positive. FMDV could be detected in these subclinically infected animals, only with great effort, and with the highest frequency in mouth swabs. Using a sensitive RT-PCR-ELISA yielded significantly more positive samples and also for a longer period, compared to standard RT-PCR and VI.

137. CASTRYCK (F.), MIRY (C.), KOENEN (F.), DUCATELLE (R.). Clinical and pathological aspects of EMCV infections in pigs in Belgium. Proceedings of the 14th IPVS congress, Bologna, Italië, 1996, p.132.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV-pigs-Belgium-pathology.

Summary : In the period of August 1995 till February 1996 EMCV was confirmed by virus isolation and PCR in 45 farms most located in the eastern part of West-Vlaanderen.The disease in most farms was restricted to one age category. In 21 farms fattening pigs were involved. In 11 farms the disease was seen in suckling piglets. In one farm the virus was isolated from a weaner and in 12 farms EMCV was isolated from aborted fetuses or still born piglets. By experimental infections it was demonstratedthat both types of EMCV isolates were only able to give rise to the specific symptoms they were related in the field. Virus could be isolated from rats, but no virus transmission by rats was evident. Histological lesions in suckling piglets and fatteners are different. Mortality may be minimized by avoiding stress or excitement of the pigs at risk.

138. CLAVAREAU (C.), TRYLAND (M.), WELLEMANS (V.), MICHEL (P.), BOELAERT (F.), WALRAVENS (K.), LETESSON (J.-J.), GODFROID (J.). Isolation of *Brucella* spp. in a Minke Whale (*Balaenoptera acutorostrata*). First international virtual conference on Infections diseases of animals. April 21 - May 2, 1997.

Animal species : Whale

Key words : Marine mammals brucellosis

Summary : We succeeded in isolating a novel unknown *Brucella* species from a Minke Whale (*Balaenoptera acutorostrata*) that as been cached during a commercial hunting offshore the Norwegian coast of Finnmark in May 1995. *Brucella* spp. isolation in seals, dolphins and porpoises along the UK coast, have been reported these last years. In a preliminary study, we have seen serological evidences of *Brucella* spp infections in seals but also in whales cached in the Northern Atlantic. We have cultured spleen and liver samples from a whale classified positive by brucellosis serological tests. Incubation (Farrell medium) in a 5 % CO2 atmosphere yielded positive results. So far, cultural characteristics, agglutination and biochemical tests are consistent with the diagnosis of smooth *Brucella* spp. Preliminary DNA work have shown positive PCR results for the specific *Brucella* 16S-23S Spacer and IS 6501 sequences. RFLP studies based on the IS 6501 sequence have shown a unique profile in comparison to the profiles described for *B. melitensis, B. abortus, B. suis, B. neotomae, B. canis* and *B. ovis*. This report is to our knowledge, the first description of the isolation of Brucella spp. in rorquals. The isolation of a novel agent responsible for reproductive disorders (in domestic animals) in endangered species, as well as its potential zoonotic importance is of concern. Finally, the isolation of *Brucella* spp. in whale, seals, dolphins and porpoises puts question marks on the lineage between the marine *Brucella* species and on the source(s) of contamination.

139. CLEENWERCK (I.), POHL (P.), MAINIL (J.). Purification and characterization of two adhesins of the bovine verotoxinogenic *E. coli* strain 339S89 (O5:H-). 4th Symposium of the National Committee of Microbiology "Biosafety: a scientific challenge in medicine and biotechnology". Brussel, 22 maart 1996, Poster 5.

Animal species : Cattle.

Key words : VTEC, adhesins.

Summary : Attaching-effacing *Escherichia coli* (AEEC) are characterized by attachment to the intestinal mucosa and destruction of microvilli (Knutton et al, 1989). They may be isolated from humans, rabbits, cats, dogs, cattle and sheep. Depending on their possibility to produce a toxin two groups of strains can be distinguished : verotoxinogenic *E. coli* (VTEC), which produce a verotoxin and enteropathogenic *E. coli* (EPEC), which do not produce a known toxin. The adherence of AEEC to the intestinal mucosa is an important step in pathogenesis. Colonization probably occurs by means of host-specific adhesins. Several adhesins of human AEEC strains have already been identified (BFP, AIDA-I) thanks to their adherence to HEp-2 and HeLa cells in tissue cultures (Nataro et al, 1985).
Strain 339S89 is a verotoxinogenic strain of bovine origin that is able to adhere in vitro to MDBK cells. Bacteria grown statically in PAB at 37°C produce fimbriae as seen by electron microscopy. A fimbrial extract was made by mechanical shearing followed by precipitation by ammonium sulfate. Analysis of these extracts by SDS-page showed two proteins (18,5 and 16,5 kDa). The production of these proteins appeared to be influenced by temperature (optimal expression at 37°C) and duration of growth of the culture (optimal expression between 72 and 144 hours). Antiserum raised against the 339S89 fimbrial extract was absorbed with 339S89 bacteria grown under conditions nonfavorable for fimbrial expression (20°C). This absorbed serum was shown by immunogoldlabeling to bind to 339S fimbria as well as to the bacterial surface. The serum also reacted with the 18,5 and 16,5 kDa proteins in Western blotting. Several isolates (19) representing other VTEC serotypes were grown under 339S fimbriae-inducing conditions and examined by electron microscopy. The majority of these strains expressed fimbriae of which some were morphologically similar to the 339S fimbriae. From two strains (340S89, X157/92) fimbrial extracts were prepared and analyzed in Western blotting with the 339S-antiserum. Cross-reaction was seen with the 18,5 and 16,5 kDa proteins expressed by these VTEC strains. Immunogold labeling showed a reaction with their pili. Thus, the capacity to express these proteins may be a common feature of many VTEC strains. Internal aminoacid sequence analysis of the 18,5 and 16,5 kDa proteins of 339S89 reveals that the first protein is strongly related to M-agglutinin, which is a nonfimbrial hemagglutinin (Rhen et al, 1986). The second protein shows 80% homology with the Pap major fimbrial precursor (Baga et al, 1984). Further studies will prove if the fimbriae play a role in adhesion of AEEC to the intestinal mucosa or to MDBK cells.

140. CLEENWERCK (I.), VERLEYE (A.), POHL (P.), MAINIL (J.). Construction and analysis of Tn*phoA* mutants of Attaching-Effacing *Escherichia coli*. The first Symposium of the Belgian Society for Microbiology "Evolution and gene transfer in microorganisms". Leuven, 17 oktober 1997, Poster.

Animal species : Cattle.

Key words : AEEC, Tn*phoA*.

Summary : Attaching-effacing *Escherichia coli* (AEEC) are characterized by intimate bacterial adherence to enterocytes and disruption of the underlying cytoskeleton (Knutton et al, 1990).
To identify adhesive factors, screening the chromosome with Tn*phoA* is an effective way. Mutants with an in-frame insertion of *phoA* in a gene encoding an extra-cytoplasmatic protein, are characterized by the production of fusion proteins directed by signal sequences out of the cytoplasm. These mutants, detectable by the blue appearance of colonies on plates containing 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (XP), can be tested for their adhesive properties *in vitro* and *in vivo* (Donnenberg et al, 1990).
The bovine AEEC strain 340S89 was subjected to Tn*phoA* mutagenesis using pGV4041, a mini Tn*phoA* transposon in the suicide plasmid pUT delivery system (Pattery et al, 1996). The insertional mutagenesis was accomplished by conjugal transfer of pGV4041 from donor strain *E. coli* S17-1(lpir) into 340S89. In total 30 conjugations were set up. 58.000 mutants resulting from insertion of Tn*phoA* into bovine AEEC DNA were obtained, which corresponds to a calculated operational transposition frequency (Herrero et al, 1990) of 10^{-7}. Of all exconjugants 98 appeared blue on medium containing XP. Analysis of these blue mutants revealed that all of them arose from authentic transposition of the miniTnphoA transposon.
The 98 blue exconjugants were tested for their adhesive ability to MDBK. In comparison to the wild type strain 340S89, some strains showed less attachment. These strains will be further analysed in the future.

141. DEBONGNIE (Ph.), VAN ELSEN (Y.), VANDERHEYDEN (V.), PUSSEMIER (L.), HALLAUX (B.), DELVAUX (B.). Contamination of underground and surface waters by herbicides in the Louvain-La-Neuve area. Abstracts of Cost 66 meeting "Pesticides in soil and the Environment", Stratford-upon-Avon, 13-15 May 1996, 175-176.

Key words : Herbicides, water, pollution, urban area, Belgium.

Summary : The site of the recently built town Louvain-la-Neuve (LLN), thanks to its exceptional hydrological studies facilities, has been selected as a reference site for the COST 67 action. It happens to be exceptional also for the contamination of its groundwater by herbicides. The present communication reports on the spatial extent and the evolution of this contamination. Wells, piezometers, sources, and surface waters were sampled repeatedly in 1993-1995. The surface waters contamination pattern hardly differs from that of other towns: it is very seasonal and consists mainly of a “spring flush” peak (up to c. 20 µg/L diuron were found in early May in the 5-ha “lake” collecting the city’s run-off waters). On the other hand, the aquifer contamination is serious (up to 1.6 µg/L atrazin and 0.6 mg/L diuron) and stable in time, although fortunately well delimited in space (c. 80 ha). Its composition as well as its localization show that it is of non-agricultural origin, and due probably to the scraping off of the loam layer protecting the sand aquifer prior to the building of the town.

142. DE CLERCQ (K.), DANES (M.), CALLENS (M.), GRUIA (M.). Diagnostic test for FMD based on PCR, especially in incubation period and carriers. Report of the Session of the FAO Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, September 2-6, 1996, Kibbutz Ma'ale Hachmisha, Israel, p. 55-57.

Animal species : Sheep.

Key words : FMDV, PCR, sheep, nasal swabs.

Summary : The endemic FMD situation in the Middle-East, where 88% of the livestock are small ruminants, means a serious threat to Europe. Specifically sheep are dangerous as FMD can spread unnoticed. In international trade it is important to establish freedom of FMD infection and therefore a serological survey can be useful. A difficult point in the epidemiological analysis of an FMD situation as in Greece was the presence of antibodies in a sheep flock with unnoticed or without clinical signs. In such a situation the country is not obliged to declare an outbreak. O-P probang samples taken for virus isolation in tissue cultures or for testing by PCR are very useful but highly unpratical for large number of animals. Nasal swabs are more covenient in this respect and should be tried out on a large scale bases in sheep flocks.

143. DE CLERCQ (K.). OIE guidelines for laboratory quality evaluation and proficiency testing as a bases for the implementation of a quality assurance programme in national FMD laboratories. Report of the Session of the FAO Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, September 2-6, 1996, Kibbutz Ma'ale Hachmisha, Israel, p. 208-218.

Key words : Foot and Mouth disease, FMD laboratories, Quality assurance, EN 45001, SPS agreement, OIE guidelines, Quality evaluation, Proficiency testing, International trade, Certificates.

Summary : The final act of the WTO Uruguay Round in 1994 contained the SPS agreement which aims to reduce to a minimum the negative effects of health barriers on international trade. Therefore the OIE Regional Commission for Europe proposed that an accreditation system based on the norm EN 45000 should be applied for the international recognition of certificates and testing laboratories. In this respect the OIE Commission of Norms published OIE guidelines for Laboratory Quality Evaluation and Proficiency Testing. The FAO European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease recommended in 1995 that the OIE proposal should be applied in all FMD diagnostic laboratories in Europe. In this review the norms EN 45001 and the mentioned OIE guidelines are summarised. It is stated that these OIE guidelines should be taken as a bases for the implementation of a QA programme in FMD laboratories.

144. DE CLERCQ (K.). Serological testing of cattle for international trade after the FMD-vaccination stop in Belgium in 1991. Report of the EU Meeting on Foot-and-Mouth Disease Serology, January 22-23, 1997, Tübingen, Germany, p. 9-10.

Animal species : Cattle.

Key words : FMDV serology, international trade, stress, false positives.

Summary : There are observations indicating that animals under "stress" might give inconclusive serological results, might exceed 5%, and the test systems at present applied at FMD laboratories were developed by using a non-stressed population. The cut off level based on the new reference sera in FAO phase XV would assist in overcoming the present difficulties encountered in FMD serology. Positive animals should be rebleed in order to check if the titre is stable or changing. If second or subsequent samples are negative, the first result can be considered inconclusive and the animal classified as seronegative for the

FMD. Detection of seropositive animals may indicate a significant problem in the exporting country's system of certification.

145. DE CLERCQ (K.). Diagnostic aspects of trade. Report of the Session of the FAO Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, September 20-22,1995, Vladimir, Russian Federation, p. 42-44.

Animal species : Domestic and wild cloven-hoofed animals.

Key words : FMDV, diagnostic tests, international trade, international accredited schemes.

Summary : To prevent disease spread through international trade it is essential to have reliable animal identification systems which are regularly controlled and also standardised animal diagnostic tests which are done within laboratories which participate in international accredited schemes. To achieve the former a good collaboration with the State Veterinary Services is essential and for the latter Phase XIV of the FAO/OIE collaborative study will be very important. Another phase of this study will be necessary for antigen diagnostic tests. Quarantine in international trade will in most countries probably be limited to suspected cases.

146. DE CLERCQ (K.). Detection of antibodies against SVD : comparision of the VNT and MAC-ELISA, with reference to singleton reactors. In : Proceedings of the Second Annual Meeting of the EU National SVD Reference Laboratories, Februari 19-20,1996, Brussels, Belgium, p. 36-43 .

Animal species : Pigs.

Key words : Singleton reactors, SNT, MAC-ELISA, isotype specific ELISA.

Summary : During serological screening for SVD by VNT 0.28 % singleton reactors (SR) were found. Although this is a low percentage, it is quite embarrassing for international trade. The results of 183 pigs in VNT, MAC-ELISA and isotype specific ELISA were analysed. When results of the 3 tests are combined, a profile of real positives and SR can be put together. The profile of SR's differs clearly from the one of real positives. Based on the criteria handled and profiles only two SR of the 49 in study needed in fact further investigation.

147. DE FILETTE (M.) DEWERTE (I.), POHL (P.). Distribution of the long polar fimbrial (lpf) antigen of *Salmonella* serotype *Typhimurium* . Proceedings "Salmonella and Salmonellosis (Ploufragan), 1997, 189-191.

Animal species : Mammals, poultry.

Key words : Salmonella, virulence factors.

Summary : The fimbrial operon, *lpf ABCDE*, of *S.* Typhimurium is involved in adhesion of this pathogen to murine small intestine. Moreover, lpf mediated adhesion results in binding to the Peyer's patches of the ileum.

An assay has been developed to determine the distribution of *lpf* like sequences within the genus *Salmonella* by polymerase chain reaction (PCR). PCR primers were selected to amplify a 874-base pair DNA fragment of the *Salmonella* chromosome *lpfC* gene of *S.* Typhimurium. In a preliminary study, a PCR product was detected for *S.* Enteritidis, *S.* Hadar, *S.* Dublin, *S.* Virchow, *S.* Infantis, *S.* Senftenberg and *S.* Goldcoast. No amplification was detected for *S.* Indiana, *S.* Derby and *S.* Montevideo.

148. DE FILETTE (M.), IMBERECHTS (H.), THILLY-COUTURIER (M.), POHL (P.). *Salmonella Hadar* in Belgium, progression and antibioresistance. Proceedings "Salmonella and Salmonellosis (Ploufragan), 1997, 603-605.

Animal species : Human mammals, poultry.

Key words : Salmonella epidemiology and antibioresistance.

Summary : Since 1993, we observe in Belgium, an increase of *Salmonella Hadar* isolates from poultry even more numerous than *S.*Enteritidis, and from 1994 this serovar was significantly more identified among strains from man and other mammals and in meat from avian origin. These meats are likely to contaminate human beings. The isolates are resistant to tetracyclin, ampicillin and nalidixic acid. Resistance to this later drug is caused by a mutation in *gyr*A genes. The strains possess various plasmidic profiles and belong to various phage-types. Thus the recent epidemic observed in Belgium is not clonal.

149. de GRAAF (D.C.), PEETERS (J.E.). Application of a commercial double sandwich ELISA to measure in vitro *Cryptosporidium*-specific gamma-interferon production by bovine peripheral blood mononuclear cells Proc. COST 820 Workshop on vaccines against animal coccidioses. Praag (Czech Republik), 14-16 september 1995, p. 72.

Animal species : Bovine.

Key words : Coccidia, interferon-gamma, parasitology, immunology.

Summary : The IDEXX *Mycobacterium paratuberculosis* Gamma-Interferon Test Kit is a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of a specific cellular immune response to *M. paratuberculosis* in cattle. This kit was applied to measure in vitro Cryptosporidium parvum-specific gamma-interferon production by primed lymphoytes. Peripheral blood mononuclear cells were isolated from *Crypstosporidium*-infected calves and maintained in culture at different cell concentrations and in the presence of phytohemagglutinin (PHA) or *Cryptosporidium*-oocyst antigen. Medium was collected after 24-120 h and analysed using the double sandwich ELISA of the above mentioned kit. The release of gamma-interferon was induced by both PHA and *Cryptosporidium*-oocyst antigen.

150. de GRAAF (D.C.), PEETERS (J.E.). Kinetics of the interferon-gamma, IgA and IgM responses in experimentally *Cryptosporidium parvum*-infected neonatal calves. Proc. COST 820 Workshop on vaccines against animal coccidioses. Copenhagen, Denmark, 10-12 oktober 1996, p. 61.

Animal species : bovine.

Key words : coccidia, interferon-gamma, parasitology, immunology.

Summary : The in vitro interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells and the local antibody build up was monitored in experimentally *Cryptosporidium parvum*-infected neonatal calves and negative controles of the same age. From day 6 p.i. on, an infection-induced interferon-gamma response was observed in lymphocyte cultures after stimulation with *Cryptosporidium* oocyst antigen preparation. Only the *Cryptosporidium*-infected calves developed local IgA and IgM responses from day 6 p.i. on, with peak values at day 10 p.i. These antibodies disappeared quickly, which might be due to the strict hygienic measures and consequently the absence of a continuous antigenic stimulation.

151. EWERT (F.), PORTER (J.R.), MULHOLLAND (B.J.), VANHOUTVIN (S.). An analysis of leaf emergence of spring wheat cv. Minaret grown in different environments. Book of Abstracts, 4th ESA-congress, 168-139, 1996.

Key words : Triticum aestivum, thermal rate, soil temperature, models.

Summary : Understanding leaf development is important for simulating canopy development and crop growth. The thermal rate of leaf emergence differs with sowing dates and latitudes which has been explained and modelled in different ways. Models giving most satisfactory predictions of leaf emergence of different cultivars are applied to analyse leaf emergence op spring wheat grown at different sites, years and sowing dates. As was reported that early plant development is more closely related to soil than to air temperature, it was tested whether an analysis based on soil temperature measurements could explain variation in leaf emergence rate. Soil temperature measurements slightly decreased variation in the thermal rate of leaf emergence prior to double ridge. However the remaining variation was still high which leaves us with no further insights about the mechanism of the rate of leaf emergence.

152. GODFROID (J.), WALRAVENS (K.), DESMECHT (M.), BOELAERT (F.), CZAPLICKI (G.), VIATOUR (P.), DUFEY (J.), WEYNANTS (V.), LETESSON (J.-J.), NDUWAMAHORO (E.), TRAORE (H.), PORTAELS (F.), 1997. VIII Symposium International d'Epidémiologie et d'Economie Vétérinaire, Paris, 8-11 juillet, 1997. Prevention, eradication and molecular epidemiology of bovine tuberculosis *(Mycobacterium bovis)* in Belgium.

Animal species : Bovine.

Key words : Tuberculosis - Eradication - Molecular epidemiology.

Summary : La réémergence de la tuberculose bovine (*Mycobacterium bovis*) en province de Liège en 1995, nous a permis d'évaluer les différents outils de diagnostic de la tuberculose bovine disponibles à l'heure actuelle: tuberculination (simple ou comparative), test IFN-γ (Iddex, France), sérologie Antigène A60 (Anda Biologicals, France). Au cours de l'hiver 1995-1996, un dépistage intensif a été réalisé dans 1500 fermes. Dix fermes ont été suivies en parallèle par les différents tests. Près de 15% des troupeaux présentaient des animaux réagissants au test de tuberculination simple, alors que le taux de prévalence réel de la tuberculose dans la région considérée est de 3%. Lors du dépistage, le test IFN-γ montre une meilleure spécificité que le test de tuberculination simple. Cependant, quel que

soit le test utilisé, un ou plusieurs contrôles sont nécessaires afin de préciser le statut sanitaire du troupeau.Le statut sanitaire du troupeau peut être défini en une seule intervention si le test IFN-γ et la tuberculination simple sont associés et leur résultat interprété en série. Lors de l'épuration, au sein d'un troupeau, le test IFN-γ détecte des animaux infectés, présentant une tuberculination négative mais porteurs de lésions de tuberculose. Le test sérologique (Antigène A60) réalisé après adsorption des sera avec l'antigène extrait de M. vaccae, présente une sensibilité très faible (20% des animaux classés positifs par le test IFN-γ et la tuberculination sont classés positifs en sérologie). Les souches de M. bovis isolées d'animaux infectés ont été analysées par la technique RLFP (Restriction Length Fragment Polymorphism) basée sur la séquence d'insertion IS 6110. Toutes ces souches présentent un profil unique à 9 bandes. Ceci suggère une origine unique et récente à la réémergence de tuberculose bovine dans cette région. Nos résultats ainsi que les données actuelles de la littérature suggèrent une origine "exotique" à cette réémergence de tuberculose bovine

153. GODFROID (J.), CLAVAREAU (C.), WELLEMANS (V.), MICHEL (P.), BOELAERT (F.), WALRAVENS (K.), TRYLAND (M.), LETESSON (J.-J.). Isolation and characterization of a new *Brucella* spp. in a Minke Whale. 46th annual wildlife diseases association - St-Petersburg - Florida - August 1997.

Animal species : Whale

Key words : Marine mammals brucellosis.

Summary : We succeeded in isolating a novel unknown *Brucella* species from a Minke Whale (*Balaenoptera acutorostrata*) that as been cached during a commercial hunting offshore the Norwegian coast of Finnmark in May 1995. Brucella spp. isolation in seals, dolphins and porpoises along the UK coast, have been reported these last years. In a preliminary study, we have seen serological evidences of *Brucella* spp infections in seals but also in whales cached in the Northern Atlantic. We have cultured spleen and liver samples from a whale classified positive by brucellosis serological tests. Incubation (Farrell medium) in a 5 % CO2 atmosphere yielded positive results. So far, cultural characteristics, agglutination and biochemical tests are consistent with the diagnosis of smooth *Brucella* spp. Preliminary DNA work have shown positive PCR results for the specific *Brucella* 16S-23S Spacer and IS 65O1 sequences. RFLP studies based on the IS 6501 sequence have shown a unique profile in comparison to the profiles described for *B. melitensis, B. abortus, B. suis, B. neotomae, B. canis* and *B. ovis*.
This report is to our knowledge, the first description of the isolation of *Brucella* spp. in rorquals. The isolation of a novel agent responsible for reproductive disorders (in domestic animals) in endangered species, as well as its potential zoonotic importance is of concern. Finally, the isolation of *Brucella* spp. in whale, seals, dolphins and porpoises puts question marks on the lineage between the marine *Brucella* species and on the source(s) of contamination.

154. GODFROID (J.), DESMECHT (M.), WALRAVENS (K.), BOELAERT (F.). Diagnosis of Tuberculosis and Brucellosis by antigen-specific IFN-gamma assays in bovidae in belgian zoos. 46th annual wildlife diseases association - St-Petersburg - Florida - August 1997.

Animal species : Bovidae.

Key words : Zoo - Tuberculosis - Brucellosis - IFN gamma.

Summary : Reintroduction of bovine brucellosis (*Brucella abortus*) and bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*), in domestic cattle herds in the European Union, from non conventional sources, i.e. ruminants in zoological parks, mainly bovidae, make testing compulsory for this later species. A practical cost-effective in vitro assessment of the specific cellular mediated immunity (CMI) should overcome, at least partially, the repeated immobilization problems of wild animals and other inherent limitations linked to the in vivo nature of the skin tests for brucellosis and tuberculosis. We adapted a commercial IFN-γ test (*Mycobacterium tuberculosis* IFN-γ test kit(Idexx) developed in Australia (Rothel et al.,1990) in the context of tuberculosis for the diagnosis of brucellosis in cattle. The reactivity of IFN-γ has been shown to be species specific in the bovidae Family. A group of Scottich Highlanders have been classified positive by the IFN-γ test (confirmed by *B. abortus* isolation). We detected tuberculosis (confirmed by *M. bovis* isolation) in a group of american bisons and in a group of european bisons using the IFN-γ test. Restriction Fragment Lenght Polymorphism (RFLP) studies based on the Insertion SequenceIS6110 have been carried out on the *M. bovis* isolates. During our study, a major tuberculosis outbreak occured in domestic cattle. All zoo isolates showed a one band profile,wereas all domestic isolates showed a unique nine bands profile. These results suggest that there was no possible epidemiological link between tuberculosis in the zoo and tuberculosis in domestic cattle.

155. GODFROID (J.), BOELAERT (F.), SAEGERMAN (C.), DUFEY (J.), WEYNANTS (V.), LETESSON (J.-J.). Vie et mort de la vaccination antibrucellique des bovins dans les pays de l'Union Européenne. In: Espinasse (Editor) Congrès de la Société Française de Buiatrie 1995, 185-198.

Animal species : Bovine

Key words : Brucellosis - Vaccination

Resumé : Le vaccin B19 est le pilier de la vaccination antibrucellique et son efficacité a été démontrée lors de nombreuses campagnes de prophylaxie organisées de par le monde. Les conditions d'utilisation offrant le meilleur degré de protection avec le minimum d'interférence sérologique ont été définies. Le critère d'efficacité d'une "vaccination-assurance" est la protection contre l'avortement. Le critère d'efficacité d'une "vaccination-éradication" est l'absence d'excrétion de Brucella. Depuis les années soixante, des programmes nationaux d'éradication de la maladie ont été mis en place au sein des pays membres de l'Union Européenne. On est progressivement passé d'une prophylaxie médicale à une prophylaxie médico-sanitaire pour arriver actuellement à une prophylaxie exclusivement sanitaire. Les bénéfices liés à ces différentes approches sont analysés en fonction de l'épidémiologie de l'infection, de la résistance à la maladie, de l'utilisation éventuelle d'un vaccin, des épreuves de dépistage utilisées et de la phase du programme d'éradication. L'échec relatif de certains programmes d'éradication a autorisé certains auteurs à préconiser la réintroduction de la vaccination B19 dans les zones à problème, aucun vaccin actuellement disponible ne lui étant supérieur. Les vaccins du futur, outre leur efficacité, devront permettre la réalisation du vieux rêve de tout brucelliste: la différentiation sans ambiguïté entre animaux vaccinés et infectés.

156. GODFROID (J.), BOELAERT (F.). Porcine brucellosis (*Brucella suis* biotype 2) diagnostic methods in the European Union. In Proc. 14th IPVS Congress, Bologna, Italy July 7-10, 1996.

Animal species : Suidae.

Key words : Brucellosis - Brucella suis Biotype 2.

Summary : The conventional brucellosis serological results in wild boars are consistent with reports assessing the low intrinsic values of the SAW, RB and CFT in suids. In the US, interpreting combinations of these conventional tests on a herd or population basis is satisfactory to detect brucellosis, but not to eliminate brucellosis in a herd on a test-and-slaughter program (2). Porcine brucellosis has been eradicated in almost every member State of the EU. However, sporadic outbreaks might occur, as reported in Denmark in 1994, twenty-five years after the last porcine brucellosis diagnosis. In the EU context, where eradication has been completed, epidemiosurveillance is meant to prevent the risks of (re)introduction of brucellosis in an officially free area or country. Nowadays, the best serological guaranty at the individual level, e.g. trade of young pigs four to six months old, is given by the ELISA. The existence of a wild boar reservoir of B. suis biotype 2, in the absence of gross lesions or reports of losses due to a significant rate of abortion, reinforces the need of a wildlife epidemiosurveillance (3). Cultural studies on faecal and oropharyngal swabs after positive serological results should always take place. At that time, blood samples should also be taken. Even if cultures are inconclusive, a decrease in antibody titres, as evidenced by the ELISA results, should be interpreted as not being indicative of brucellosis.

157. GODFROID (J.), WELLEMANS (G.), VANOPDENBOSCH (E.), LETESSON (J.-J.). Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) diagnosis based on an In Vitro Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) Antigen-Specific IFN-γ Production. In: M. Schwyzer and M. Ackermann (Editors), Proc. 3rd Congress Europ. Soc. Vet. Virol., 1995, 159-163.

Animal species : Bovidae

Key words : BHV1 - CMI - IFN gamma.

Summary : With the currently available serological tests performed on young bulls in selection centres, it is impossible to discriminate animals bearing antibodies raised against a bovine herpes virus-1 (BHV-1) infection from animals bearing passively aquired antibodies still present in the blood months after colostral uptake.
A practical cost-effective in vitro assesment of the specific cellular immunity should overcome the problem of the serological diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) without having the inherent limitations linked to the in vivo nature of the delayed hypersensitivity test. The availability of a commercial IFN-γ test (Mycobacterium tuberculosis IFN-γ test kit® Idexx) developed in Australia (Rothel et al.,1990) in the context of the diagnosis of bovine tuberculosis, allowed indicator of a positive response to BHV-1 antigen.
Our studies using a partially purified BHV-1 antigen suggest that the BHV-1 IFN-γ test classifies correctly non-infected and infected animals and discriminates serologically positive infected bulls from those that only bear maternal antibodies, according to the decreasing level of the later ones during one year of serological follow-up. Preliminary results suggest that IBR-free animals vaccinated with a killed vaccine may become

classified negative in the BHV-1 IFN-γ test, 4 weeks after the second injection of the vaccine, while bearing significant antibody titers. Under experimental conditions, two of these animals challenged with a wild type virus showed an anamnestic response in the BHV-1 IFN-γ test, 4 days after challenge.
Altogether, these results suggest that the BHV-1 IFN-γ test might be an alternative to the delayed hypersensitivity test and is a potential powerfull diagnostic tool for IBR.

158. GODFROID (J.). Epidémiosurveillance des brucelloses animales en Belgique. In : B. Garin and B. Dufour (Editors). Actes du Colloque "Acquis de la recherche sur les réactions sérologiques non spécifiques en brucellose" CNEVA, Maisons-Alfort, France 1995, 63-71.

Animal species : Bovine, Porcine.

Key words : Brucellosis - False positive serological reactions

Résumé : Tout résultat sérologique doit être interprété: la valeur prédictive (positive ou négative) du résultat est fonction des paramètres intrinsèques des tests utilisés, mais aussi de la situation épidémiologique, qui est par définition évolutive. Le rôle du laboratoire est de fournir un résultat sérologique fiable, lequel devra être interprété par le responsable sanitaire en vue de l'établissement du diagnostic et de la prise de décision. La stratégie du dépistage est elle aussi évolutive en fonction de la situation épidémiologique. Dans le cadre des programmes nationaux d'éradication de la brucellose bovine à *B. abortus*, la validité de la stratégie actuelle de dépistage (mise en place lorsque la prévalence de la brucellose était importante) dans la maîtrise des risques sanitaires doit être réévaluée. Les sangliers et les lièvres sont particulièrement nombreux dans certaines régions d'Europe. En France des infections par *B. suis* biotype 2 ont été rapportées dernièrement chez ces deux espèces (Guarin-Bastuji, Manson, communications personnelles). Dès lors, un contact direct ou indirect entre ces animaux et des bovins pourrait être à l'origine d'une infection de ceux-ci. Bien qu'aucun isolement de *B. suis* biotype 2 n'ait été décrit chez le bovin, nos résultats suggèrent qu'au sein de l'Union Européenne, dans le cadre des programmes nationaux d'éradication de la brucellose bovine à *B. abortus*, l'implication éventuelle de *B. suis* biotype 2 à côté de Yersinia enterocolitica 0:9 dans l'apparition de réactions sérologiques "faussement" positives doit être envisagée. Les tests sérologiques ne fournissent qu'une image très incomplète d'une infection, qu'elle soit due à *B. abortus*, *B. suis* biotype 2 et/ou *Y. enterocolitica* O:9. L'utilisation de tests de mesure de l'immunité à médiation cellulaire réalisés in vivo (épreuve allergique cutanée) ou in vitro (test interféron gamma) doit être encouragée, après validation de ces techniques dans des conditions expérimentales et de terrain contrôlées.

159. GOUX (S.), WOOD (M.), PUSSEMIER (L.). Simulation of atrazine leaching using the PESTLA model: sensitivity under realistic Belgian conditions. Abstracts of Cost 66 meeting "Pesticides in soil and the Environment", Stratford-upon-Avon, 13-15 May 1996, 246-246.

Key words : Atrazine, PESTLA model, sensitivity analysis, Belgium.

Summary : This paper shows the main results obtained with a study carried out with the University of Reading and dealing with the mathematical simulation of pesticide behaviour in soil. Therefore, physico-chemical and pedo-climatic data were gathered in order to be able to run the PESTLA programme (Pesticide Leaching and Accumulation) under relevant

pedo-climatic conditions. A sensitivity analysis has been carried out under such conditions and it appeared that special care has to be paid to the choice of some input parameters such as Koc and DT50.

160. HOENIG (M.) Fast electrothermal programs and slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. Proceedings of "XXXI Microelements", Czech Chemical Society, Prague, 1997, pp.

Key words : Electrothermal AAS, fast programs, slurry sampling.

Summary : The review shows the usefulness of these two approaches in routine ET-AAS analysis of environmental samples.

161. KERKHOFS (P.), ADAM (E.), DROOGMANS (L.), PORTETELLE (D.), MAMMERICKX (M.), BURNY (A.), KETTMANN (R.), WILLEMS (L.). Retroviruses - 21-26 mai 1996 - Cold Spring Harbor, New-York, pp.234,
Cellular pathways involved in the ex vivo expression of bovine leukemia virus.

Animal species : Bovine

Key words : Bovine leukemia virus, signal transduction, B. Lymphrocyte

Summary : Bovine Leukemia Virus (BLV) is the etiological agent for enzootic bovine leukosis. The virus adopts a strategy based on the lack of viral expression in vivo: only very rare BLV infected B lymphocytes do express viral information. When the cells are isolated from animals in persistent lymphocytosis and cultivated ex vivo, a tremendous increase in viral expression occurs. In order to gain insight this mechanism, we first used a general approach using chemicals that interfere specifically with cellular pathways involved in signal transduction from the cell membrane to the nucleus.
Our data demonstrate that BLV expression is not correlated to the activity of PKA and is even inhibited by cAMP. The cAMP/PKA pathway is thus apparently not involved in ex vivo viral expression. In contrast, the protein kinase C appears to play a key role in this process, since a highly specific inhibitor (calphostin C) decreases viral protein synthesis. However, highly specific inhibition of PKC only partly decreases ex vivo BLV expression. Our data further demonstrate that Ca^{2+}/calmodulin plays a key role in the induction of viral expression. Viral expression is strongly decreased by cyclosporin A, an inhibitor of the phosphatase 2B (calcineurin). The involvement of this Ca^{2+}/calmodulin dependent pathway could explain the induction of expression that cannot be assigned to the PKC.
Efficient transcription and replication of the BLV genome require both the viral LTR and the virus-coded transcriptional activator Tax, which functions through a 21-base pair sequence (Tax-responsive element or TxRE) which is repeated three times within the LTR. Using an UV-induced indirect labelling technique (UV crosslinking) in conjunction with mobility shift assays and immunoprecipitations, we demonstrate the presence of the CREB, ATF-1 and ATF-2 proteins within a major complex indentified in freshly isolated BLV-infected lymphocytes from cattle in persistent lymphocytosis. CREB, ATF-1 and ATF-2 thus appear to be the major transcription factors involved in the early stages of viral expression (Adam et al., J. Virol., in press). In transient cotransfection experiments, these three transcription factors were able to activate LTR-directed gene expression in the

presence the protein kinase A or Ca^{2+}/calmodulin dependent kinase IV. In contrast, the Ca^{2+}/calmodulin dependent kinase II inhibits LTR-directed gene expression. Taking all these data together, we propose a general model for the induction of BLV expression in ex vivo B lymphocyte cultures and enlighten major differences between in vitro and ex vivo observations.

162. KOENEN (F.), VANDERHALLEN (H.), CASTRYCK (F.), MIRY (C.), FOCKEDEY (M.). Epidemiologic, pathogenic and molecular characteristics of the first EMCV outbreak in fattening pigs in Belgium. Proceedings of the 14th IPVS congress, Bologna, Italië, 1996, p. 96.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV, Belgium, epidemiology, pathology, molecular characterisation.

Summary : In Belgium EMCV was since 1991 frequently isolated in association with reproductive failure without evidence of sudden death. The post mortem lesions and histological analysis did not reveal any typical EMCV lesions as described by Acland and Littlejohns. Recently EMCV was isolated for the first time, in Belgium, from fattening pigs. A difference between both isolates was demonstrated. In this study we demonstrated that an EMCV isolate causing severe lesions and death in piglets and fattening pigs is not able to produce reproductive failure.
The preliminary results of molecular characterization revealed already a difference between both isolates. As molecular marker the 1D gene of the EMCV genome was used. A correlation between the genetic make-up of this gene and the pathogenic characteristics of respective EMC viruses was demonstrated. Further experiments will establish the significance of these differences. These findings indicate that for a better understanding of EMCV pathogenicity and epidemiology the molecular characterisation of the isolated strain is essential.

163. KOENEN (F.), VANDERHALLEN (H.). Comparative study of the pathogenic properties of recent EMCV isolates for sows in gestation. Proceedings of the Xth ICV, Jerusalem, Israël, 1996, p. 110.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV, pigs, Belgium. Greece, pathogenicity.

164. KOENEN (F.), VANDERHALLEN (H.), CASTRYCK (F.), MIRY (C.). Epidemiologic and molecular characteristics of recent EMCV outbreaks in Belgium. Proceedings of the 4th International Congress of Veterinary Virology, Edinburgh, Scotland, 24-27 August 1997, p. 22.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV, Belgium, epidemiology, molcelar characterisation.

Summary : The encephalomyocarditis virus (EMCV) is a pathogen in pigs associated with reproductive failure in sows and sudden death in pigs. In Belgium EMCV was since 1991

frequently isolated in association with reproductive failure without evidence of sudden death. In 1995 EMCV was isolated from fattening pigs. From August 1995 till December 1996 EMCV was confirmed in 141 pig farms. In 69 % EMCV was isolated in relation to reproductive failure. A serological ad random survey in sows proved 97 % of the farms to be negative for EMCV antibodies. It was remarkable that the disease in most farms was restricted to one age category. The clinical symptoms were often limited to one pig house for fattening pigs or 5 sows. A serological survey in the affected fattening herds demonstrated a high seroprevalence in the infected pig house, in the neighbouring pig houses the seroprevalence remained low. In an experimental infection the EMCV isolated in relation to reproductive failure did not cause clinical lesions in fattening pigs. The EMCV isolated in fattening pigs gave no rise to reproductive failure.
After an experimental infection the contact piglets did not die but pig to pig transmission was demonstrated by virus isolation and seroconversion in these piglets. In some of the affected farms EMCV was isolated from rats and rat faeces. But taking into consideration that in some of the affected herds the rat population was very low and that the disease was often limited to some pens, no virus transmission by rodents was evident. By molecular characterisation of the 1D- and 3D gene the recent isolates could be distinguished from former Belgian EMCV isolates.
EMCV provides an ideal naturally occurring model to study an emerging disease.

165. LAMBRECHT (B.)., MEULEMANS (G.), VAN DEN BERG (T.) : *In vitro* measurement of cell-mediated immunity in the chicken. Proceedings of the First International Virtual Conference on Infectious Diseases of Animals, hosted by the National Animal Disease Center, Ames, IA, USA.

Animal species : Avian

Key words : CMI, IFN γ, recombinant

Summary : The cytokine research in the chicken has not yet been as well studied as it is in mammals. The development of a CMI specific cytokine dosage kit (especially IFN-γ) would be important for the diagnosis and the understanding of the pathogenesis of numerous avian diseases.
We have developed a bioassay for chIFN-γ which measures the concentration of NO generated by a chicken macrophage cell line (HD11) stimulated with supernatant of activated chicken spleen cell containing IFN-γ activity. This test could be used for the measurement of specific CMI after infection. To improve the specificity and the sensibility of such a CMI measurement, we are developping a capture Elisa test for IFN-γ produced after a *in vitro* stimulation of chicken lymphocytes with a specific antigen. Therefore, the chicken IFN-γ gene (chIFN-γ) has been amplified from mitogen-stimulated chicken spleen cells by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) using specific primers based on the sequence of the recently cloned chIFN-γ. The sequence of this cDNA was shown to be completely conserved with that of the published IFN-γ sequences. The PCR product was cloned in prokaryotic and baculovirus expression vectors to produce a biologically active r-chIFN-γ from *E.Coli* and eucaryotic cells, respectively. We also introduced chIFN-γ gene in the pCI expression vector for genetic immunization of mice in order to obtain specific antibodies. The supernatant from COS 7 cells transfected with the IFN-γ plasmid showed high levels of nitrite-induced activity. Consistent with mammalian IFN-γ, this nitrite-inducing activity was found to be heat labile.

166. LAMBRECHT (B.), MEULEMANS (G.),VAN DEN BERG (T.). Development of an *in vitro* test for the measurment of cell-mediated immunity in the chicken. Proceedings of the XIth International Congress of the World Veterinary poultry Association, Budapest, Hungary, 18-22 August 1997, pp. 163.

Animal species : Avian.

Key words : CMI, IFN-γ, recombinant.

Summary : Cytokines play a fundamental regulatory and signaling role in immunity. Particularly, interferon-γ (IFN-γ), a cytokine produced by stimulated T lymphocytes and Natural Killer cells is a critical regulator of humoral and cell-mediated immunity (CMI). The cytokine research in the chicken has not yet been as well studied as it is in mammals. The development of a CMI specific cytokine dosage kit (especially IFN-γ) would be important for the diagnosis and the understanding of the pathogenesis of numerous avian diseases. Therefore, we first determined optimum conditions for the activation of chicken spleen cells. Mitogens such as concanavalin A and calcium ionophore A23187 have been used. IFN-γ, in synergy with lipopolysaccharide (LPS), is known to be a strong stimulator of the secretion of nitric oxide (NO) by the macrophage. We have developed a bioassay for chIFN-γ which measures the concentration of NO generated by a chicken macrophage cell line (HD11) stimulated with supernatant of activated chicken spleen cell containing IFN-γ activity. This test could be used for the measurement of specific CMI after infection. To improve the specificity and the sensibility of such a CMI measurement, we are developping a capture Elisa test for IFN-γ produced after a *in vitro* stimulation of chicken lymphocytes with a specific antigen. Therefore, the chicken IFN-γ gene (chIFN-γ) has been amplified from mitogen-stimulated chicken spleen cells by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) using specific primers based on the sequence of the recently cloned chIFN-γ. The sequence of this cDNA was shown to be completely conserved with that of the published IFN-γ sequences. The PCR product was cloned in prokaryotic and baculovirus expression vectors to produce a biologically active r-chIFN-γ from *E.Coli* and eucaryotic cells, respectively. We also introduced chIFN-γ gene in the pCI expression vector for genetic immunization of mice in order to obtain specific antibodies. The expression of this construct has been checked by transfection of COS 7 cells. The supernatant from COS 7 cells transfected with the control plasmid had no IFN-γ activity, whereas supernatants from cells transfected with the IFN-γ plasmid showed high levels of nitrite-induced activity. Consistent with mammalian IFN-γ, this nitrite-inducing activity was found to be heat labile.

167. LEMAIRE (M.), BARANOWSKI (E.), SCHYNTS (F.), WEYNANTS F.), GODFROID (J.), WELLEMANS (G.), THIRY(E.). Consequences of neonatal infection with an attenued bovine herpesvirus 1 strain - 4th International Congress of Veterinary Virology - Edinburgh 24-27 August 1997, pp.142.

Animal species : Bovine

Key words : BHV1 - Maternal antibodies - IFN gamma.

Summary : It was shown previously that infection of maternally immunised calves with bovine herpesvirus 1 (BHV-1) virulent strain leads to latency and could produce seronegative, latently infected calves after the disappearance of passive antibodies. The

infection of neonatal calves with thermosensitive (ts) widely used vaccine strain of BHV-1 was investigated. Five seronegative and 7 maternally immunised calves were intranasally inoculated at 4 days of age. Seven control calves with colostral anti-BHV-1 antibodies were used. After inoculation, all calves of both groups excreted BHV-1. Seronegative calves seroconverted 2 to 4 weeksafter inoculation, while the BHV-1 antibody level of the 7 calves possessing colostral antibodies steadily decreased. Four of them became BHV-1 seronegative, like control calves, after an average period of 31 weeks and remained seronegative for 3 to 10 weeks. Six of these 7 calves experienced a spontaneous viral reactivation with seroconversion between 34 to 39 weeks after inoculation. One calf remained seronegative until experimental reactivation. At the end of the observation period, all calves were treated with dexamethasone. All inoculated calves reexcreted the ts virus strain. The results of BHV-1-specific IFN-γ test indicated a moderate stimulation of cellular immune response after inoculation and showed a significant stimulation after spontaneous or experimental reactivation. The results show that seronegative latent carriers can be produced after inoculation of maternally immunised calves with a ts BHV-1 strain. They therefore must be taken into account in any BHV-1 control program.

168. PAPADOPOULOS (O.), PASCHALERI-PAPADOPOULOU (E.), KOENEN (F.), VANDERHALLEN (H.). Epidemiology of swine EMCV. Proceedings of the Greek Veterinary Congress, Thessaloniki, Greece, November 1996, pp. 21.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV-Greece-pigs-epidemiology.

Summary : EMCV isolates from Greece, Cyprus and Belgium were characterised by sequencing 286 bp of the 3' end of the viral polymerase gene. Phylogenetic analysis of these sequences revealed two distinct clusters. One composed of all Greek isolates, causing sudden death in fattening pigs, and an EMCV isolated in 1991 in Belgium from the offspring of a sow with reproductive failure. All EMCV isolates from Cyprus collected in 1994, 1995 and 1996 and the first EMCV isolated in Belgium in association with myocardial failure in fattening pigs make up the second cluster.

169. PEETERS (J.E.). Importancia económica de las enfermedades en la cunicultura comercial. VII Jornada Técnica Internacional sobre Cunicultura. ExpoAviga 95, Jornadas técnicas y symposiums, pp. 392-397, Barcelona (Spain); Bol. Cunicultura 1995,**18** (6), p. 21.

Animal species : Rabbit.

Key words : Pathology, treatment.

Summary : Respiratory and intestinal diseases are the main causes of economical losses in commercial rabbits. In recent years treatment has become increasingly difficult. The main reasons are : few antibiotics are suitable for use in rabbits, antibioresistance is widely spread by the erroneous practice of some rabbit breeders and technicians to treat diseases without diagnosis, respiratory disease rather require a correct climate and intestinal disorders represent a complex disease. The paper discusses the treatment of the economically most important diseases : colibacillosis, iota-enterotoxemia, salmonellosis, pasteurelosis and stafylococcosis.

170. PEETERS (J.E.), McDONALD (V.). Biology, epidemiology and economical importance of cryptosporidiosis and cyclosporosis. Proc. COST 820 Workshop on vaccines against animal coccidioses. Praag (Czech Republik), 14-16 september 1995, p. 76-78.

Animal species : Bovine.

Key words : Cryptosporidiosis, pathology, epidemiology.

Summary : *C. parvum* is a protozoan parasite affecting a broad range of mammalian species. The paper gives an overview of the actual knowledge on the parasite and the research needs for the future.

171. PEETERS (J.E.), VILLACORTA (I.), DE GRAAF (D.C.). Immunoreactive *Cryptosporidium parvum* antigens in cell culture media from infected MDBK cells. Proc. 16th international conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Sun City (Zuid-Afrika), 10-15 augustus 1997, pp. 69.

Animal species : Bovine.

Key words : Cryptosporidiosis, parasitology, immunology, cell culture.

Summary : *Cryptosporidium parvum* causes diarrhoea in ruminants and has been identified as the second most common infectious agent in calf diarrhoea. Immunoblotting with faecal IgA and serum IgG of convalescent *C. parvum* infected animals showed several soluble immunoreactive antigens in extracts of purified oocysts. Monolayers of MDBK cells were grown in 24-well tissue culture plates at 1.5 x 10^5 cells per well in maintenance medium (8 % foetal calf serum [FCS], 2.2 mg $NaHCO_3$, 200 U penicillin, 40 U gentamycin and 0.25 µg amphotericin B per ml MEM) at 37 °C in a 5 % CO_2 / 95 % air humidified incubator and inoculated after 24 h with 5 x 10^6 sporozoites in 400 µl of growth medium (4 % FCS). Full development of *C. parvum* was monitored by phase-contrast and electron microscopy. SDS-PAGE was perfor-med on culture media concentrated on Centricon-10 (cut-off 10 kDa) after centrifugation at 200 *g* for 10 min. After Western blotting, the antigens were immunostained with specific anti-*C. parvum* faecal IgA and hyperimmune rabbit serum. The serum recognised a 31 kDa antigen in media from 24, 48 and 72 h infected cells, whereas faecal IgA recognised six antigens between 12 and 43 kDa. The culture medium also induced IFN-g production by sensitised peripheral blood lymphocytes. These data suggest that immunoreactive antigens may be produced in *C. parvum* cell culture medium.

172. PUSSEMIER (L.), VANDERHEYDEN (V.), GOUX (S.), DEBONGNIE (Ph.). Atrazine degradation in the subsurface environment - recent developments. Proceedings of the COST66 transformation subgroup meeting, 28-29 October 1996, Bled (Slovenia)

Key words: atrazine, subsurface, accelerated degradation

173. PUSSEMIER (L.). Critères d'ordre toxico-écologique pour l'acceptation de pesticides dans le cadre de la lutte intégrée en cultures maraîchères en Afrique. In: Développement et Application de la Lutte Intégrée en Production Maraîchère en Afrique: Comptes rendus d'un atelier régional FAO. Edité par la FAO - Bureau Régional pour l'Afrique, Accra, Ghana, 1996, (285p.)

Key words: Ecotoxicologie, lutte intégrée, maraîchage, Afrique

174. SAEGERMAN (C.), LIMET (J.N.), VO (T-K.O.), DE WAELE (L.) , GILSON (D.), BASTIN (A.), DUBRAY (G.) , GODFROID (J.), LETESSON (J-J.). VIII Symposium International d'Epidémiologie et d'Economie Vétérinaire, 1997, Bovine brucellosis diagnosis by skin test: line up of use conditions and evaluation of performances.Paris, 8-11 juillet, 1997.

Animal species : Bovine

Key words : Brucellosis - CMI - Skin Test

Résumé : Les conditions d'utilisation du test cutané avec le Brucellergène (Rhône-Mérieux, Lyon - France) ont été mises au point et ses performances évaluées. La dose de 140 µg et le délai de lecture de 72 H sont optimaux pour révéler l'infection. Le seuil de positivité du test a été déterminé par injection d'eau physiologique stérile et par comparaison de l'épaississement cutané d'animaux officiellement indemnes de brucellose et infectés naturellement. Ce seuil est de 1 mm. Quelques réactions, limitées au point d'injection, ont été observées lors d'infections expérimentales par *S. urbana*, *E. coli* O:157 et P. *maltophilia*. Elles peuvent être minimisées en utilisant un seuil de 1.1 mm. Dans ces conditions, la spécificité calculée à partir de 1195 bovins est de 99.83 %. La sensibilité, calculée à partir de 27 bovins infectés expérimentalement varie de 89 à 74%. Dans l'étude, le test cutané s'est montré très spécifique, a apporté des informations cruciales dans le cas des réactions sérologiques faussement positives et s'est révélé complémentaire aux tests sérologiques (même ELISA), spécialement quand l'infection est latente ou chronique.

175. SAEGERMAN (C.) , THIANGE (P.), LIMBOURG (B.), CONOTTE (G.), PETIT (N.), THIRY (G.), BOTTON (Y.), PELZER (P.) , MULLIER (P.), GODFROID (J.) , DUFEY (J.). Etude épidémiologique descriptive et identification de facteurs de risque des réactions sérologiques faussement positives en brucellose bovine dans le sud de la province de Namur (Belgique). VIII Symposium International d'Epidémiologie et d'Economie Vétérinaire, Paris, 8-11 juillet, 1997.

Animal species : Bovine

Key words : Brucellosis - False positive serological reactions.

Summary : In November 1990, an unusual high number of positive serological results (SAW and/or CFT) were observed in bovines during the brucellosis screening campaign in the 18th. Veterinary District. In the absence of any epidemiological evidence of bovine, ovine or porcine brucellosis in the area, these reactions were named "False Positive Serological Reactions" (FPSR). Two classes of FPSR were described, according to the outcome of the SAW-DTT: Class I (SAW-DTT negative, absence of detectable IgG) and Class II (SAW-DTT positive, presence of detectable IgG). This phenomenon was a constrain to trade and put also question marks on the validity of the testing methods of the brucellosis eradication program. A descriptive epidemiological study was performed based on data collected from November 1, 1990 until October 31, 1996. This phenomenon was characterised by a preferential localisation on the west bank of the Meuse river during the first campaigns (class II), an increasing prevalence rate, both at the herd and individual level during the three initial campaigns followed by a decreasing prevalence rate (class II). The number of animals per herd concerned was rarely more than one (class I) or two (class II). The time needed for an animal to be classified negative again was short (class I and class II). Three risk factors have been identified: herd size (class I and class II ; $p<0.001$), age (class II ; $p<0.001$) and screening season (class I and class II ; $p<0.001$). The

percentage of herds where *Yersinia enterocolitica* O:9 has been isolated was decreasing during the six campaigns (class II). In 1994, the wild boars population was sampled in the same area. Positive brucellosis iELISA serological results were observed and *Brucella suis* biotype 2 was isolated. The implication of Brucella suis biotype 2 besides *Yersinia enterocolitica* O:9 as a cause of false positive serological reactions needs further investigations.

176. VAN DEN BERG (T.P.)., MORALES (D.), MEULEMANS (G.). Use of a baculovirus expressed sub-unit VP2 protein for diagnosis and control of Infectious Bursal Disease. Proceedings of the XIth International Congress of the World Veterinary Poultry Association Budapest, Hungary, 18-22 August 1997, pp. 57.

Animal species : Avian.

Key words : IBDV, Baculovirus, Serology.

Summary : Although serology is often of rather limited value for the diagnosis of Infectious Bursal Disease (IBD), measurement of the humoral immunity is essential to monitor in the field, to check the quality of vaccination and to evaluate the immune status of the flock, particularly during the decline of maternally derived antibody (MDA) in order to determine the optimal age of vaccination. In practice, the most widely used assay is the Agar Gel ImmunoDiffusion (AGID) test but it is poorly sensitive, particularly for the measurement of MDA and, moreoften, it necessitates the use of bursa-derived antigen. The seroneutralisation (SN) test is the more sensitive and the only one which is correlated with protection but it is time-consuming and CEF cultures are not available in every laboratory. The Elisa test offer the best sensitivity, specificity and practicability for large scale use but its correlation with neutralisation and protection is more difficult to determine.
Neutralising antibodies have been shown to bind to the VP2 protein and we had previously shown that an excellent protection against an hypervirulent challenge could be induced by the injection of a baculovirus expressed VP2 immunogen alone. Here we describe the potential of this recombinant VP2 antigen for use in a capture Elisa and in an AGID test for the measurement of the IBD immunity.
A monoclonal antibody-based capture Elisa test has been developped in our laboratory. This sub-unit test was performed on numerous sera from various sources and compared with classical Elisa (whole virus) and seroneutralisation. This Elisa based on VP2 alone proved to be as sensitive as the bneutralisation test. This test was then calibrated to be used as a single well test for screening purposes. The main advantages of this test are that it can be widely used for monitoring and that it could advantageously replace the SN test, even for the evaluation of MDA levels. The methodology and the potential of this approach are discussed in the presentation. The recombinant VP2 antigen was also evaluated in the AGID test. This sub-unit antigen proved to be more specific and sensitive than the bursa-derived one. Indeed, a strong precipitation line was observed for neutralisation titres as low as 1/50 from 12 hours after reaction (instead of 2 days for the classical AGID test). On the other hand and in contrast with the VP2 Elisa test, the VP2 recombinant AGID test proved to be poorly sensitive for the measurement of passively transmitted immunity, confirming the low concentration in precipitins of MDA. The advantages of this test are that it is fast, cheap, sensitive and simple to handle, allowing its use by laboratories with few facilities for diagnosis.

177. VANDERHALLEN (H.), KOENEN (F.). RT-PCR for the detection of CSFV in clinical samples in reference to standard diagnostic methods. Proceedings of the 14th IPVS congress, Bologna, Italië, 1996, p. 95.

Animal species : Pig.

Key words : CSFV-pigs-diagnosis-RT-PCR.

Summary : The sensitivity of RT-PCR when performed on serum is intermediate between the sensitivity of VI and Ag-ELISA. Though Ag-ELISA allows automation, RT-PCR is more sensitive and specific. In relation to VI, RT-PCR detects CSFV one and a half day later in serum. On the other hand VI takes more time to perform and needs confirmation by monoclonal antibodies. Virus isolation also requires appropriate cells, sterile equipment and the facilities to manipulate virulent CSFV. Taking into account the time factor, our results indicate that RT-PCR gives the quickest indication of CSFV in serum. In addition the proposed RT-PCR allows discrimination of a CSFV infection from a bovine viral diarrhoea virus (BVDV) or a border disease virus (BDV) infection because the designed primers target a specific region on the viral genome.The sensitivity of the applied RT-PCR is sufficient to detect CSFV RNA in the meat of pigs that died during viraemia. Interestingly, CSFV was also detected in meat of a pig that died 34 days after viraemia when virus isolation was negative for the shoulder and the ham. It is conceivable to develop a RT-PCR based assay to test fresh meat for the presence of CSFV. Such an assay would greatly reduce the costs due to market regulation in case of an outbreak. For the most recent epidemics in Belgium, in 1993 and 1994, this cost amounted to 50% of the total cost of the operations.

178. VANDERHALLEN (H.), KOENEN (F.). RT-PCR for the detection of CSFV in serum samples and meat in reference to standard diagnostic methods. Proceedings of the annual meeting of EU NSFL, Alghero, Italië, 1996, p. 34-37.

Animal species : Pig.

Key words : CSFV-pigs-diagnosis-RT-PCR.

179. VANDERHALLEN (H.), KOENEN (F.). Molecular characterisation of CSFV isolates collected in Belgium since 1988. Proceedings of the annual meeting of EU NSFL, Wenen, Oostenrijk, 1997.

Animal species : Pig.

Key Words : CSFV, molecular characterisation, Belgium.

Summary : In contrast to isolates from the 1993-1994 epizootic, which are molecular identical in the examined regions (E2 and NS5B gene), isolates from the 1990 epizootic show some molecular variability in the 3' end of the NS5B gene. In 1993-1994 Belgium supplemented the stringent sanitary policy as imposed by directive 80/217/EEC with pre-emptive slaughtering. During the 1990 epizootic pre-emptive slaughtering was only started at the end of the epizootic. The approach adopted in 1993-1994 limited the unnoticed circulation of virus, possibly allowing mutations to occur, by systematically eliminating all animals in direct danger of infection or already subclinically infected. The presented results

indicate that the sanitary policies imposed during a series of CSFV outbreaks can influence the epidemiology of CSFV.

180. VANDERHALLEN (H.), KOENEN (F.). Development and validation of a RT-PCR assay for the diagnosis of EMCV infections in pigs. Proceedings of the Xth ICV, Jerusalem, Israël, 1996, p. 219.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV, diagnosis, RT-PCR.

181. VANDERHALLEN H., KOENEN F. Identification of EMCV in clinical samples by RT-PCR followed by genetic typing using sequence analysis. Proceedings of the 4th International Congress of Veterinary Virology, Edinburgh, Scotland, 24-27 August 1997, p. 201.

Animal species : Pig.

Key words : EMCV, diagnosis, RT-PCR, sequencing.

Summary : A reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), using primers located in the 3' region of the 3D gene of the viral genome, was developed to detect EMCV specific viral RNA in heart tissues. This procedure was assessed on 60 EMCV positive clinical samples collected from pigs in Belgium, Greece and Cyprus and on 43 heart tissues which proved to be EMCV negative in virus isolation. The sensitivity and specificity were calculated to be 95% and 100%, respectively. The described method can be used for the diagnosis of an EMCV infection in pigs. By direct sequencing of the amplified fragments and subsequent computer analysis of the data, the EMC viruses could be clustered in two distinct groups. Group I includes all isolates from Greece and ancient isolates from Belgium. All Cypriotic isolates and the recent Belgian isolates cluster in group II. Linking these molecular data with epidemiologic and pathogenic observations might lead to a better insight in the infection.

182. WALRAVENS (K.), GODFROID (J.), BOELAERT (F.), DESMECHT (M.), DROWART (A.), WEYNANTS (V.), LETESSON (J.J.), HUYGEN (K.). Cellular and Humoral Immune Responses Against Tuberculin and Various Purified Mycobacterial Antigens in *M. bovis* Infected Cattle. Poster présenté au 97th ASM meeting. Miami (USA), 4-8 mai 1997.

Animal species : Bovine.

Key words : Bovine tuberculosis, mycobacterial antigens, cellular immune responses.

Summary : Three skin test negative 12-15 month old Holstein bulls were infected by the intratracheal route with a field strain of *M. bovis* . Two skin test negative bulls were introduced in close contact with the infected animals, one week after inoculation. Blood samples were regularly collected during 3 months for serological testing, *in vitro* IFN-γ production (IDEXX® and home made ELISA) and lymphocyte proliferation assay with bovine PPD, avian PPD, A60 antigen and Ag85 complex. P64 antigen, MAIS and BCG culture cell filtrates were also tested in lymphocyte proliferation assay. One month

postinfection, two of the three infected animals developed specific *in vitro* IFN-γ production and lymphocyte proliferation against the tested antigens. The ratio of the responses to bovine PPD versus avian PPD indicated specific sensitization for *M. bovis* antigens. Three months after infection, these two animals were skin test positive and typical tuberculous lesions were observed at necropsy. *In vitro* depletion of the CD4+ T cells resulted in abrogation of the specific IFN-γ production. Specific humoral response and aerogen mycobacterial excretion were not detected during the course of the experiment. The third infected animal and one contact animal prsented transient IFN-γ and lymphocyte proliferation responses to mycobacterial antigens. The other contact animal showed specific sensitization to *M. bovis* antigens in IFN-γ and lymphocyte proliferation assays. These last three animals were skin test and bacteriologically negative for *M. bovis*.

Tabel 1. Publicaties van het CODA geordend volgens auteurs behorend tot het wetenschappelijk personeel.

Table 1. Publications du CERVA classées en fonction des auteurs appartenant au personnel scientifique.

BEERNAERTS (S) : 87, 133
BOELAERT (F.) : 134, 138, 152, 153, 154, 155, 156, 182
CALLEBAUT (A.) : 6, 7, 11, 13, 14, 102
CALLENS (M.) : 7a, 15a, 135, 136, 142
CHARLIER (G.) : 2, 24, 25, 34, 48, 94, 95, 103, 117, 118, 123
CLAVAREAU (C.) : 138, 153, 183
CLEENWERCK (I.) : 78, 139, 140
DEBONGNIE (P.) : 85, 86, 88, 107, 141, 172
DEBECQ (J.) : 15
DECLEIRE (M.) : 6, 7, 11, 12, 13, 14, 53, 116
De CLERCQ (K.) : 7a, 15, 15a, 29, 112, 113, 135, 136, 142, 143, 144, 145, 146
De COOMAN (P.) : 18, 69, 96
De FILETTE (M.) : 76, 77, 80, 81, 82, 83, 147, 148
De GRAAF (D.) : 19, 20, 21, 39, 123, 149, 150, 171
D'HOOGHE (I.) : 27, 28, 83
DESMECHT (M.) : 5, 152, 154, 182
De TEMMERMAN (L.) : 3, 32, 108, 109
GIANGASPERO (M.) : 29, 30, 31
GODFROID (J.) : 33, 127, 128, 134, 138, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 167, 174, 175, 182
GOUX (S.) : 36, 85, 88, 159, 172
GUNS (M.) : 16, 18, 38, 124
HATSE (I.) : 18
HOENIG (M.) : 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 99, 100, 104, 160
IMBERECHTS (H.) : 46, 47, 48, 49, 50, 68, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 89, 148
KERKHOFS (P.) : 1, 26, 33, 52, 129, 130, 131, 161
KOENEN (F.) : 15, 55, 56, 57, 106, 137, 162, 163, 164, 168, 177, 178, 179, 180, 181
LAMBRECHT (B.) : 165, 166
LINTERMANS (P.) : 48
LONNEUX (J.-F.) : 4, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 122
MAMMERICKX (M.) : 1, 52, 130, 131, 161
MEULEMANS (G.) : 37, 105, 165, 166, 176
MOTTE (J.C.) : 11, 67, 168
NYSSEN (P.) : 69, 96
PEETERS (J.) : 21, 70, 71, 122, 123, 149, 150, 169, 170, 171
PIAZZA (V.) : 76, 82
POHL (P.) : 10, 34, 46, 47, 48, 49, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 94, 95, 139, 140, 147, 148
PUSSEMIER (L.) : 36, 51, 85, 86, 87, 88, 101, 107, 132, 133, 141, 159, 172, 173
ROELS (S.) : 17, 22, 23, 35, 90, 91, 92, 93, 111, 114, 115
SCOKART (P.) : 69, 96, 97
van den BERG (T.) : 105, 165, 166, 176
VANDERHALLEN (H.) : 56, 57, 106, 162, 163, 164, 168, 177, 178, 179, 180, 181
VANDERHEYDEN (V.) : 51, 88, 107, 132, 141, 172

VANDERMEIREN (K.) : 3, 108, 109
VANGRYSPERRE (W.) : 112, 113, 135
VANHOUTVIN (S.) : 151
VAN HUYNH (N.) : 11, 12, 13, 14, 53, 54, 116
VANOPDENBOSCH (E.) : 29, 30, 31, 119, 157
VAN VLAENDEREN (I.) : 8, 9, 72, 110, 120
VILLACORTA (I.) : 71, 123, 171
WALRAVENS (K.) : 66, 84, 98, 125, 126, 134, 138, 152, 153, 154, 182
WELLEMANS (G.) : 33, 157, 167
WELLEMANS (V.) : 138, 153

Tabel 2. Publicaties van het CODA geordend volgens sleutelwoorden

Table 2. Publications du CERVA classées en fonction des mots-clés

Accelerated degradation	:	85, 86, 88, 101, 107, 172
Acylated anthocyanins	:	6, 7
Adenovirus	:	8, 25, 30, 31
Adherence inhibition	:	46
Adhesins	:	74, 139
Ajuga reptans	:	6, 7, 102
Alginate beads	:	85
Ammonia	:	103
Antibiotics	:	94, 95, 111, 169
Antigenicity	:	57, 105, 125
Antigenic relationship	:	89
Apoptosis	:	26
Arginine deiminase pathway	:	28
Arteriosclerotic	:	91
ATF (1,2) Transcription factors	:	1
Atomic spectroscopy	:	40, 43
Atrazine	:	36, 88, 107, 132, 159, 172
Attaching - effacing *E.coli* (AEEC)	:	139, 140
Attachment	:	10, 46, 84, 94, 95, 126, 139, 140
Bacteria	:	23, 24, 25, 46, 94, 116, 121, 139, 140
Baculovirus	:	79,127, 176
Bassins hydrographiques	:	98, 125, 126, 165, 166
Belgian continental shelf	:	38, 124
β-galactosidase	:	11
BGM cells	:	117, 118
Biodegradation	:	36, 51
Biofongicide	:	53
Bluetongue	:	29
Bovine brucellosis	:	127, 128, 154, 174
Bovine herpes virus	:	30, 33, 119, 157, 167
Bovine leukemia virus	:	1, 26, 52, 129, 130, 131, 161
Bovine tuberculosis	:	152, 154, 157, 182
Bovine viral diarrhoea	:	30, 112, 113, 135, 177
Brucella	:	128, 134, 138, 153, 154, 155, 156, 175
Brucella suis biotype 2	:	156, 175
Cadmium	:	16, 124
Cage birds	:	83
Caprine herpes virus	:	29
Carbofuran	:	85, 86
Casein	:	11, 12
Catabolic ornithine	:	28
cDNA clone	:	19
Cell culture	:	6, 26, 102, 112, 118, 123, 171

Cell culture anthocyanins : 102
Cell-mediated immunity : 33, 165, 166
Cellular immune responses : 98, 182
Cerebral Embolism and Thrombosis : 110
Chemical elements : 32
Chitin, Chitinase : 12, 13, 14, 53, 54, 116,
Chlamydia psittaci : 117, 118
Chorioptes bovis : 61
Cinétique des anticorps : 64
Classical swine fever virus (CSFV) : 55, 177, 178, 179
Closed chambers : 108, 109
CNF producing *E.coli* : 74, 79
Coccidia : 21, 123, 149, 150
Colibacillosis : 10, 75, 78, 79, 95, 169
Colour dilution alopecia : 2
Columba livia : 24
Computed tomography : 115
Congenital hyperostosis : 91
Copper : 16, 38, 124
Corticoids : 114
Cross-adaptation : 86
Cryptosporidium : 21, 71, 123, 149, 150, 171
Cultivar differences : 108
Cyanidin glycosides : 7
Cytopathogenicity : 118
Dachshund : 2
Damalinia bovis : 61
Degradation : 36, 51, 85, 86, 88, 101,107,132, 172
Delphinidin : 6, 7, 102
Developmental stage : 108
Diagnostic tests : 128, 145
Diarrhea : 30, 34, 46, 47, 68, 74, 79, 89, 112, 171
Doramectine : 65, 122
Drug resistance : 73, 82
Eaux souterraines : 133
Ecotoxicologie : 174
Edema disease : 46, 47, 48, 68, 89
Electron microscopy : 2, 25, 48, 68, 89, 94, 103, 117, 118, 123, 139, 171,
Electrothermal AAS : 41, 110, 160
ELISA : 29, 46, 58, 62, 63, 64, 72, 105, 128, 134, 136, 146, 149, 156, 165, 166, 174, 175, 176, 177, 182
Embryo (in vitro) : 9, 119
EN 45001 : 143
Encephalomyocarditis virus (EMCV) : 56, 57, 106, 112, 135, 137, 162, 164, 168, 180, 181
Environmental samples : 41, 45, 160
Epidemiology : 5, 55, 60, 73, 77, 78, 79, 81, 148, 152, 162, 164, 168, 169, 170, 179
Eradication programme : 4
Escherichia coli : 10, 34, 46, 47, 48, 68, 74, 75, 78, 79, 89, 95, 139, 140, 165, 166
Ethylene diurea (EDU) : 108

Excretory-secretory antigen : 19, 39
Experimental infection : 21, 26, 46, 127, 137, 164
False positives : 128, 134, 144, 158, 175
Farming systems : 97
Fast programs : 160
Feed additives : 121
Ferulic : 102
Fibrin Deposition : 72, 120
Fibrinolysis : 8, 72, 120
Fibrosarcoma : 111
Fimbriae : 46, 47, 48, 68, 89, 94, 95, 138
Fluorescence derivatization : 67, 168
Food colors : 7
Foot and mouth disease : 7a, 15, 15a, 29, 106, 112, 113, 135, 136, 142, 143,144, 145
Fox : 5
F-protein : 66, 84, 98, 125, 126
Fractional factorial design : 99
Function description : 70
Fungicide : 12, 14
Gale : 58, 60, 61, 62, 65
γ-interferon : 21, 33, 127, 134, 149, 150, 152, 154, 157, 166, 167,182
Gastric pars oesophagea : 22, 93
Globin : 20
Glycoproteins : 84, 94, 95, 125, 126
Goats : 30
Greece : 51, 56, 57, 132, 142, 163, 168, 181
Growth stage : 108, 109
Heavy metals : 16, 18, 38, 124
Hemochromatosis : 90
Hen egg yolk antibody purification : 46
Herbicides : 36, 141
HPLC : 67, 102, 168
Hydroxycinnamoyltransferase : 6
Hyperkeratotic : 93
Hypoderma bovis : 4, 59
Identification : 66, 71, 135, 145, 175, 181
Image analysis : 22, 90, 111
Immunological survey : 4
Immunology : 149, 150, 171
Immune respons : 15, 21, 60, 98, 126, 149, 167, 182
Infectious bursal disease (IBD) : 105, 176
Inorganic pollutants : 18
Insulinoma : 114
International accredited schemes : 145
International trade : 142, 143, 144, 145, 146
Intestine : 47, 48, 94, 120, 147
Iridium-magnesium modifier : 99
Isotype specific ELISA : 146
Ivermectine : 63, 65, 122

Juvenile nephropathy : 92
Keratin : 17, 93
Kluyveromyces : 11
Lamiaceae : 7, 102
Lead : 16, 38, 99, 124
Linognathus vituli : 61
Liver : 8, 25, 72, 90, 120, 138, 153
Lymphocyte respons : 15
Lysimeter : 97
Macrophages : 24
Main matrix elements : 45, 100
Maize : 88, 107, 132
Malonic acid : 102
Malonyltransferase : 6
Mammals : 6, 73, 76, 80, 81, 147, 148, 153, 165, 166
Marine mammals : 153
Mercury : 16, 38, 124
Mice model : 125
Mineralization : 40, 43, 44, 105
Minke whale : 138, 153
Minor subunits : 48
Models : 8, 151
Molecular biology : 10, 19, 20, 75
Molecular characterization : 162
Molecular epidemiology : 78, 79, 152
Molecular pathogenesis : 34
Monoclonal antibodies : 105
Moxidectine : 61, 63
Mycobacterial antigens : 182
Mycobacterium bovis : 152, 154
Nasal : 98, 103, 126, 142, 167
Nebulizer : 45
Necrotising encephalitis : 115
Needle part : 32
Nematode : 19, 20, 39, 122
Nitrate leaching : 97
Nitrogen : 27, 28, 69, 97
Nutrient losses : 69, 96
Nutrients : 32, 36, 96
OIE guidelines : 143
ORF : 29
Ostrich : 83
Ozone : 3, 108, 109
Parainfluenza : 30, 31
Parasitology : 4, 19, 20, 21, 39, 58, 61, 63, 149, 150, 172
Pathology : 57, 75, 92, 137, 162, 169, 170
P-coumaric : 102
Peptide : 11, 20
Performance : 41, 67, 86, 99, 121, 168, 174
Peripheral polyneuropathy : 114
Pesticide : 36, 51, 85, 87, 101, 132, 133, 159, 173

PESTLA model : 159
Phaseolus vulgaris : 108, 109
Phenolic compounds : 67, 168
Phosphorus : 69, 96
Pigeon : 24, 25, 83
Pinus sylvestris : 3, 32
Plant samples : 40, 45
Plasminogen : 8, 72, 110, 120
Pod yield : 108, 109
Pollution : 18, 32, 87, 141
Polymerase chain reaction : 7a, 15a, 47, 79, 89, 105, 112, 113, 116, 130, 135, 136, 137, 138, 142, 147, 153, 165, 166, 177, 178, 180, 181
Postweaning diarrhea : 46, 47, 68, 89
Poultry : 49, 50, 73, 746, 77, 80, 81, 82, 105, 147, 148
Prediction model : 87
Prepuce : 111
Prevalence : 31, 35, 47, 77, 80, 164, 175
Proficiency testing : 143
Psoroptes ovis : 58, 60, 61, 62, 63, 64, 65
Quality assurance, assessment : 5, 18, 33, 143, 154
Rabies : 5
Reovirus : 31
Respiratory syncytial virus : 30, 31, 66, 84, 98, 125, 126
Rhizobium : 27, 28
Salmonella enteritidis : 49, 77, 80, 82, 83, 147, 148
Salmonella hadar : 49, 73, 76, 77, 147, 148
Salmonella typhimurium : 49, 77, 81, 147
Sample preparation : 43, 43
Sediments : 18, 38, 41, 100
Seed treatment: : 85
Senescence : 109
Sensitivity analysis : 159
Sequencing : 19, 105, 106, 112, 168, 181
Serology : 177
Serotyping : 49, 78, 135
Serratia : 12, 14, 53, 54, 116
Sheep : 1, 26, 29, 31, 129, 130, 131, 134, 136, 139, 142
Shellfish : 124
Shiga-like toxin : 68
Singleton reactor : 146
Skin test : 154, 174, 182
Slurry : 97, 99, 100, 160
Soil : 18, 32, 51, 85, 86, 87, 88, 96, 97, 101, 107, 108, 116, 151, 159
Sole : 16
Solid sampling : 44
Spray chambers : 45
SPS agreement : 143
Streptococcus bovis : 124
Stress : 106, 137, 144

Subsurface : 51, 107, 132, 172
Surface waters : 69, 96, 141
Syria : 29, 30, 31
Thermal rate : 151
Thrombosis : 8, 9, 72, 110, 120
Tin : 99
Tissue Remodeling : 120
Triticum aestivum : 151
Toxicity : 38, 103
Trachea : 103
Transmembrane protein : 130
Transverse heated atomizer : 41
Treatment : 3, 23, 60, 61, 62, 63, 64, 85, 86, 90, 108, 109, 111, 114, 121, 122, 169
Trees : 3
Triazine herbicides : 36, 107
Triacylated anthocyanins : 102
Typing of FMDV : 7a, 15a, 113
Ultrastructure : 2, 117
Urban area : 141
Vaccination : 5, 55, 105, 144, 155, 176
Variability : 69, 84, 97, 126, 179
Virulence factors : 74, 75, 79, 147
Visible injury : 32, 108, 109
Vitamin : 11, 123
VTEC : 10, 68, 78, 139
Water : 11, 18, 38, 67, 69, 87, 96, 97, 108, 141,168
Water soils : 18
Yersinia enterocolitica : 128,134,158,175
Zinc : 16, 38, 124
Zona pellucida : 119
Zootechnology : 121

Congressen, seminaries, stageperioden, lezingen

Congrès, séminaires, stages, conférences

Ir S. Beernaerts

20.03.96 : Visite technique chez Chemviron Carbon à Bruxelles dans le cadre du projet de recherche sur l'adsorbabilité des pesticides par les charbons actifs.

24.04.96 : Visite technique chez Norit et KIWA aux Pays-Bas dans le cadre du projet de recherche sur l'adsorbabilité des pesticides par les charbons actifs.

09-10.05.96 : Stage de formation sur la prévention des transferts dans les eaux de produits phytosanitaires, organisé à Paris par l'Association Nationale de Protection des Plantes (ANPP).

06.05.1997 : 49e Internationaal symposium over fytofarmacie en fytiatrie. Gent. Présentation d'une communication orale intitulée "Estimation of pesticide emissions to surface and groundwater in Belgium using the SEPTWA95 model".

21-23.05.97 : XXVII Congrès du Groupement Français des Pesticides organisé par le Bureau de Recherches Géologiques et Minières (Orléans). Présentation d'une communication par poster sur la contamination des eaux souterraines par les produits phytosanitaires.

24.05.1997 : Visite technique organisée par la Compagnie Intercommunale Bruxelloise de distribution d'Eau (CIBE) à l'usine de production d'eau potable de Tailfer.

Dr. F. Boelaert

06-08.09.95 : Laboratoriumtraining voor brucellose in het Central Veterinary Laboratory te Weybridge, Groot-Britannië (referentielabo voor brucellose voor de WGO en de FAO).

29.09.1995 : Studienamiddag PUOD. Gezondheidsbewaking op het varkensbedrijf, Merelbeke.

20.10.1995 : Belgisch-Nederlandse Aujeszky bijeenkomst. Geven van een lezing 'Overzicht van de varkenshouderijstructuur in België en voorstel voor een bemonsteringsplan voor de screening van de ziekte van Aujeszky in België', Boxtel, Nederland.

25.10.1995 : Studiedag VEE. Residuen bij antibioticagebruik - Aktuele bestrijdingsprogramma's, St-Niklaas.

27.10.1995 : Studienamiddag PUOD. Bedrijfsbegeleiding op het varkensbedrijf, Gent.

08.12.1995 : Studienamiddag PUOD. Het geneesmiddel: wettelijke bepalingen inzake de registratie, het bezit, het gebruik en de terhandstelling, Merelbeke.

22.12.1995 : Studienamiddag PUOD. Geneesmiddelengebruik, Merelbeke.

04.01.1996 : Coördinatievergadering Veterinaire dienst en Sanitaire ploegen van het Waals Gewest. Geven van een lezing 'Le programme de dépistage de la maladie d'Aujeszky en Région wallonne', Ciney.

27.03.1996 : Bezoek aan het NIDO van de studenten Diergeneeskunde : tweede proef RUG. Geven van een lezing 'Stand van zaken en perspectieven in de eradicatie van het Aujeszkyvirus in België'.

12.04.1996 : Coördinatievergadering referentiewerkzaamheden brucellose (diagnostiek, harmonisatie van diagnostische protocols, organisatie van interlaboratoriumanalyses en kwaliteitsborging), ID-DLO, Nederland.

15-26.04.96 : Course on Advanced Methods in Epidemiological Research, Instituut voor Tropische Geneeskunde, Antwerpen.

29.04.1996 : Coördinatievergadering Veterinaire dienst en Sanitaire ploegen van het Vlaams Gewest. Geven van een lezing 'Diagnose van rundertuberculose : huidige problematiek en nieuwe mogelijkheden', Gent.

07.05.1996 : Bezoek aan het NIDO van de studenten Landbouwkundig Ingenieur : derde proef KUL. Geven van een lezing 'Stand van zaken en perspectieven in de eradicatie van het Aujeszkyvirus in België'.

25.05.1996 : Workshop over de Opzet en de Analyse van Klinische Studies, VEE, Gent.

03-13.06.96 : Cours d'Epidémiologie Clinique, Instituut voor Tropische Geneeskunde, Antwerpen.

01.10.1996 : I.B.R. Colloquium, Brussel.

04.10.1996 : Studienamiddag N.A.B.V. Buiatrie. Geven van een voordracht. De aanpak van paratuberculose op een probleembedrijf, Merelbeke.

24.10.1996 : Studiedag VEE. Preventie van overdracht van zoönosen via voedsel door bewaking van de productieketen, Deinze.

20.12.1996 : Studienamiddag PUOD. Geven van een voordracht. De screening voor de ziekte van Aujeszky in België, Merelbeke.

21.02.1997 : Personeelsvergadering CDV. Geven van een voordracht. Het begeleidingsplan voor de ziekte van Aujeszky in België, Ukkel.

11.03.1997 : Studiedag Aujeszky georganiseerd door het Ministerie van Middenstand en Landbouw. Geven van een voordracht. Boeken we in België met de uitroeiing van de ziekte van Aujeszky vooruitgang ? En hoe vorderen onze buurlanden hiermee ? Geel.

18.03.1997 : Studiedag Aujeszky georganiseerd door het Ministerie van Middenstand en Landbouw. Geven van een voordracht. Boeken we in België met de uitroeiing van de ziekte van Aujeszky vooruitgang ? En hoe vorderen onze buurlanden hiermee ? Gent.

01-04.04.97 : Seminar on Survival Analysis Methods, Instituut voor Tropische Geneeskunde, Antwerpen.

13-15.05.97 : Infectieziekten op Rundveebedrijven, Post Academisch Onderwijs Diergeneeskunde, Deventer, Nederland.

23.10.1997 : Studiedag 'La paratuberculose : une maladie d'actualité ?'. Geven van een voordracht. La paratuberculose : un problème mondial ? Un exemple des moyens utilisés aux Pays-Bas pour éradiquer la paratuberculose, Carlsbourg.

31.10.1997 : Studienamiddag PUOD. Geven van een voordracht. Diagnose van paratuberculose, Merelbeke.

14.11.1997 : Geven van een seminarie. De survey voor de ziekte van Aujeszky in België, Vakgroep Bedrijfsdiergeneeskunde (varkens), Faculteit Diergeneeskunde, Merelbeke.

14.11.1997 : Geven van een seminarie. De survey voor IBR en Paratuberculose in België, Vakgroep Bedrijfsdiergeneeskunde (runderen), Faculteit Diergeneeskunde, Merelbeke.

20.11.1997 : Studiedag VEE. Biologie en Management van Dierziekte-uitbraken, Boxtel, Nederland.

Dr. ir. A. Callebaut

10-15.09.95 : EMBO Practical Course on Microsequence Analysis of Proteins. Berlijn.

01-05.09.96 : XIth International Conference on Methods in Protein Structure Analysis. Annecy.

05-08.09.96 : COST 822 Working group 2, third meeting. San Remo.

01-05.03.97 : International 2-D Training Course. Genève.

03-05.09.97 : 7^{th} International Conference on Chitin and Chitosan. Lyon. Poster met mededeling.

Dr. M. Callens

02.05.1996	:	7 th European PCR Seminar Series 1996: PCR : new indispensable tools for gene detection and quantitation, Antwerpen
02-06.09.96	:	European commission for the control of Foot-and mouth disease. Jerusalem, Israël. Geven van een lezing: A rapid and sensitive RT-PCR method for FMDV detection typing and differentiation with other genomically and/or symptomatically related virusses.
24.10.1996	:	Studiedag VEE and WAVFH-FLH: Preventie van overdracht van zoonosen via voedsel door bewaking van de productieketen, Deinze.
30.11-06.12.96	:	Werkbezoek in kader van het IWONL project, Bucharest, Roemenië Geven van een lezing: RT-PCR as diagnostic tool.
13-15.02.97	:	Startvergadering van het E.U project PL96-1545, Madrid, Spanje.
18.06.1997	:	Workschop ingericht door VEE: de opzet en de analyse van klinische studie, Merelbeke
19.-26.10.97	:	Geven van workshop in lab voor moleculaire epidemiologie en begeleiding bij het opstarten van RT-PCR diagnosis voor FMDV Bucarest, Roemenië'
04.12.1997	:	Seminarie : affiniteits biosensoren voor interactie analyse ICP, Brussel
11-12.12.97	:	Evaluatievergadering van het E.U project PL96-1545 Brescia, Italie gegeven van twee voordrachten : - development of a RT-PCR method for SVDV detection - development of a T cell response based technique to detect SVDV sensitised pigs

Lic. G. Charlier

08.03.1996	:	Workshop on confocal microscopy, Leuven.
20-24.05.96	:	14 th ESACT meeting " Animal cell Technology : from vaccines to genetic medicine, Vilamoura, Portugal.
18.06.1996	:	Workshop elektronenmicroscopie, UCL, LLN.
21.10.1996	:	EFB-BELACT meeting, Brussel.
17.04.1997	:	Analis sessie "pipette calibration, certification and validation", Gent.

Lic. I. Cleenwerck

22.03.1996	:	Biosafety: a scientific challenge in medicine and biotechnology, 4th Symposium of the National Committee of Microbiology, Brussel. Presentatie van een poster.
04.07.1996	:	Exposé sur l'actualité des Escherichia coli productrices de la toxine CNF1, NIDO
27.03.1997	:	Exposé sur les intégrons et les transposons, ULB (St-Genesius-Rode)
22-26.06.1997	:	VTEC '97, 3rd International Symposium and Workshop on Shiga Toxin (Verocytotoxin) - Producing *Escherichia coli* Infections, Baltimore (U.S.A.). Presentatie van een poster.
17.10.1997	:	Evolution and gene transfer in microorganisms, the first Symposium of the Belgian Society for Microbiology, Leuven. Presentatie van een poster.

Dr ir Ph. Debongnie

13.11.1995	:	Réunion du Comité Régional Phyto (Louvain-la-Neuve): Bonnes pratiques phytosanitaires, cas de la Somme, modèle SIRIS.
14.11.1995	:	Workshop LC-MS organisé par TSP et Finnigan Mat. Elewijt.
25-27.09.95	:	Réunion de travail regroupant tous les participants au projet UE "Subsurface degradation of herbicides in Northern and Southern Europe". Couvin. Rapporteur.
20.03.1996	:	Visite technique chez Chemviron Carbon à Bruxelles dans le cadre du projet de recherche sur l'adsorbabilité des pesticides par les charbons actifs.
24.04.1996	:	Visite technique chez Norit et KIWA aux Pays-Bas dans le cadre du projet de recherche sur l'adsorbabilité des pesticides par les charbons actifs.
13-15.05.96	:	Cost 66 meeting "Pesticides in soil and the Environment". Stratford-upon-Avon, UK. Communications par poster.
05.11.1996	:	Table ronde "l'eau à, sous et autour de Louvain-la-Neuve" organisée par la Commission hydrogéologique de l'UCL en collaboration avec l'association des habitants et les services de l'environnement de la ville d'Ottignies-Louvain-la-Neuve. Louvain-la-Neuve.
06.05.97	:	49e Internationaal symposium over fytofarmacie en fytiatrie. Gent.
24.06.97	:	Visite de la station de production d'eau potable et du laboratoire de la CIBE à Tailfer.
21.08.97	:	Seminar on Borland Delphi 3 and intrabuilder (programmtion tools). Heyzel.
01.09.97	:	Défense publique du mémoire "Herbicides dans le lac de Louvain-la-Neuve: tentative de bilan pour l'année 1996" de J. Carlens. U.C.L., Faculté des Sciences Agronomiques. Co-promoteur.

Dr ir M. Decleire

10-14.09.95	:	First International conference of the "European Chitin Society". Brest. France.
26-27.09.96	:	Tenth forum for applied biotechnology. Brugge.
26-27.09.97	:	Forum for applied biotechnology. Gent.

Dr. K. De Clercq

04-05.09.95	:	Missie ter inspectie van de Belgische strategische antigeen bank en de mogelijkheid tot vlugge omzetting tot noodvaccin te Lyon, Rhône-Mérieux, Frankrijk.
20-22.09.95	:	Session of 'The FAO Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease' teVladimir, Russian Federation. Geven van een lezing.
19.02.1996	:	Second Annual Meeting of the EU National SVD Reference Laboratories. Brussels, Belgium. Geven van een lezing.
27.03.1996	:	Bezoek aan het NIDO van de studenten tweede doctoraat Faculteit Diergeneeskunde Gent.

Geven van een lezing.

02.04.1996 : Bezoek van een Bulgaarse delegatie voor de bespreking van de Belgische aanpak van epizoötische ziekten.
Geven van een lezing.

25.04.1996 : Bezoek van een Koreaanse delegatie voor de bespreking van de Belgische aanpak van epizoötische ziekten.
Geven van een lezing.

15.05.1996 : Workshop over 'De opzet en de analyse van klinische studies' te Gent.

21-26.05.96 : Missie naar Roemeni' voor het opzetten van een internationale test voor de detectie van FMDV carriers in schapen.
Geven van een lezing.

07.06.1996 : Workshop aan de VUB over 'Gebruik van internet en de BEN computer in het wetenschappelijk onderzoek' te Brussel.

02-06.09.96 : Session of 'The FAO Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease' te Kibbutz Ma'ale Hachmisha, Israel.
Geven van twee lezingen.

13.09.1996 : First World congres on 'The application of GLP in Veterinary Medecine Laboratories' at the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) te Parijs.

18.09.1996 : Workshop over 'Stock management for laboratories by computer programmes and bar-code labelling' te Leuven.

17.10.1996 : Workshop over 'Functioneringsgesprekken als techniek voor interne evaluatie' te Brussel.

23-27.10.96 : Missie in opdracht van de EU naar Macedoni' voor het opzetten van een epidemiologische survey na de MKZ uitbraak en vaccinatie campagne in het Balkan gebied.

22-23.01.97 : EU Meeting on Foot-and-Mouth Disease Serology te Tübingen, Germany.
Geven van een lezing.

13-15.02.97 : Startvergadering van het E.U project PL96-1545. Madrid, Spanje.
Geven van een lezing.

02-04.04.97 : 'Thirty-second Session of the European commission for the control of foot-and-mouth disease of the FAO' te Rome, Itali'.

28-29.04.97 : International meeting on 'The use of non-structural proteins of FMDV for differentiating vaccinated from infected animals' te Lelystad, Nederland.
Geven van een lezing.

16.09.1997 : Information meeting for the EU translators. Ukkel, België, 16.09.97.
Geven van een lezing.

23-27.09.97 : Session of 'The FAO Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease' te Poiana-Brasov, Romania.
Geven van 2 lezingen.

30-31.10.97 : Session of 'The FAO Executive Committee of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease' te Prague, Czech Republic.
Geven van 2 lezingen.

20.11.1997 : 10th and 5th Annual meeting of respectively the Dutch and Belgium society for Veterinary Epidemiology and Economics te Boxtel, Nederland.
Geven van een lezing.

24.11-05.12.97 : Missie in opdracht van de FAO naar Georgië: 'Assessment Mission for FMD epidemiology in the Gali and Abkhazian region - Georgia'.

10-12.12.97 : Annual meeting of the E.U. project PL96-1545 on SVD diagnosis. Brescia, Italie.

Lic. M. De Filette

27.11-01.12.95	:	ELISA training course for National Reference Laboratories for *Salmonella* in the EU-countries and EU-associated countries. Copenhagen, Denmark.
12.02-02.03.96	:	Stage : insertie-inactivatie van het *agfA* gen coderend voor SEF17 fimbriae. Surrey, England
01-23.04.96	:	COST ACTION 97. Monitoring procedures, rapid detection methods and techniques. Compton, England.
18.09.1996	:	Seminar on Bacterial Adhesins in Veterinary Medicin. Geven van een lezing "Adherence of *Salmonella"* NIDO, België
20-22.05.1997	:	Symposium "Salmonella and Salmonellosis". Presentatie 2 posters (zie publicaties). Ploufragan, France.
17.10.1997	:	Symposium "Evolution and Gene transfer in microorganisms". Presentatie poster . Leuven, België.

Dr. D. de Graaf

05.09.1995	:	Symposium: Parasitaire protozoa in water. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven, Nederland.
14-16.09.95	:	COST 820 Workshop on vaccines against animal coccidioses. Praag, Czech Republik. Geven van een lezing: Application of a commercial double sandwich ELISA to measure in vitro Cryptosporidium-specific gamma-interferon production by bovine peripheral blood mononuclear cells.
16-17.01.96	:	MSD AGVET: Veterinary Parasitology Symposium. Hanbury Manor, U.K.
13.03.1996	:	Roche Animal Health Symposium. Doorwerth, Nederland.
20-26.03.96	:	Keystone Symposium: Lymphocyte activation. Hilton Head Island, South Carolina, U.S.A.
23.04.1996	:	DPC Symposium: Intestinal Protozoa Grimbergen
10-12.10.96	:	COST 820 Workshop on vaccines against animal coccidioses. Copenhagen, Denmark. Geven van een lezing: Kinetics of the interferon-gamma, IgA and IgM responses in experimentally Cryptosporidium parvum-infected neonatal calves.
26.11.1996	:	Sectordag: Rundvlees, goedkoper produceren.Tervuren
11-12.04.97	:	COST 820 Working Group 3 Meeting. Brussel. Organisator en chairman.

Dr M. Desmecht

02.07.1996	:	Visite de l'unité animale du Centre d'Economie rurale de Marloie, avec un représentant du Ministère de la Santé publique, en vue de son agréation.
1995 - 1997	:	Commission des médicaments, Ministère de la Santé publique, Bruxelles.
1995 - 1997	:	Commission belge de la Pharmacopée, Ministère de la Santé publique Bruxelles.
10 - 24.09.96	:	Sérums et vaccins, Prix Francqui, Faculté vétérinaire de Liège

10 - 24.09.96 : Le contrôle des vaccins dans la CEE, Faculté vétérinaire de Liège
19.11.1996 : Problèmes de maladies lors de la vente des jeunes animaux de compagnie, UPV, Bruxelles.
24.04.1997 : Assemblée générale du FORERA et exposé des problèmes de lutte contre la rage, Institut Pasteur, Uccle.

Dr. ir. L. De Temmerman

08-11.11.95 : ESPACE-wheat contractors meeting. Dublin/Carlow, Ierland.
23-25.11.95 : Effects of atmospheric CO_2 increase on carbon fluxes in grassland ecosystems. Cost 619 Action. Clermont-Ferrand, Frankrijk.
Mededeling: "Early senescence effects on spring wheat exposed to elevated CO_2 concentrations in open-top chambers".
27.02.1996 : Studiedag "Ozon in de atmosfeer te Hasselt georganiseerd door AMINABEL". Gegeven voordracht: "Effecten van ozonverontreiniging op de vegetatie.
05.03.1996 : Idem te Gent.
12.03.1996 : Idem te Elewijt.
15-17.04.96 : Workshop: Critical levels for ozone in Europe: testing and finalising the concepts. Kuopio, Finland.
Postervoorstelling: K. Vandermeiren and L. De Temmerman. "Different responses of *Phaseolus vulgaris* to sub-acute and chronic ozone fumigations at an equal AOT40 level".
01-05.06.96 : Interactions between elevated CO_2 and water in grassland. GCTE and COST 619 joint meeting. Davos, Zwitserland.
08-09.10.96 : 4th General Meeting of Contractors. ESPACE-Wheat. Tervuren.
23.10.1996 : ESPACE-Wheat meeting. Wageningen, Nederland.
28.01.1997 : Evaluation of different passive samplers for measuring ammonia. München-Neuherberg, Duitsland.
22-26.02.97 Final Espace-wheat Workshop. Roskilde, Denemarken.
21.03.1997 : Interactie plantenfysiologie en milieu. Studiedag V.V.P.F., L.U.C., Diepenbeek.
01-05.04.97 : Fourth international symposium on: Responses of Plant metabolism to air pollution and global change. Egmond aan Zee, Nederland
Postervoorstelling: K. Bortier, L. De Temmerman, K. Vandermeiren, R. Ceulemans. "Impact of tropospheric ozone on growth and physiology of poplar (*Populus nigra* cv. Wolterson)".
05-07.06.97 : Effects of atmospheric CO_2 increase on carbon fluxes in grassland ecosystems. Cost 619 Action. Ballyvaughan, Ierland.
25-28.09.97 : Effects of atmospheric CO_2 increase on carbon fluxes in grassland ecosystems. Cost 619 Action, Wenen, Oostenrijk.
03-07.11.97 : Workshop on critical limits and effect based approaches for heavy metals and persistent organic pollutants, Bad Harzburg, Duitsland.
Voorstelling poster: L. De Temmerman, K. Vandermeiren, G.Mills & A. Tonneijck. "Heavy metal deposition on plants".

Dr. I. D'hooghe

11-20.11.96 : stage in het laboratorium Pathotrop, Montpellier, Frankrijk (Dr. F. Thiaucourt). Onderwerp: Diagnosis of CBPP.

08-18.12.96 : stage in "Instituto di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia aviare, Milaan, Italië (Prof. Scanziani): Onderwerp : Immunohisto-chemistry of bovine mycoplasmosis.

12-31.01.97 : stage in "National Veterinary Institute-section for Mycoplasma. Uppsala, Zweden (Dr. Bölske). Onderwerp: Standard isolation, cloning and identification procedures of *Mycoplasma* spp.

11-13.06.97 : 2nd workshop on ruminants mycoplasmoses (COST ACTION 826) Alghero, Italië.

17.10.1997 : Symposium, Evolution and gene transfer in microorganisms, Belgian Society for Microbiology, Leuven

Dr J. Godfroid

07.1995 : Symposium ESVV, Liège

08.1995 : Joint Conference of the American Association of Zoo Veterinians, the Wildlife disease Association, the American Association of Wildlife Veterinerians, East Lansing, Michigan, USA.

11.1995 : Congrès annuel de la Société Française de Buiatrie, Paris, France.

07.1996 : 14th IPVS Congress, Bologna, Italie.

04.10.1996 : Nederlandstalige afdeling van de belgische vereniging voor buiatrie.
Conférence intitulée : "Aanpak van paratuberculosis".

16.11.1996 : Première journée régionale francophone de l'Union Professionnelle Vétérinaire, Marche.
Conférence intitulée : "Maladies bactériennes réémergentes (tuberculose et brucellose) dans le cadre de la santé des écosystèmes".

02.1997 : XV International Symposium W.A.V.M.I. Salmonellosis - Brucellosis, Limassol, Chypre.

02.04.1997 : Norwegian College of Veterinary Medicine - Departement of Artic Medicine, Tromsoe, Norvège.
Conférence intitulée : "Isolation of a new *Brucella spp.* in a Minke Whale (Balaenoptera acutorustrata)".

07.1997 : VIII Symposium International d'Epidemiologie et d'Economie Vétérinaire, Paris.

08.1997 : 46th Annual Conference WDA, St Petersburg, Florida, USA.

11.10.1997 : Journée de la Société belge francophone de buiatrie, Liège.

11.1997 : 50th Anniversary Meeting of Brucellosis Research Conference, Chicago, USA.

Dr. M. Guns

18-20.03.96 : CATS III, Congress on characterization and treatment of sludge, Oostende.
Presentatie van een poster: "Multidisciplinary study on the inventory, the ecological effects and remediation of sediments of flemish watercourses".

20.03.1996 : Studiedag "Biociden: bestrijdingsmiddelen voor niet-landbouwkundig gebruik", TI-K VIV, Tervuren.

07.05.1996 : 48e internationaal symposium over fytofarmacie en fytiatrie, Gent.

24.05.1996 : Vierde lessencyclus : Juridische en technische aspecten van het milieubeleid in Vlaanderen partim milieutechnologie. Gegeven voordracht: "Implicaties van lozing van meststoffen voor oppervlaktewateren"; universiteit Gent.

04.10.1996 : Studiedag IRCEL/CELINE, Intergewestelijke Cel voor Leefmilieu, Brussel.

08-09.10.96 : 4th General Meeting of Contractors. ESPACE-Wheat. Tervuren.

07.11.1996 : Journée d'étude: "Bilan des éléments nutritifs en agriculture, Comité nitrates, Tervuren".

14.11.1996 : Studiedag "Versnippering ontsnipperen", Groep Toegepaste Ecologie, Tervuren.

26.11.1996 : Sectordag "Rundvlees: goedkoper produceren", Ministerie van Middenstand en Landbouw, DG6; Tervuren.

19.03.1997 : Studiedag: "Geïntegreerde gewasbescherming: van producent naar consument", TI-K VIV, Genootschap plantenproductie en ecosfeer Tervuren.

06.05.1997 : 49th internationaal symposium over fytofarmacie en fytiatrie, Gent.

29.05.1997 : Studiedag "Fosfaatverzadiging van zandige bodems in Vlaanderen", Vlaamse Landmaatschappij, Meise.

Dr M. Hoenig

24-25.10.95 : Symposium on Atomic Spectroscopy organized by Perkin Elmer and SGS, Antwerpen. Invited lecture: Present status of ET-AAS in the arsenal of atomic spectroscopy techniques.

08.02.1996 : Seminar "A Scope on Spectroscopy" organized by ThermoGroup Benelux, Mechelen. Conférence invitée: Les avantages et inconvénients de la spectrométrie d'absorption atomique électrothermique face aux autres techniques de spectroscopie atomique.

15.02.1996 : 5ème Séminaire sur l'Environnement organisé par Varian France, Paris. Conférence invitée: Analyse des échantillons de l'environnement: quelques considérations sur leur préparation et sur le mode de mesure en four graphite.

20.02.1996 : Forum Analytique Perkin Elmer France, Paris. Conférence invitée: L'analyse des traces en absorption atomique four graphite. Sa position en regard des autres techniques spectroscopiques.

21.02.1996 : idem, Lyon.

22.02.1996 : idem, Toulouse.

02-05.04.96 : Journées Scientifiques du Forum Labo, Paris, 1996. Conférence invitée: Incidence de la préparation de l'échantillon sur le dosage d'éléments traces.

03-05.05.96 : 4th Symposium on Analytical Sciences, Brussels. Chairman of the session "Atomic Spectroscopy". Plenary lecture: Atomic spectroscopy: the present status.

06.05.1996 : Journées Scientifiques organisées dans le cadre de l'Instrurama, Bruxelles. Conférence invitée: Evaluation of direct analysis of solid samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry.

23.05.1996 : Academy of Sciences, Prague, Czech republic, invited lecture : Present possibilities and limitations of electrothermal atomic absorption spectrometry.

27-30.05.96 : 2nd European Furnace Symposium, St. Petersburg, Russie. Invited lecture: Performances and practical use of simultaneous multielement GFAAS.

16-18.07.96 : 3èmes Journées Francophones des Jeunes Physico-Chimistes, Lille, 1996. Présidence de la session "Chimie analytique et Physico-Chimie de l'Environnement". Conférence plénière: Les sources d'erreurs dans l'analyse spectrochimique des échantillons de l'environnement.

08-10.10.96 : Seminar on Atomic Spectroscopy Techniques organized by Czech Spectroscopic Society, Chlum, Czech republic. Invited lecture: Practical use and figures of merit of simultaneous multielement graphite furnace atomic absorption spectrometry.

28-29.01.97 : Journées Toxicologie et Sciences de la Vie, Paris. Conférence invitée: Les techniques de spectrométrie atomique pour l'analyse des éléments toxiques.

05.03.1997 : Journée scientifique organisée par Thermo Jarrell Ash - Nicolet France, Paris. Conférence invitée: Absorption atomique en four graphite face aux autres techniques spectroscopiques: possibilités et limites.

20-23.05.97 : Journées scientifiques organisées par les Instituts d'Hygiène de Brno et d'Ostrava, Celadna (république Tchèque). Invited lecture: Reference materials for environmental control.

02-04.06.97 : 5th Symposium on Analytical Sciences, Nice. Chairmann of the Atomic Spectroscopy session. Plenary lecture: State of the art in the spectrochemical analysis.

02-05.09.97 : International Conference on Inorganic Environmental Analysis, Pardubice (république Tchèque). Invited lecture: Evaluation of various commercially available nebulization devices for inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry.

10-12.09.97 : XXXI Conference on Microelements, Ceské Budejovice (république Tchèque). Invited lecture: Fast programs and slurry sampling-GF-AAS.

24-28.11.97 : 2nd Mediterranean Basin Conference on Analytical Chemistry, Rabat, Maroc. Conférence invitée: Les techniques de spectroscopie atomique: applications particulières et avantages individuels. Organisation d'un séminaire sur la méthodologie de la préparation de l'échantillon à l'analyse.

Dr. H. Imberechts

27-30.09.95 : Congres: 'First international Rushmore conference on mechanisms in the pathogenesis of enteric diseases' Rapid City, South Dakota, USA. Lezing: 'Passive protection of weaned pigs against experimental infection with F18 positive *E. coli*'.

09.12.1995 : Gastdocent: 'Bacterial virulence factors' VUB
Uitgenodigd door Prof. Dr. E. Van Driessche.

21-23.02.96 : Workshop: ' Analytical methods on the epidemiology of zoonoses in the EU' Berlijn, Duitsland

21-23.04.96 : Seminarie: COST 97: 'Pathogenic microorganisms in poultry and eggs. Working group 4: Development of monitoring procedures, rapid detection methods and techniques' Compton, Verenigd Koninkrijk

29-30.05.96 : Workshop: 'Community Reference Laboratory for *Salmonella* and the National reference Laboratories for *Salmonella* concerning analytical techniques to be applied for the directive 92/117/EEC', Bilthoven, Nederland

18.09.1996 : Seminarie: 'Bacterial adhesins in Veterinary Medecine' NIDO,. Lezing: 'Bacterial adhesins, an introduction'.
Organisatie: Dr. H. Imberechts, Dr. J. Mainil, Dr. J. Peeters en Dr. P. Pohl.

23-25.10.96 : Seminarie: COST 97:'Pathogenic microorganisms in poultry and eggs. Working group 2: Prevention of contamination of poultry meat, eggs and egg products' Rome, Italië

23-26.04.97 : Seminarie: COST 97:'Pathogenic microorganisms in poultry and eggs. Working group 4: Molecular epidemiology of *Campylobacter* and *Salmonella*' Uppsala, Zweden

08-11.07.97 : Congres: 'VIIIth International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics' Paris, Frankrijk.

10-13.09.97 : "Fourth International Meeting on Bacterial Epidemiological Markers" Elsinore, Denemarken; Poster: 'Salmonella isolated from poultry in Belgium, 1996.

1-3.09.97 : Lezing Workshop: 'Analytical methods on the epidemiology of zoonoses in 1997, Community Reference Laboratory for the epidemiology of zoonoses', Berlijn, Duitsland;: 'VT *E. coli* and *Campylobacter* in Belgian veterinary labs'.

15.11.1997 : Gastdocent: 'Bacterial virulence factors'. VUB,. Uitgenodigd door Prof Dr E Van Driessche.

20.11.1997 : Seminarie: '10th annual meeting of the Dutch society for veterinary epidemiology and economics and 5th annual meeting of the Belgian society for veterinary epidemiology and economics' Boxtel, The Netherlands; Lezing: 'Detection of *Salmonella* in poultry in Belgium'.

20-22-27-28.10.97 : Mede-organisatie van inlichtingenavonden voor pluimveehouders omtrent en 27.11.1997 het gezondheidsprogramma 'Opsporing van *Salmonella* bij pluimvee',

16-17.12.97 : Seminarie: COST 97:'Pathogenic microorganisms in poultry and eggs. Management Committee Meeting.' Brussel.

Dr P. Kerkhofs

05.10.1995 : Comité scientifique vétérinaire : sous-groupe BIV

30-31.10.1995 : Princess Lilian Cardiology Fundation. Lymphocyte activation in health and disease.
Palais des Académies, Bruxelles.

29-30.11.95 : Société française de buiatrie. La vaccination en buiatrie, Paris.

27.03.1996 : Comité Scientifique Vétérinaire : sous-groupe BIV.

21-26.05.1996 : Cold Spring Harbor Laboratory Meeting : Retroviruses, New-York.
Présentation orale.

01-02.11.1996 : HTLV European Research Network Meeting, Brugge.
Présentation orale.

09.96 à 02.97 : Stage de fin d'étude et mémoire de Monsieur P. Quenon de l'IPKN, Charleroi.
Diagnostic de l'infection par le BVDV : caractérisation d'isolats par la méthode PCR et évaluation de quatre tests ELISA de capture antigénique.

29.01.1997 : Visite des étudiants ingénieurs agronomes section élevage, UCL,Prof. Deswyssen.

24-27 .08.97 : Edinburgh, Scotland 4th International Congress of Veterinary Virology
Présentation orale

20.11.1997 : Boxtel, Pays-Bas. VEE-studiedag : Biologie en management van dierziektenuitbraken

17.12.1997 : Bruxelles - Action Cost 834 "Lentiviruses of sheep and goats, pathogenesis, diagnoses and prevention"
1ère réunion du comité de gestion

Dr. F. Koenen

05-08.08.95 : Second International symposium on Aujeszky's Disease eradication, Kopenhagen, Denemarken.

28-30.08.95 : Coördinatiebezoek aan de Aristotle University, Thessaloniki, Griekenland, in het kader van het EMCV AIR-projekt.

26-29.09.95 : EEC seminar on pestiviruses, in het kader van de annual meeting of EEC National Swine Fever Laboratories, Madrid, Spanje. Gehouden voordrachten: "The epidemiology of the Belgian CSF epizootic in 1993-1994, an extended country report".
"Emergency vaccination scenario for CSF eradication."

29.09.1995 : First meeting FAIR project over KVP, Madrid, Spanje. Houden van een lezing: "Belgian contribution in the EU collaborative project: "Control of CSF by molecular diagnosis and epidemiology."

16-21.10.95 : Workshop on antigen and antibody detection of EMCV by ELISA en vierde meeting AIR-project over EMCV, Brescia, Italië. Voorzitter en houden van volgende lezingen:
- "Infection of sows in gestation with a Belgian and a Greek EMCV isolate, preliminary results."
- "Immunosuppression of piglets transplacental infected with EMCV."

26. 11.1995 : Werkbezoek aan het demonstratiecentrum van Perkin Elmer in verband met het sequeneren van viraal DNA, Amersfoort, Nederland.

29. 11. 1995 : Organisatie van de EU meeting voor de technische subgroep merker vaccins te Ukkel met als onderwerp: "The use of marker vaccines for the eradication of CSF in densely populated areas". Houden van een voordracht: Virological and immunological aspects concerning marker vaccines.

15-16. 03.96 : First co-ordinating meeting on control of classical swine fever by molecular diagnosis and epidemiology, in het kader van het FAIR-project, Uppsala, Zweden. Houden van volgende lezingen:
- "Current CSF diagnosis in the Belgian national CSF reference laboratory".
- "Provision of biological samples in order to examine mutation rates of CSF viruses over time."

02.05.1996 : Seminarie georganiseerd door Perkin Elmer: "PCR: a new indispensable tool for gene detection and quantitation", Antwerpen.

03.05.1996 : Studienamiddag IWONL, Merelbeke. Met lezing: "Infecties met het encephalo-myocarditis virus in België: een nieuwe bedreiging?"

20-23.05.96 : 64e session générale de l'OIE, Parijs, Frankrijk.

03.05.1996 : Studienamiddag IWONL, Merelbeke. Met lezing: "Infecties met het encephalo-myocarditis virus in België: een nieuwe bedreiging?"

25-27.05.96 : Vijfde meeting AIR-project over EMCV, Brescia, Italië. Voorzitter en houden van volgende lezingen:
- "Infection of immune sows in gestation with a Belgian and a Greek EMCV isolate".
- "Clinical and pathological aspects of the recent EMC-virus infections in pigs in Belgium."

03-05.06.96 : Annual meeting of the National Swine Fever Laboratories, Alghero, Italië. Met lezing: "RT-PCR for the detection of CSFV in serum samples and meat in reference to standard diagnostic methods."

07-10.07.96 : 14th International Pig Veterinary Society Congress, Bologna, Italië.
Houden van een lezing: "Epidemiologic, pathogenic and molecular analysis of the first EMC outbreak in fattening pigs in Belgium."
Poster: "Clinical and pathological aspects of EMC-virus infections in pigs in Belgium." Lezing: "RT-PCR for the detection of CSFV in clinical samples in reference to standard diagnostic methods."

11-18.08.96 : Xth International Congress of Virology, Jerusalem, Israel. Met volgende posters:

- "Comparative study of the pathogenic properties of recent EMCV isolates for sows in gestation."
- "Development and validation of a RT-PCR assay for the diagnosis of EMCV infections in pigs."

23-27. 09. 96 : Workshop on diagnostic procedures and measures to control CSF in domestic pigs and the European wild boar, Pulawy, Polen:
Gastspreker met volgende voordrachten:
- "Laboratory management experience of large scale diagnosis during a CSF epizootic in Belgium."
-"CSF-antigen ELISA in reference to virus isolation and PCR."
Co-voorzitter en rapporteur van een sessie. Docent voor de praktische training in serologische diagnose technieken voor KVP.

11.10.1996 : IPVS-studienamiddag, Gent. Gastspreker met volgende voordracht:
Bespreking van de wetenschappelijke mededelingen betreffende PRRS en EMCV tijdens het IPVS-congres in Bologna, Gent.

20-21.11.96 : Organiseren van de workshop over diagnose van EMCV door PCR en sequeneren in het kader van het AIR-project over EMCV, Ukkel.

22.11.1996 : Zesde meeting AIR-project over EMCV, Ukkel. Voorzitter en houden van volgende lezingen:
- "Infection of immune sows in gestation with a Belgian and a Greek EMCV isolate."
- "Clinical and pathological aspects of the recent EMC-virus infections in pigs in Belgium."

31.01-01.02.97 : Second co-ordinating meeting on control of classical swine fever by molecular diagnosis and epidemiology, in het kader van het FAIR-project, Perugia, Italië. Houden van volgende lezingen:
- "Possible epidemiological links between a panel of Belgian CSF isolates."
- "Establish, harmonise and validate protocols for PCR and antigen ELISA for CSF."

06.02.1997 : Vergadering van de industriedierenartsen, Gent. Houden van een lezing: "Encephalomyocardits virus infecties bij varkens: een klinische, epidemiologische, pathologische, moleculaire en antigenische analyse."

28.02.1997 : Vergadering van het begeleidinscomité van het CSVVZ, afdeling virale en bacteriële ziekten bij het varken met uitzondering van de ziekte van Aujeszky. Met een lezing: "Epidemiologie, diagnose en bestrijding van KVP bij hoge varkensdensiteit en niet vaccinatie."

20-21.03.97 : Slot meeting AIR-project over EMCV, Brescia, Italië. Voorzitter en volgende lezing: "Validation of ELISA and PCR for EMCV diagnosis."

14.06.1997 : Vierde meeting FAIR-project over CSFV, Wenen, Oostenrijk. Met volgende lezingen:
- "Biological stability of CSFV."
- "Molecular characterisation of Belgian CSFV isolates."

16-17.06.97 : Jaarlijkse meeting NSFL, Wenen, Oostenrijk. Met een lezing: "Molecular characterisation of CSFV isolates collected in Belgium since 1988."

24-27.08.97 : 4th International Congress of Veterinary Virology, Edinburgh, Schotland. Houden van een lezing: "Epidemiologic and molecular characteristics of recent EMC outbreaks in Belgium." Poster: "Identification of EMCV in clinical samples by RT-PCR followed by genetic typing using sequence analysis.

01-10-1997 : Overlegvergadering op uitnodiging van de Nederlandse veterinaire diensten betreffende de versoepelingsvoorwaarden van de maatregelen in verband met de KVP, Uden, Nederland.

20-11-1997 : 5th annual meeting of the Belgium society for veterinary epidemiology and economics, Boxtel, Nederland. Met een lezing:
An experimental infection with classical swine fever in weaner pigs. Transmission of the virus, course of the disease and antibody response.

Dr G. Meulemans

01.09-31.12.96 : Gembloux : Faculté des Sciences agronomiques. Cours de Pathologie et hygiène animales, 1ere et 2e parties. (45h).

21.03.1997 : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort, Paris, France.Les infections à Ortho-et Paramyxovirus (3h). Cours international francophone de pathologie aviaire.

20.06.1997 : Symposium de biotechnologie organisé par *Invitrogen* Paris, France.

22-26.10.97 : Pulawy (Pologne): IB Symposium, orateur invité: G. Meulemans: Nephropathogenic avian infectious bronchitis viruses.

9-10.12.97 : Bruxelles: 4th Meeting of the European Union Laboratories for Newcastle disease and avian Influenza; 2 communications: G. Meulemans and T.P. van den Berg: Newcastle disease current situation in Belgium, 1996-1997
G. Meulemans, S. Roels and T.P. van den Berg: Pancreatitis due to lentogenic ND viruses.

Dr J.C. Motte

20.09.1995 : Séminaire sur la ASPE (solid phase extraction) et la préparation d'échantillons pour la chromatographie organisé par Varian sa. Liège.

28.09.1995 : Séminaire "Comment tirer pleinement parti des colonnes CPG et CLHP", organisé par Hewlett-Packard. Bruxelles.

26.10.1995 : Information technology in the Laboratory, séminaire Fisons Instruments. Louvain-la-Neuve.

16.11.1995 : Forum analytique organisé par la société Varian. Liège.

20.12.1995 : Séminaire sur l'acquisition de données au laboratoire, organisé par Waters sa. Evere.

20.03.1996 : Séminaire sur la validation des colonnes de chromatographie liquide, organisé par Waters sa. Vilvoorde.

30.05.1996 : Séminaire Waters: présentation du nouveau module de chromatographie en phase liquide. Louvain-la-Neuve.

15-20.09.96 : Participation au 21èmeCongrès International de Chromatographie "ISC'96". Stuttgart.
Présentation d'une communication scientifique par voie d'affiche: High performance derivatization for the determination of phenolic compounds by HPLC.

23.01.1997 : Séminaire Waters sur "Détection UV/DAD en HPLC". Louvain-la-Neuve.

04.02.1997 : Rencontre de travail avec Cereal Tester sur les mycotoxines dans les denrées alimentaires: exposition : EUROBA. Bruxelles.

21.02.1997 : "Advanced HPLC Method Development", séminaire organisé par Merck-Belgolabo, Diegem.

19.06.1997 : "New evolution in water purification technologies", seminaire sur les nouvelles techniques de purification de l'eau de laboratoire présenté par Millipore s.a.. Bruxelles.

20.06.1997 : Séminaire organisé par la firme Shimadzu: A New products Introduction. Elewijt.

Dr. J. Peeters

05.09.1995 : Symposium "Parasitaire protozoa in water". R.I.V.M., Bilthoven, Nederland.

14.09-16.9.95 : Praag, Czechische Republiek : COST-820 Workshop on vaccines against animal coccidioses.
Chairman en organisator van de ronde tafel "Cryptosporidiose.
Geven van een lezing : "Biology, epidemiology and economical importance of cryptosporidiosis and cyclosporosis".

11.10.1995 : Werkbezoek aan het dispatchingcentrum en de afdeling pathologie van de Gezondheidsdienst voor Dieren. Deventer, Nederland.

14.10.1995 : Journée d'étude de la Société Belge de Buiatrie. Liège.
Geven van een lezing : "Contrôle de la cryptosporidiose bovine"

27.10.1995 : Vormingscentrum voor Overheidsbeleid (VCOB). KU Leuven.
Geven van een lezing : Bewaking van de Gezondheidstoestand en de Kwaliteit van de Belgische veestapel door het CODA.

09-10.11.95 : Barcelona, Spanje : VII Jornada Técnica Internacional sobre Cunicultura. ExpoAviga 95.
Geven van een lezing : "Importancia económica de las enfermedades en la cunicultura comercial".

07.12.1995 : Studiedag over *Campylobacter* en *Salmonella* ingericht door Hoechst. Rosmalen, Nederland.

16-17.01.96 : Hanbury Manor,UK: Second Veterinary Parasitology Symposium.

13.02.1996 : OFO-studiedag, Brussel : personeelsstatuut, taalkaders.

24.04-27.04.96 : Thessaloniki, Griekenland : 1st COST-826 workshop on ruminant mycoplasmosis.
Vergadering van het management comité.

23.05.1996 : WRSA-studiedag : Milieureglementering

24.05.1996 : WVPA-studiedag : Salmonella en broeierijhygiëne

18.06.1996 : OFO-studiedag, Groot-Bijgaarden : Wetgeving Overheidsopdrach-ten.

19.06.1996 : OFO-studiedag, Brussel : Evaluatie van ambtenaren.

09-12.07.96 : Toulouse, Frankrijk : VIth World Rabbit Congress.
Lid van het wetenschappelijk comité.
Animator van de ronde tafel over coccidiose.

13.09.1996 : WVPA-studiedag : Medicatie pluimvee

17.10.1996 : CPO-studiedag, Brussel : Functioneringsgesprekken.

23-24.10.96 : Rome, Italië : COST-97 meeting on prevention of contamination of poultry meat, eggs and egg products.
Vergadering van het management comité.

25.10.1996 : Milaan, Italië : COST-826 meeting on ruminant mycoplasmosis.
Vergadering van het management comité.

19.11.1996 : Vlerick School voor Management, Gent : Veranderingsprocessen en veranderingsmanagement

26.11.1996 : Sectordag "Rundvlees : goedkoper produceren", ISO, Tervuren.

26.11.1996 : Geel, studiedag WRSA. Recente ontwikkelingen naar voor gebracht tijdens het VIth WRSA-congres in Toulouse, Frankrijk.

01.01-31.11.97 : Vlerick School voor Management : Middle management.

29-30.01.97 : Parijs, Frankrijk : Third Veterinary Parasitology Symposium.

13-14.03.97 : Chateau-Thierry : Séminaire UCAAB de pathologie digestive du lapin.

Geven van drie lezingen :
- "Etiologie complexe des troubles digestifs du lapin"
- "Rôle des virus, salmonellose et entérotoxémie-iota"
- "Diagnostic de laboratoire et stratégie de traitement"

18.04.1997 : Gent. Studiedag WVPA. IB infecties en *E.coli* vaccinatie

11-13.06.97 : Alghero, Sardinië : 2nd COST-826 workshop on ruminant myco-plasmosis. Vergadering van het management comité.

10-15.08.97 : Sun City, Zuid-Afrika : 16th international conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Pathology.
Geven van een lezing : "Immunoreactive *Cryptosporidium parvum* antigens in cell culture media from infected MDBK cells".

11.09.1997 : Brugge. Vlerick School voor Management.
Presentatie groepswerk : "Management behaviour and HRM in the framework of an acquisition. Case Barco-Chromatics".

26.09.1997 : Zaragoza, Spanje : Exopol rabbit pathology meeting.
Geven van een lezing : "Enfermedades digestivas en la cunicultura comercial".

9-10.10.97 : Lelystad, Nederland. Bezoek ID-DLO. Presentatie van de activiteiten van beide centra en overleg inzake wetenschappelijke samenwerking.

20.11.1997 : Boxtel, Nederland. VEE-studiedag : Biologie en management van dierziektenuitbraken

05.12.1997 : Gent. Studiedag WVPA. Management, voeding en pathologie bij kip, kalkoen, fazant en patrijs.

Dr P. Pohl

07-08.12.1995 : XVth Interdisciplinary meeting on anti-infectious chemotherapy.
Paris, France.

21-22.03.96 : Colloque Société française de Microbiologie. Paris, France.
Poster: Progression de la prévalence de Salmonella Hadar chez l'homme et les animaux en Belgique. Rôle possible des aliments dans la contamination humaine.

05-06.1996 : XVIth Interdisciplinary meeting on anti-infectious chemotherapy.
Paris, France.

18.09.1996 : Seminar on bacterial adhesins in veterinary medicine.
National Institute for veterinary research, Brussels. *Escherichia coli* strains colonizing the gut of cattle, implications for virulence. (présenté par J.Mainil)

16.04.1997 : Task force "Emerging diseases"
CODA - CERVA, Uccle.
Conférence: Problématique des VTEC

03.01.1997 : ibidem
séminaire sur la résistance au Tellure et sa relation avec la présence des gènes de l'intimine.

07.03.1997 : Groupe d'étude des toxi-infections alimentaires.
IHE,Bruxelles.
Présentation des banques de données du Service de bactériologie.

27.03.1997 : Séminaire: Les intégrons.
ULB, Rhode St Genése.

11-12.09.97 : Deuxième conférence de microbiologie alimentaire.
Palais des Congrès, Liège.

7.10.1997 : First Symposium of the Belgian Society for MicrobiologyKUL, Leuven (advisory board)

22.10.1997 : Séminaire de Microbiologie.
ULB, Bruxelles.

02.12.1997 : Séminaire: Antibiotiques et alimentation animale.
Institut Pasteur, Paris, France.

02-03.12.97 : XVIIth Interdisciplinary meeting on anti-infectious chemotherapy.
Palais des Congrès, Paris, France.
Poster: Antibiorésistance des *Salmonella* Enteritidis.Visiteurs

Dr ir L. Pussemier

25-27.9.95 : Réunion de travail regroupant tous les participants au projet UE "Subsurface degradation of herbicides in Northern and Southern Europe". Couvin. Organisateur.

28-29.9.95 : Workshop sur la dégradation accélérée des pesticides appliqués au sol. Perpignan, France. Présentation d'une communication intitulée "Further research on accelerated degradation of soil applied pesticides in Belgium".

07-08.11.95 : European Pilot Project Meeting sur la révision des anciennes matières actives homologuées en Europe. York, UK. Présentation de la monographie sur l'imazalil (partie comportement dans le sol) rédigée sous la responsabilité de la Belgique.

13.11.1995 : Réunion du Comité Régional Phyto (Louvain-la-Neuve): Bonnes pratiques phytosanitaires, cas de la Somme, modèle SIRIS.

16.01.1996 : Défense publique du mémoire (à la faculté des Sciences Agronomiques, UCL) "Métabolisation de l'atrazine dans le sol et dans le sous-sol", de T. Heinen. Promoteur.

13-15.05.96 : Cost 66 meeting "Pesticides in soil and the Environment". Stratford-upon-Avon, UK. Communications par poster.

07-11.07.96 : 2nd International Symposium on Environmental Aspects of Pesticide Microbiology. Beaune (France). Présentation d'une communication par poster présentant les résultats d'un exercice d'intercomparaison sur la dégradation de l'atrazine dans le sous-sol.

27.08.1996 : Défense publique du mémoire (à la Faculté des Sciences Agronomiques, UCL). "La persistance de l'atrazine dans différents sols belges de I. Tresinie. Promoteur

16-17.10.96 : Final workshop du projet Européen "Subsurface degradation of herbicides in Northen and Southern Europe". Reading, UK. Présentation et discussion des résultats obtenus en Belgique au cours de la 3ème année du projet.

28-29.10.96 : Workshop organisé par la section "Transformation de l'action Européenne COST66". Bled, Slovénie. Présentation d'une communication intitulée "Atrazine degradation in the subsurface environment - recent developments".

05.11.1996 : Table ronde "l'eau à, sous et autour de Louvain-la-Neuve" organisée par la Commission hydrogéologique de l'UCL en collaboration avec l'association des habitants et les services de l'Environnement de la ville d'Ottignies-Louvain-la-Neuve. Présentation d'une communication sur la pollution de la nappe phréatique de Louvain-la-Neuve par les herbicides. Louvain-la-Neuve.

13.01.1997 : Présentation devant le Comité Régional Phyto d'une communication intitulée: "SEPTWA95": un système expert pour la prévision des émissions en pesticides dans les bassins hydrographiques belges. Louvain-la-Neuve.

20.01.1997 : Présentation devant le Comité des écotaxes d'une communication intitulée: "Transfert des produits phytosanitaires vers les eaux superficielles et souterraines belges: approche par modélisation". Bruxelles.

18-20.02.97 : Participation au ECCO-20 meeting "European peer review programme of pesticides: environmental fate and behaviour". Braunsweig (Allemagne).

25.02.1997 : Présentation d'une conférence à l'Université de Montpellier (France): "Utilisation des pesticides et évaluation du risque environnemental".

03.03.1997 : Réunion du groupe de travail "Produits phytopharmaceutiques et qualité des eaux". Comité Régional Phyto, Louvain-la-Neuve.

20-21.03.97 : Participation à une réunion de travail dans le cadre du projet Européen "Subsurface degradation of herbicides in Northern and Southern Europe". Préparation du rapport de synthèse. Debrecen (Hongrie).

03.04.1997 : COST66 workshop "pesticide modellers subgroup". Louvain-la-Neuve. Présentation d'une communication intitulée "The pesticide problem at the University site of Louvain-la-Neuve.

06.05.1997 : 49e International symposium over fytofarmacie en fytiatrie. Gent. (Vice chairman de la section: toxicologie, formulations et résidus).

08-09.05.97 : Final workshop on accelerated degradation of soil applied pesticides. Bordighera (Italie). Présentation d'une communication: "Accelerated degradation of atrazine in Belgian soils".

15.05.1997 : Présentation devant le Comité Régional Phyto (Louvain-la-Neuve) de propositions pour le monitoring des eaux de surface en Région Wallonne.

17-18.06.97 : Réunion de travail INRA-IRC sur la dégradation accélérée de l'atrazine en Belgique et en France. Dijon (France).

01.09.1997 : Défense publique du mémoire (à la Faculté des Sciences Agronomiques, UCL) "Herbicides dans le lac de Louvain-la-Neuve": tentative de bilan pour l'année 1996" de J. Carlens. Promoteur.

01.09.1997 : Défense publique du mémoire (à la Faculté des Sciences Agronomiques, UCL) "Caractérisation métabolique de communautés bactériennes capables de dégrader l'atrazine" de A. Martegani. Promoteur.

Dr. S. Roels

27 - 30.09.95 : 13th European congress on Veterinary Pathology, Edinburgh.
Lezing : Gastric ulcers in slaughterpigs: a survey of the lesions and study of cytokeratin expression pattern.

10.11.1995 : Coupe seminarie georganiseerd door de " Working group on animal pathology " - Belgian Council for Laboratory Animal Science, Eli - Lilly, European Development Center, Mont - Saint - Guibert.
Lezingen :

- "Two cases of chondroma rodens or multilobular chondroma of the skull of the dog"
- "Two cases of canine ceroid lipofucsinois in adult poodles"

28.06.1996 : Coupe seminarie georganiseerd door de " Working group on animal pathology " - Belgian Council for Laboratory Animal Science, Eli - Lilly, European Development Center, Mont - Saint - Guibert.
Lezingen :

- "A cases of spinal neurofibrosarcoma in a German sheppard"
- "Fibrosarcoma of the prepuce in a pony stallion : evaluation of chemotherapy by using proliferation antigens"

24 - 28.09.96	:	Joint Meeting 14th Congress of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP) & 10th Annual Meeting of the Gesellschaft für Toxicologische Pathologie, Gent. Lezing : "Juvenile nephropathy in a Weimaraner dog"
25.10.1996	:	Maagulcera bij varkens: recente ontwikkelingen. Post Universitair Onderwijs , Cursusnummer 19: Evolutie van enkele belangrijke aandoeningen van het maag-darm stelsel bij het varken. Lezing : "Maagulcera bij varkens : recente ontwikkelingen"
18.04.1997	:	Coupe seminarie georganiseerd door de " Working group on animal pathology " - Belgian Council for Laboratory Animal Science, Eli - Lilly, European Development Center, Mont - Saint - Guibert, 18 april 1997. Lezing : "Malignant melanoma of the Third Eyelid (Nicttating membrane) in a cat"
16 - 19.09.97	:	Meeting 15th Congress of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP) Sassari - Alghero, Italië. Lezing : "Melanomas in domestic Animals : An Immunohistochemical Study of Proloferation Activity, using PCNA and Ki67 expression"
17.10.1997	:	Coupe seminarie georganiseerd door de " Working group on animal pathology " - Belgian Council for Laboratory Animal Science, Eli - Lilly, European Development Center, Mont - Saint - Guibert.
26 - 28.11.97	:	Interne kawaliteitsaudit volgens CCKL - praktijkrichtlijnen : Opleiding tot interne auditor, ingericht door " Laboratorium Accreditatie Benelux - Merksem " Pieters Consulting BVBA, Kasterlee.

Dr. ir. P. Scokart

26.9-1.10.95	:	International workshop on phosphorus loss to water from agriculture. Wexford. Ireland.
24.01.1996	:	Journée d'étude: Les analyses de flux de substances en tant qu'instrument de politique. Bruxelles.
16-18.04.96	:	6 Gumpensteiner Lysimetertagung "Lysimeter im Dienste des Grund-wasserschutzes". Irdning, Austria.
08-15.9.96	:	IXth International colloquium for the optimization of plant nutrition. Improved application of fertilizers in respect to the environment. Prague.
05.12.1996	:	Studiedag "Precisie in de landbouw". Heverlee.
29.05.1997	:	Studiedag "Fosfaatverzadiging van zandige bodems in Vlaanderen", Vlaamse Landmaatschappij, Meise.

Dr. D. Vandekerchove

07.12.1995	:	Studiedag World Rabbit Science Association België. Morbecque, Frankrijk
23.05.1996	:	Studiedag World Rabbit Science Association België. Temse.
09-12.07.96	:	6th World Rabbit Congress.Toulouse, Frankrijk.
18-23.08.96	:	8th International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology Division (IUMS). Jerusalem, Israël.
13.09.1996	:	Studienamiddag World Veterinary Poultry Association. België. Merelbeke.
18.09.1996	:	Seminar on Bacterial Adhesins in Veterinary Medecine. NIDO. Geven van een lezing.
25.10.1996	:	Studienamiddag World Veterinary Poultry Association. België. Merelbeke.
29.10-01.11.96	:	ELISA - Methoden en Diagnostiek. Cursus TMB, Hogeschool West-Brabant, Nederland.

26.11.1996	:	Studienamiddag World Rabbit Science Association. België en Nederland. Geel. "Het Wereldcongres te Toulouse : Recente Ontwikkelingen". Geven van het verslag van de pathologie sessie.
11.04.1997	:	Studienamiddag World Rabbit Science Association. België. Puurs.
18.04.1997	:	Studienamiddag World Veterinary Poultry Association. België. St. Niklaas.
06.05.1997	:	Studienamiddag Nationaal Centrum voor Beroepsvorming in de Landbouw. "Colibacillose bij Konijnen". NIDO. Geven van de lezing.
27.06.1997	:	Studienamiddag World Veterinary Poultry Association. België. Drongen.
13.8.1997	:	VEPEK Werkgroep "Konijnen", Gent (Welzijn van konijnen, Sanitel-K, steunmaatregelen konijnenbedrijven, invoer van konijnenvlees, VLAM-promotieprogramma)
29.9.1997	:	VEPEK Werkgroep "Konijnen", St. Niklaas (Rendabiliteit van de Belgische konijnenhouderij, Sanitel-K, VLAM-promotieprogramma)
1.10.1997	:	WVPA studienamiddag, Merelbeke (Samenvattende beschouwingen ivm het 11e internationaal WVPA congres, Boedapest, 18-22 aug. 1997)
25.11.1997	:	Studiedag WRSA Nederland, Utrecht : geven van een lezing : "Coccidiose bij het konijn en behandeling in de praktijk"
26.11.1997	:	WRSA studienamiddag, Merelbeke (Staphylococcose, KI, enteropathie : stand van zaken)
7.12.1997	:	studienamiddag WRSA Frankrijk, Parijs (Enteropathie : stand van zaken)
5.12.1997	:	WVPA studienamiddag, Merelbeke (Management, voeding en pathologie bij kip, kalkoen, fazant of patrijs)

Dr T.P. van den Berg

26-28.06.1996	:	Paris, Euroconférence Pasteur Emerging Viruses : their changing ecological pattern.
29.04.1997	:	Leipzig Veterinary Medecine University, Institute for Virology, Germany. Invited speaker "Antigenic variation and increased virulence in IBDV : implications for the control of the disease".
03.06.1997	:	Réunion du groupe de travail Belnet, Gembloux. Présentation d'une communication sur les virus informatiques.
18-22.08.1997	:	XIth International Congress of te World veterinary poultry Association, Budapest, Hungary. une présentation orale et un poster.
01.10.1997	:	"Overzicht van lezingen gehouden op het 11de Internationaal WVPA Congres in Budapest": virology, diagnosis in the age of molecular biology and immunology, Merelbeke, Faculteit Diergeneeskunde
27.11.1997	:	DES en Biologie moléculaire et cellulaire appliquée (FUNDP Namur & FSA Gembloux): séminaire intitulé: Influenzas Aviaires: Impact économique et portée écologique".
09-10.12.1997	:	Current situation of Newcastle disease in industrial poultry flocks in Belgium. Joint Annual Meeting of European Union National Newcastle Disease and Avian Influenza laboratories, Brussels, - Meulemans G., van den Berg T.P.
09-10.12.1997	:	Acute pancreatitis in chickens due to lentogenic Newcastle disease virus. Joint Annual Meeting of European Union National Newcastle Disease and Avian Influenza laboratories, Brussels, - G. Meulemans, S. Roels, T.P. van den Berg, J. Godfroid, M. Decaesstecker.

Ir. H. Vanderhallen

16.09.1995	:	Seminarie "Quantitative PCR", DWI, Diepenbeek.
26-29.09.95	:	"EEC seminar on pestiviruses", in het kader van de jaarlijks meeting van de "EEC National Swine Fever Laboratories", Madrid, Spanje.
29.09.1995	:	Eerste meeting FAIR project over KVP, Madrid, Spanje.
16-20.10.95	:	Workshop: "Antigen and antibody detection of EMCV by ELISA" in het kader van AIR-project, Brescia, Italië.
19-20.10.95	:	Vierde meeting AIR-project over EMCV, Brescia, Italië. Geven van een lezing: "RT-PCR for the diagnosis of an EMCV infection in pigs."
26. 11.1995	:	Werkbezoek aan het demonstratiecentrum van Perkin Elmer in verband met het sequeneren van viraal DNA, Amersfoort, Nederland.
02.05.1996	:	Seminarie georganiseerd door Perkin Elmer: "PCR: a new indispensable tool for gene detection and quantitation", Antwerpen.
03-05.06.96	:	Jaarlijkse meeting NSFL, Alghero, Italië. Geven van een lezing. "RT-PCR for the detection of CSFV in serum samples and meat in reference to standard diagnostic methods."
25-27.05.96	:	Vijfde meeting AIR-project over EMCV, Thessaloniki, Griekenland. Geven van volgende lezingen: - "Validation of a RT-PCR for the diagnosis of EMCV." - "Evaluation of Mabs based LPC Elisa for the detection of EMCV specific antibodies."
07-10.07.96	:	14th International Pig Veterinary Society Congress, Bologna, Italië. Houden van een lezing: "RT-PCR for the detection of CSFV in clinical samples in reference to standard diagnostic methods." Poster: "Clinical and pathological aspects of EMC-virus infections in pigs in Belgium." Lezing: "Epidemiologic, pathogenic and molecular analysis of the first EMC outbreak in fattening pigs in Belgium."
11-18.08.96	:	Xth International Congress of Virology, Jerusalem, Israel. Met volgende posters: - "Development and validation of a RT-PCR assay for the diagnosis of EMCV infections in pigs." - "Comparative study of the pathogenic properties of recent EMCV isolates for sows in gestation."
02-04.10.96	:	Stage bij Perkin Elmer in verband met het gebruik van de ABI PRISM 310 Genetic Analyzer, Nieuwerkerken a/d IJssel, Nederland.
20-21.11.96	:	Organiseren van de workshop over diagnose van EMCV door PCR en sequeneren in het kader van het AIR-project over EMCV, Ukkel.
22.11.1996	:	Zesde meeting AIR-project over EMCV, Ukkel. Geven van volgende lezingen: - "Applicability of a RT-PCR for the diagnosis of EMCV for molecular typing." - "Evaluation of Mabs based LPC Elisa for the detection of EMCV specific antibodies."
30.01-01.02.97	:	Derde meeting FAIR-project over CSFV, Perugia, Italië. Geven van volgende lezingen: - "Biological stability of CSFV." - "Molecular characterisation of Belgian CSFV isolates."
14.06.1997	:	Vierde meeting FAIR-project over CSFV, Wenen, Oostenrijk. Geven van volgende lezingen: - "Biological stability of CSFV."

- "Molecular characterisation of Belgian CSFV isolates."

16-17.06.97 : Jaarlijkse meeting NSFL, Wenen, Oostenrijk. Geven van een lezing:
- "Molecular characterisation of CSFV isolates collected in Belgium since 1988."

24-27.08.97 : 4th International Congress of Veterinary Virology, Edinburgh, Schotland:
Voorstelling poster: "Identification of EMCV in clinical samples by RT-PCR followed by genetic typing using sequence analysis."
Lezing: "Epidemiologic and molecular characteristics of recent EMC outbreaks in Belgium." -

20-11-1997 : 5th Annual meeting of the Belgium Society for Veterinary Epidemiology and Economics, Boxtel, Nederland.

Dr ir V. Vanderheyden

25-27.09.95 : Réunion de travail regroupant tous les participants au projet UE: "Subsurface degradation of herbicides in Northen en Southern Europe". Couvin.

13-15.05.96 : Cost 66 meeting "Pesticides in soil and the Environment". Stratford-upon-Avon, UK. Présentation d'une communication par poster sur la dégradation et minéralisation rapides de l'atrazine dans le sous-sol.

16-17.10.96 : Final workshop du projet européen "Subsurface degradation of herbicides in Northen and Southern Europe". Reading, UK. Présentation et discussion des résultats obtenus en Belgique au cours de la 3ème année du projet.

31.01.1997 : Présentation et défense d'une thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques intitulée "Potentialités du sol et du sous-sol dans la dégradation de l'atrazine". UCL, Faculté des Sciences Agronomiques, Louvain-la-Neuve (co-promoteurs: prof. Delvaux et Pussemier).

ir. K. Vandermeiren

16-19.01.96 : UN/ECE ICP-Crops 9th Task Force Meeting, Forssa, Finland. Mededeling + poster: "Results on the 1995 field experiments with *Phaseolus vulgaris* in pots compared with fumigation experiments". Mededeling: "Biomonitoring of heavy metals with grass cultures".

15-17.01.97 : UN/ECE ICP-Crops 10th Task Force Meeting, Bern, Zwitserland. Poster: "Polyamine response to ozone in O_3 sensitive en -tolerant clover clones", K. Vandermeiren, J. Geuns, L. De Temmerman.

21.03.1997 : Studiedag V.V.P.F.: Interactie Plantenfysiologie en Milieu, Limburgs Universitair Centrum, Diepenbeek. Mededeling: Plantfysiologische effecten van troposferisch ozon.

25-28.09.97 : Effects of atmospheric CO_2 increase on carbon fluxes in grassland ecosystems. Cost 619 Action, Wenen, Oostenrijk.

07.11.1997 : Symposium : "the dangers of aerobiosis : oxygen stress and free radicals", RUCA, Antwerpen

12-13.12.97 : Chlorophyll fluorescence techniques in tree physiology research. Cost Action E6 Eurosilva, Birmensdorf, Zurich, Zwitserland

Dr ir N. Van Huynh

17- 24.03.95	:	7th European Congress on Biotechnology. Nice, France. Communication par poster.
27.03.1995	:	Rencontre Coulter USA. Gent.
12.05.1995	:	PCR Seminar. Rotterdam, Pays Bas.
22.05.1995	:	Seminar on expression system. Bruxelles.
14.06.1995	:	Réunion du collège d'experts à l'IRSIA. Bruxelles.
13.10.1995	:	Séminaire sur l'automation en biologie moléculaire. Grimbergen.
27.10.1995	:	Séminaire sur la Chromatographie. Anwerpen.
14.11.1995	:	Seminar "The Road to Production". Leuven.
21.11.1995	:	Séminaire sur l'ultracentrifugation. Dilbeek.
03.02.1996	:	Séminaire "Extending the limits of DNA amplification and RT-PCR". Woluwé.
08-11.03.96	:	Congrès sur l'enzymologie de la chitine. Senigallia, Italie. Présentation d'une publication.
02.05.1996	:	Congrès sur la PCR. Edegem.
03.06.1996	:	Séminaire sur l'interaction des molécules biologiques et acides nucléiques. Breda, Pays Bas.
18.11.1996	:	Accelerating gene discovery and mutation detection seminar. Antwerpen.
26.02.1997	:	Journée d'études du Système HPLC Milennium. Liège.
13.03.1997	:	Séminaire de biologie moléculaire. Grimbergen.
24.04.1997	:	Journée d'études de biologie moléculaire. Bruxelles.
06.05.1997	:	European Biopharmaceutical Seminar Tour. Grimbergen.
15-17.10.97	:	Second European meeting on Diagnostic PCR. Den Haag, Pays-Bas.
04.11.1997	:	Apoptosis Seminar, Bruxelles.
27.11.1997	:	Molecular Probes Seminar, Leiden, Pays-Bas.
04.12.1997	:	Séminaire "Etude des interactions moléculaires", Woluwé;

Dr E. Vanopdenbosch

04.10.1995	:	Postuniversitair Onderwijs Diergeneeskunde te Gent. Lezing: "Casuïstieken van virale ademhalingsaandoeningen bij rundvee."
14.10.1995	:	Journée d'étude de la Société Belge de Buiatrie, Sart-Tilman.
22.11.1995	:	Studiedag BVD diagnose, Haasrode.
19.12.1995	:	Studiebijeenkomst veehouders Tielt-Winge. Lezing: "Virale ziekten bij rundvee."
08.02.1996	:	Wetenschappelijke bijeenkomst: "Prionziekten bij mens en dier, relevantie voor de bloedtransfusie." ID-DLO, Lelystad, Nederland.
20.03.1996	:	Practicum virologie, UG, 2de proef diergeneeskunde. Lezing "Casuïstieken van virale aandoeningen bij runderen (BRSV, BHV1 en BVD)."
19.04.1996	:	Postuniversitair Onderwijs Diergeneeskunde te Gent. Lezing: "Epidemiologische aspecten van de BSE epidemie in het Verenigd Koninkrijk en vasteland Europa, en de gevaren voor de volksgezondheid."
03.05.1996	:	Vergadering Diergeneeskundige Dienst te Ukkel. Lezing: "Huidige stand van zaken betreffende BSE en de gevaren voor de volksgezondheid."
06.05.1996	:	Bezoek murray gouldburn australian dairy farmers te Gent. Lezing: "The BSE epidemic in the U.K. and the risk for human health."
07.05.1996	:	Bezoek studenten Faculteit Landbouwwetenschappen KUL aan het NIDO.

Lezingen: "Taken van het CODA en het aandeel van de veeteelt in de landbouwfinanciën". "Actuele stand van zaken betreffende BSE en het verband met de ziekte van Creutzfeldt-Jakob bij de mens."

24.05.1996 : Conferentie voor de Waalse dierenartsen te Waver.
Lezing: "Epidémiologie de la BSE et les risques pour la santé humaine."

28.05-01.06.96 : BSE inspectiemissie van de EU in het Verenigd Koninkrijk.

27.09.1996 : Meeting of the Italian Dairy Cow Association, Cremona, Italië
Lezing: "La diarrea virale del vitello: prevenire è guadagnare."

01-15-17.10.96 : IBR informatievergaderingen te Brussel, Tielt en Kasterlee.
Lezing: "De IBR bestrijding in de Europese Unie."

08.10.1996 : Réunions d'information sur l'IBR à Maisières et Barvaux-Condroz.
Lezing: "Le contrôle de l'IBR dans l'Union Européenne."

09.10.1996 : Réunion du Groupe ad hoc de l'OIE sur les encéphalopathies spongiformes transmissibles: coordination des recherches et des études épidémiologiques. Paris.

22.11.1996 : COST 825 network WGIV Seminar, Gent: "50 years of lactation biology and pathology."
Lezing: "Spongiform encephalopathy in the bovine and other species: diagnosis, pathogenesis and epidemiology."

25.11.1996 : Wellcome Trust Scientific Meeting, London
"The epidemiology of BSE and scrapie in Europe."

26.11.1996 : Sectordag rundvleesproductie, CODA, Tervuren.
Lezing: "Infectieuze diarree bij kalveren: etiologie en preventie."

28.11 - 5.12.96 : Voorlichtingsvergaderingen voor de grote huisdierenpractici van West-Vlaanderen te Rumbeke.
Lezingen: " Het bewakingsplan voor overdraagbare spongiforme encefalopathieën, Mond- en Klauwzeer en het IBR bestrijdingsplan."

03.12.1996 : De Ieperse dierenartsenkring, Ieper.
Lezing: "BSE en de gevolgen voor de landbouw en de volksgezondheid."

06.12.1996 : Postuniversitair Onderwijs Diergeneeskunde te Gent.
Lezing: "de diagnostiek van BVD en het bestrijdingsplan in België."

14.12.1996 : Nationale Vereniging van reserveofficieren van de Medische dienst. Gent.
Lezing: "La BSE: une anthropozoonose?"

17.12 - 20.12.96 : Voorlichtingsvergaderingen voor de grote huisdierenpractici van Oost-Vlaanderen te Sint-Niklaas
Lezingen: "Het bewakingsplan voor overdraagbare spongiforme encefalopathieën, Mond- en Klauwzeer en het IBR bestrijdingsplan."

17.12.1996 : Leuvense Dierenartsenkring, Lubbeek.
Lezing: "De IBR eradicatie in Europees verband en het Plan in België."

10.01.1997 : Postuniversitair Onderwijs Diergeneeskunde te Gent.
Lezing: "Het bestrijdingsplan voor IBR in België."

06.02.1997 : Studievergadering Nationaal centrum voor de beroepsvorming in de landbouw. Vleesveehouders van Oost-Vlaanderen, Beervelde.
Lezing: "De bestrijding van IBR in België en in Europa."

20.02.1997 : BHV1 eradication and control meeting. Brussels.
Lezingen:
- " EU overview of BHV1 status".
- "The Belgian BHV1 control and eradication plan."

13.03.1997 : Enfer Scientific Meeting, Dublin, Ireland.
" Evaluation of the Enfer BSE ELISA testing system on carcasses."

28.05.1997 : Limburgse en Brabantse dierenartsen, Bokrijk.
Lezing: "BSE: stand van zaken in Europa en de nieuwe reglementering in België."

04.06.1997 : Limburgse en brabantse dierenartsen, Bokrijk.
Lezing: "de IBR bestrijding in de Europese Unie."

27.06.1997 : IBR international workshop, Maastricht, Nederland.
Lezing: "Qualifying and monitoring of IBR-free herds in the Belgian eradication programme."

Dr. K. Walravens

04-08.05.97 : 97th meeting of American Society for Microbiology, Miami, U.S.A. Poster : Responses Against Tuberculin and Various Purified Mycobacterial Antigens in *M. bovis* Infected Cattle.

Studiedagen ingericht door het CODA

Journées d'étude organisées par le CERVA

18.09.1996	:	Adhésines : P. Pohl, H. Imberechts, J. Peeters : Seminar on bacterial adhesins in veterinary medicine.*Escherichia coli* strains colonizing the gut of cattle, implications for virulence. (présenté par J.Mainil).
15.10.1996	:	Réunion d'information pour le Conseil du Fonds Sanitaire : J. Peeters, K. De Clercq, K. Knapen, H. Imberechts, G. Meulemans, F. Boelaert, J. Godfroid.
22.11.1996	:	"Salmonella, de Zoönosenrichtlijn, en de Pluimveesector in België": Y. Botton, J. Derijcke, M. Desmidt (ter vervanging van R. Ducatelle), H. Imberechts, G. Lamsens, P. Pohl, D. Van Meerhaeghe, M. Verlinden, R. Wijffels.
12.12.1996	:	Bacteriële kalverdiarree : P. Pohl, H. Imberechts
11-12.04.97	:	COST 820 WG 3 Meeting : "Immunological, molecular and other techniques needed for studies on the biology of *Cryptosporidum* ". D. de Graaf, J.Peeters, O. Brandonisio, L.M. Ortega-Mora, P. Kamaris, M.A. Gomez Morales, F. Petry, S. Sagodira, G. Mulcahv, J. Eckert, K.A. Webster, O. Ditrich, W.L. Homan, A. Bonnin, A. Clavel.

Inhoudstafel

Voorwoord 3
Wetenschappelijke Raad - CODA - Ukkel (van 01.07.95 tot 20.06.97) 10
Wetenschappelijke Raad - CODA - Tervuren (van 01.07.95 tot 20.06.97) 12
Wetenschappelijke Raad van het CODA (vanaf 21.06.97) 14
Raad van Beheer van de Rechtspersoonlijkheid - CODA - Ukkel (van 01.07.95 tot 19.12.97) 16
Raad van Beheer van de Rechtspersoonlijkheid - CODA - Tervuren (van 01.07.95 tot 19.12.97). 18
Raad van Beheer van de Rechtspersoonlijkheid van het CODA (vanaf 19.12.97) 20
Aanwervings en bevorderingscommissie - CODA - Ukkel (van 01.07.95 tot 20.06.97) 22
Aanwervings en bevorderingscommissie - CODA - Tervuren (van 01.07.95 tot 20.06.97) 24
Aanwervings en bevorderingscommissie van het CODA (vanaf 21.06.97) 26
Personneelskader - Campus Ukkel 31
Personneelskader - Campus Tervuren 41
Dienstverlening 47
Focus 61
Onderzoekingsprogramma's 105
Wetenschappelijke publicaties 135
Congressen, seminaries, stageperioden, lezingen 225
Studiedagen ingericht door het CODA 253

Table des matières

Avant-propos 3
Conseil scientifique du CERVA - Uccle (01.07.95 - 20.06.97) 11
Conseil scientifique du CERVA - Tervuren (01.07.95 - 20.06.97) 13
Conseil scientifique du CERVA (à partir du 21.06.97) 15
Conseil de Gestion de la Personnalité Juridique CERVA - Uccle (du 01.07.95 - 19.12.97) 17
Conseil de Gestion de la Personnalité Juridique CERVA - Tervuren (du 01.07.95 - 19.12.97) 19
Conseil de Gestion de la Personnalité Juridique CERVA (à partir du 19.12.97) 21
Jury de Recrutement et de Promotion CERVA - Uccle (du 01.07.95 - 20.06.97) 23
Jury de Recrutement et de Promotion CERVA - Tervuren (du 01.07.95 - 20.06.97) 25
Jury de Recrutement et de Promotion CERVA (à partir du 21.06.97) 27
Cadre du Personnel - Campus Uccle 31
Cadre du Personnel - Campus Tervuren 41
Activités de service 47
Focus 61
Programmes de recherches 105
Publications scientifiques 135
Congrès, séminaires, stages, conférences 225
Journées d'études organisées par le CERVA 253

CODA - CERVA - VAR

CENTRUM VOOR ONDERZOEK IN DIERGENEESKUNDE EN AGROCHEMIE
CENTRE D'ETUDE ET DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES ET AGROCHIMIQUES
VETERINARY AND AGROCHEMICAL RESEARCH CENTRE

GROESELENBERG 99
B 1180 BRUSSEL / BRUXELLES

TEL: +32 (0)2 375 44 55
FAX: +32 (0)2 375 09 79
HTTP://WWW.VAR.FGOV.BE

LEUVENSESTEENWEG 17
B 3080 TERVUREN

TEL: +32 (0)2 769 22 00
FAX: +32 (0)2 769 23 05
HTTP://WWW.VAR.FGOV.BE