



*Journée nationale technique du 11 janvier 2013
Le protocole national de diagnostic différentiel
des avortements chez les bovins*

Un exemple de recherche

**Apport de la recherche directe
et d'une démarche standardisée**

R. Guatteo

Un Réseau de Partenaires

Equipe de Recherche

- UMR BioEpAR

Laboratoires d'analyses

- ISAE35, LDA56, LASAT

Groupements de Défense Sanitaire

- UBGDS

Un fabricant de réactifs

- LSI

Un creuset



Consensus autour de la « frustration »
concernant les méthodes « directes »

1 opportunité: PCR « multi-agents »

Protocole mis en oeuvre

Prélèvements

- 888 avortements inclus (2/3 Laitier, 1/3 Allaitant), >70% avortements répétés
- Sur écouvillon vaginal (en l'état ou fait sur placenta)
- PCR « multi-agent » : Trousse SAR LSI

Détection concomitante de 8 agents à ADN

- *Coxiella burnetii*
- *Chlamydophila abortus*
- *Anaplasma phagocytophilum*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella* spp
- BHV 4
- *Campylobacter fetus fetus et venerealis*
- *Leptospira* spp (pathogènes)

		ech 1	ech 2	ech 3	ech 4	ech 5	ech 6	ech 7	ech 8	ech 9	ech 10	ech 11	ech 12
PCR duplex	<i>Coxiella b.*</i>												
	<i>Chlamydia spp.*</i>												
PCR simplex	<i>Listeria monocytogenes</i>												
	<i>Salmonella spp.</i>												
	<i>Campylobacter fetus</i>												
	<i>Leptospira pathogènes</i>												
	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>												
	BHV4												

* validation IPC de l'ensemble des PCR du kit "avortement" pour chaque échantillon

Résultats : Au global

Cibles	Total (%)
<i>Coxiella burnetii</i>	17.12
<i>Chlamydophila abortus</i>	1.01
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	1.19
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	0.19
<i>Campylobacter</i> (ff, v)	0.34
BHV 4	1.69
<i>Total</i>	33.3

Réel intérêt d'une détection simultanée
Confirme les rangs de recherche
Voire écarte certains agents en 1-2^{ème} intention (Chlam)

Bonus

PCR Néosporose sur encéphale

6 pos / 85

BVD

0 pos sur 57

Schmallenberg

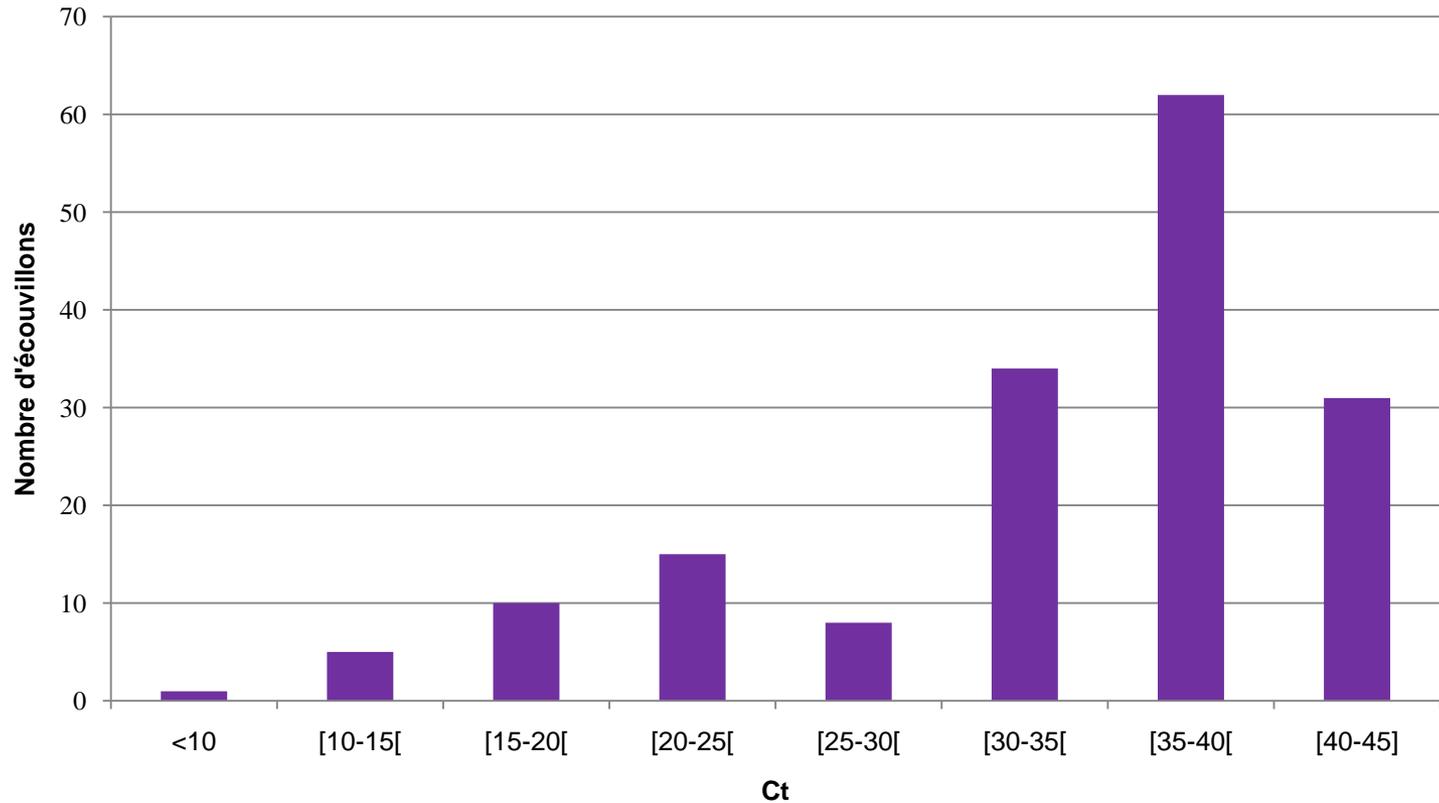
16 pos /103

Des constantes et des préférences régionales

Cibles	LASAT 79-86	ISAE 35	LDA 56	Total
Coxiella	19.2	9.7	22.0	17.12
Chlam	2.1	0.4	0.4	1.01
Listeria	1.2	1.4	1.8	1.46
Salmo	0.9	9.0	3.2	4.17
Lepto	0.9	2.2	1.1	1.35
Anaplasma	5.2	5.8	7.8	6.19
Campylo	0.3	0.7	0.0	0.34
BHV	3.4	0.4	1.1	1.69
<i>Total</i>	33.2	29.5	37.2	33.3

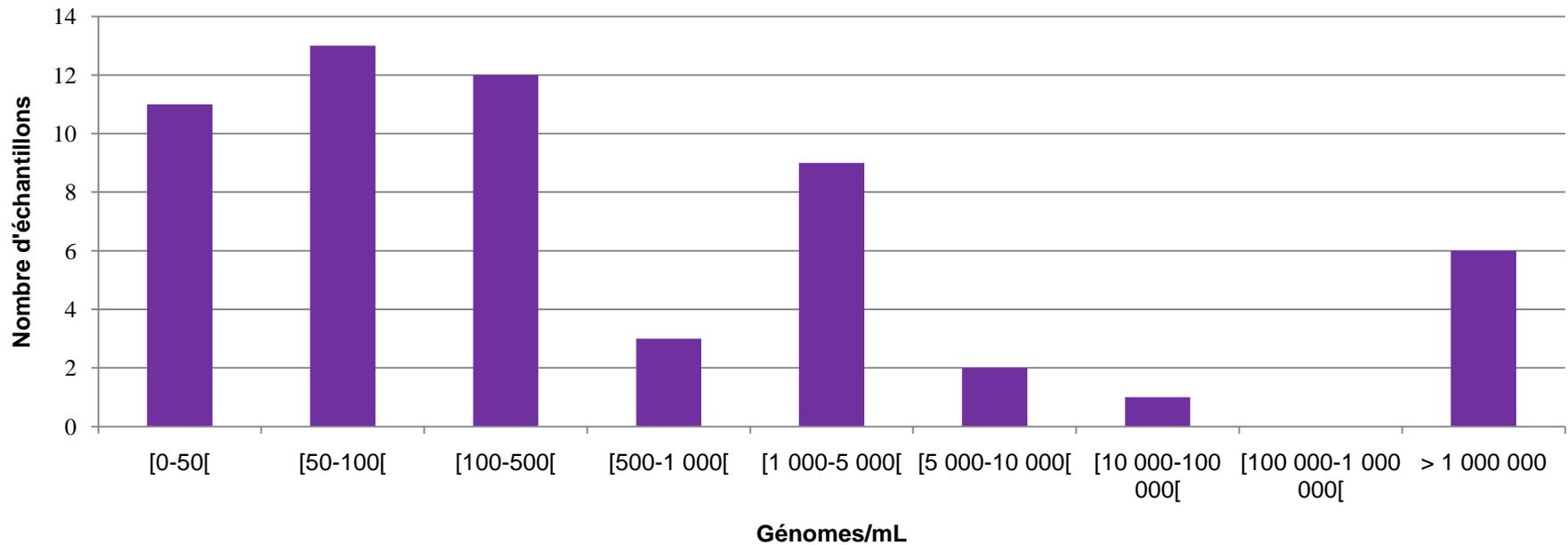
- Confirmation Cible FQ « partout »
- Confirmation du besoin de cibles « locales »
- Anaplasma à considérer plus tôt ?
- Analyses en cours (moment avortement, saison, délai prélèvement...)

Focus FQ : Distribution Ct



Quid imputabilité ?
Besoin quantification et sérologies

Focus FQ : Quantification



N=51 échantillons LASAT

Gamme Ct : 8-40

Ct<30 : tous >10⁴

Focus FQ : Sérologies (Morbihan)

Sérologies concomitantes		PCR		Total
		PCR -	PCR +	
Pas réalisées/disponibles		178	48	226
Sérologies (>5 animaux)	0%	0	1	1
]0-50% sero + [28	8	36
	[50% séro + et plus	12	5	17
Total		218	62	280

Détection « précoce » du fait étude/sensibilisation

Choix des animaux prélevés ? : dilution potentielle par témoins

- Choix primordial : animaux malades

Intérêt de collecter/centraliser données

- Réactualiser les recommandations

Co-infections ?

Co-infections ?

Sur les données de 736 avortements

230 positifs

→ 10% seulement (n=24) positifs à plusieurs cibles (BHV, FQ)

Combinaisons	Nombre
FQ/Anaplasma	8
FQ/Listeria	3
FQ/Salmo	3
FQ/BHV	2
FQ/Lepto	1
FQ/Chlam	1
Salmo/Lepto	2
Salmo/Anaplasma	1
BHV/Chlam	1
BHV/Anaplasma	1
<i>Total</i>	<i>24</i>

Effet fréquence ?
Agent toujours
présent ?

Au final

FQ confirmée comme maladie abortive majeure

Moins de co-infections que initialement suspecté

Des signaux originaux : *Anaplasma Phagocytophilum*

Intérêt de la recherche directe concomitante

“Elucidation” : 33% environ seulement

Matrice écouvillon utilisable : standardisation ++

Envoi de l'avorton : idéal !!!

Mais quand on coupe avec les analyses sérologiques autres (Néospora/BVD)

On arrive à 50-60% d'élucidation au mieux

Besoin d'appliquer une démarche standardisée
Analyser rétrospectivement pour élaborer version mise à jour