

Par Renée de CRÉMOUX⁽¹⁾, Céline POUGET⁽²⁾, Christophe LACZ⁽³⁾

1. Institut de l'Élevage, UMT Santé des Petits Ruminants. BP 89. La Milliassolle. 81 003 ALBI CEDEX

2. FODSA-GDS12. Avenue des Ébénistes. Parc d'activité de Bel Air. 12032 RODEZ CEDEX

3. FRGDS Midi-Pyrénées. 96, rue des Agriculteurs. BP 102. 81 003 ALBI CEDEX

renee.decremoux@idele.fr

Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants en Midi-Pyrénées

Une démarche de diagnostic différentiel de première intention pour les avortements de fin de gestation des petits ruminants a été mise à l'épreuve du terrain en région Midi-Pyrénées. Les résultats encourageants incitent à une évaluation plus large dans d'autres contextes épidémiologiques.

RÉSUMÉ

Un protocole de diagnostic différentiel pour les avortements de fin de gestation chez les petits ruminants appliqués aux maladies de première intention a été testé en région Midi-Pyrénées par des structures vétérinaires motivées et volontaires, dans le cadre d'une étude pilotée par la Fédération régionale des groupements de défense sanitaire. Au cours des deux ans d'étude, 106 séries d'avortements ont été analysées. Elles ont concerné majoritairement des cheptels ovins. En combinant les analyses de diagnostic direct (analyses PCR ou bactériologiques) et indirect (analyses sérologiques) et en interprétant les résultats pour l'ensemble de la série abortive (diagnostic de groupe), le taux d'élucidation des causes des séries abortives a été estimé à près de 70 %. Les résultats de l'étude confirment le caractère enzootique de la chlamydie, de la toxoplasmose et de la fièvre Q en Midi-Pyrénées et l'existence de co-infections ou de co-circulations fréquentes des agents pathogènes recherchés (35 %).

En filières de ruminants, les avortements constituent un sujet de préoccupation majeur en raison de leur incidence économique (baisse de productivité numérique, nouveau-nés chétifs...) et sanitaire. Ils constituent un signe d'appel en matière de brucellose et font, à ce titre, l'objet d'une surveillance événementielle. Dans le contexte épidémiologique actuel de la brucellose (situation assainie depuis 2003, France officiellement indemne depuis décembre 2014 à l'exception d'un département), une approche globale des avortements, de leur diagnostic et de leurs enjeux est apparue nécessaire. Il s'agissait notamment de structurer et d'harmoniser l'analyse étiologique des avortements en intégrant une dimension collective (interprétation pour l'ensemble de la série abortive: diagnostic de groupe), avec un double objectif: améliorer les taux d'élucidation et proposer des mesures de maîtrise adaptées. De là a résulté un travail de concertation et d'échanges entre l'ensemble des parties prenantes (État, chercheurs, vétérinaires, grou-

pements de défense sanitaire, laboratoires de référence et laboratoires d'analyse).

Pour les petits ruminants, un protocole de diagnostic différentiel des maladies abortives de première intention a été proposé en 2013 par un groupe de travail multipartenarial animé par l'Unité mixte technologique (UMT) « Maîtrise de la Santé des Petits Ruminants ». La démarche ainsi définie a été soumise à l'épreuve du terrain au travers d'une étude pilotée par la Fédération régionale des groupements de défense sanitaire (FRGDS) Midi-Pyrénées. Elle a été mise en place dans l'ensemble des départements de la région en s'appuyant sur un ensemble de cabinets vétérinaires motivés et volontaires. Il s'agissait d'évaluer la faisabilité de la démarche diagnostique, d'en estimer la pertinence, au travers, notamment, des taux d'élucidation obtenus, et d'identifier les éléments organisationnels, analytiques et méthodologiques pouvant nécessiter une évolution.

Cet article présente les principaux enseignements issus de cette étude.

Définition du protocole d'étude

Démarche de diagnostic différentiel : un diagnostic de groupe

Les critères d'inclusion des séries abortives ont pris en compte les évolutions récentes de la définition réglementaire de l'avortement, d'une part, des seuils de déclaration des avortements, d'autre part. Ainsi, a été considéré comme un avortement potentiellement infectieux toute expulsion d'un fœtus ou d'un animal mort-né ou succombant dans les douze heures suivant la naissance, à l'exclusion des avortements d'origine manifestement accidentelle. On s'est, en outre, intéressé exclusivement à des séries d'avortements rapprochés dans le temps, soit *a minima* 3 avortements enregistrés sur une période de 7 jours ou moins [1].

Cinq maladies abortives prépondérantes ont été recherchées: fièvre Q, chlamydie, toxoplasmose, salmonellose à *Salmonella Abortusovis*, et Border Disease. Les trois premières sont incluses dans un socle national, commun aux caprins et aux ovins, de maladies à rechercher en première intention. L'intégration ou non de la salmonellose abortive ovine et de la Border Disease dépend théoriquement du contexte épidémiologique local ou régional [2]. Dans le cadre de l'étude, il a toutefois été décidé

de les rechercher systématiquement, indépendamment de l'espèce ou du secteur géographique d'intervention.

La démarche diagnostique mise en œuvre, les arbres décisionnels et les grilles d'interprétation adoptés ont été décrits par de Crémoux *et al.* (2013) [2]. Seuls les principes de cette démarche seront récapitulés ci-après. Elle a ainsi reposé sur la réalisation d'un diagnostic de groupe, c'est-à-dire qu'elle s'est appuyée sur un ensemble d'analyses de diagnostic direct (PCR, bactériologies) ou indirect (sérologies) conduites sur plusieurs animaux (femelles ayant avorté, congénères du même lot ou animaux sentinelles) et est fondée sur l'interprétation d'une combinaison de résultats [2] (Tableau 1). Le diagnostic direct a systématiquement été privilégié (Photo 1). Pour ce faire, les matrices privilégiées ont été les écouvillons de mucus vaginal pour la chlamydie et la fièvre Q. Pour les autres maladies, la recherche des agents infectieux a pu être conduite :

- Sur les organes de l'avorton : en cas de positivité, imputation possible de l'avortement à l'agent identifié ;
- Ou sur les houppes cotylédonaires, en évitant les contaminations d'origine environnementale et en veillant à prélever les zones placentaires macroscopiquement lésées.

Le principe d'un recours à des analyses en mélange a été retenu pour :

- La fièvre Q: analyse quantitative possible de 3 écouvillons de mucus vaginal ;

TABLEAU 1. Nombre et nature des matrices à prélever, type d'analyses à réaliser pour les différentes maladies abortives de première intention visées

	Maladie ciblée	Matrice	Analyses
Diagnostic direct	Fièvre Q	Écouvillon de mucus vaginal	2 PCR (individuelles ou en mélange de 3)
	Chlamydie		3 PCR individuelles
	Toxoplasmose	Organes d'avorton (encéphale de préférence) ou placenta	1 PCR mélange de 3 organes ou tissus maximum
	Border Disease	Organes d'avorton (rate, foie...) ou placenta	1 PCR mélange de 3 organes ou tissus maximum
	Salmonellose	Organes d'avorton (liquide stomacal de préférence) ou placenta	2 bactériologies (absence de mélange)
Diagnostic indirect	Fièvre Q	Sérum	10 sérologies individuelles sur femelles ayant avorté depuis plus de 15 jours (en priorité) et contemporaines à problème
	Chlamydie		2 séries de 5 sérologies à 15 jours d'intervalle sur femelles venant d'avorter et contemporaines à problème
	Toxoplasmose		2 séries de 5 sérologies à 15 jours d'intervalle sur femelles venant d'avorter et contemporaines à problème
	Salmonellose		5 sérologies sur femelles venant d'avorter
	Border disease	Sang (EDTA) ou sérum	10 sérologies sur animaux sentinelles

- La toxoplasmose: analyse d'organes des avortons (de préférence, encéphale) et/ou des houppes placentaires de la ou des femelles(s) ayant avorté, analyse de 3 organes maximum ;
- La Border Disease: analyse de mélanges (3 organes maximum) de plusieurs types de tissus ou organes (selon disponibilité: rate, foie, encéphale...) provenant d'un ou plusieurs avortons.

Les analyses sérologiques avaient pour objectif d'établir la circulation récente des agents infectieux dans les troupeaux. Elles ont donc reposé soit sur l'évaluation de séroconversions, ou plus largement de l'évolution de la réponse sérologique (chlamydie, toxoplasmose), soit sur la mesure des IgM (méthode de séroagglutination appliquée à salmonellose), soit sur l'établissement de la séroprévalence chez les femelles ayant avorté (fièvre Q) ou chez des individus sentinelles (virus de la Border Disease). Dans le cadre de l'étude, elles ont été conduites de manière systématique, de façon à disposer simultanément des informations relevant des diagnostics direct et indirect. Il s'agissait ainsi de déterminer leur intérêt relatif et de disposer de premiers éléments descriptifs pour préciser leur interprétation.

Le **Tableau 1** synthétise le nombre et le type de matrices prélevées et la nature des analyses demandées.

Aspects opérationnels : un kit de prélèvements pour plus de praticité et de standardisation

Le protocole a été mis en place dans les départements de Midi-Pyrénées en s'appuyant sur un ensemble de cabinets vétérinaires motivés et volontaires. Des boîtes de prélèvements, conçues pour répondre à la réglementation concernant le transport du matériel biologique (Norme UN3373), ont été fournies pour faciliter le recueil des échantillons (**Photo 2**). L'acheminement au laboratoire a été réalisé par Chronopost® ou en recourant à un dispositif de navette lorsque celui-ci était proposé localement.

Des fiches explicatives décrivant le matériel mis à disposition et les procédures à adopter en matière de réalisation, d'identification et d'envoi des échantillons [8], ont été communiquées aux vétérinaires. Des étiquettes pourvues de codes-barres leur ont été fournies pour faciliter l'identification des prélèvements et leur gestion au niveau du laboratoire.

La liste des commémoratifs était limitée, de façon à en favoriser le relevé et la complétude. Devaient être notées des informations descrip-



Cliché : Anses, LNR fièvre Q

Photo 1.

Le diagnostic direct a systématiquement été privilégié.



Cliché : GDS 12

Photo 2.

Des boîtes de prélèvements, conçues pour répondre à la réglementation concernant le transport du matériel biologique, facilitent le recueil des échantillons.



Cliché : GDS 12



Cliché : R. de Cremaux

Photos 3 et 4.

Avant toute analyse, l'examen clinique et le recueil des commémoratifs sont des éléments clés pour orienter le diagnostic.

tives concernant l'élevage, les mouvements d'animaux (transhumance ou achats) et l'épisode abortif (date(s) et nombre d'avortements, catégorie(s) de femelles concernées et stade de gestation, description des signes cliniques (**Photos 3 et 4**) ou des lésions observées sur les

placentas ou les avortons). Sur le plan médical, les protocoles vaccinaux vis-à-vis de la fièvre Q, de la chlamydie, de la toxoplasmose et de la Border disease devaient être succinctement décrits ainsi que la mise en place, suite aux avortements, d'une éventuelle antibiothérapie.

Des enseignements multiples

Des éleveurs réactifs confrontés à des maladies abortives enzootiques

Au cours de l'étude, 106 séries d'avortements ont été recensées et analysées. Pour certaines d'entre elles toutefois, une partie des analyses demandées ou des commémoratifs souhaités a pu faire défaut. Les résultats présentés par la suite ont été exprimés en se rapportant à l'ensemble des séries abortives pour lesquelles l'information traitée était disponible (pour les pourcentages : dénominateur différent selon la variable analysée).

Les séries abortives ont concerné des élevages ovins allaitants dans 31 % des cas ($n = 32/104$), des élevages ovins laitiers dans près de 62 % des cas ($n = 64/104$) et plus rarement des élevages caprins ($n = 8$). La taille moyenne des troupeaux était de 385 adultes pour une centaine de femelles de renouvellement (taux de renouvellement moyen estimé à 21,5 %).

Les interventions ont eu lieu à la suite d'en moyenne $7,9 \pm 6,8$ avortements (maximum de 50 avortements), ce qui témoigne dans l'ensemble d'une bonne réactivité de la part des éleveurs. Ces épisodes abortifs ont concerné indifféremment des jeunes ou des adultes, et sont survenus majoritairement dans le dernier tiers de gestation. Dans 70 élevages sur 102 (67,6 %), une stratégie vaccinale avait été mise en œuvre, la vaccination contre la chlamydie étant la plus répandue ($n = 60/102$, 58,8 %).

L'analyse des résultats de laboratoire a d'emblée témoigné du caractère enzootique de la chlamydie, de la toxoplasmose et de la fièvre Q. Ces trois maladies abortives sont en effet présentes (mise en évidence d'ADN par PCR et/ou existence d'au moins une analyse sérologique positive) dans respectivement 70,5 % ($n = 74/105$), 79,6 % ($n = 82/103$) et 76,2 % ($n = 80/105$) des séries étudiées. Pour chacune de ces maladies, une fois exclus les élevages ayant vacciné, la proportion d'élevages dans lesquels un animal au moins a été trouvé séropositif a atteint 61 % pour la chlamydie, 74 % pour la toxoplasmose et 56 % pour la fièvre Q.

Un diagnostic direct essentiel

► La fièvre Q

L'étude a confirmé la nécessité d'une quantification dès lors que les PCR sont conduites sur des écouvillons de mucus vaginal. L'ADN cible de *Coxiella burnetii* a été détecté dans 30,5 % des analyses d'écouvillons réalisées ($n = 58/190$), soit dans 49 % des élevages ($n = 51/104$). Cependant, la série abortive n'a été imputée à la fièvre Q dans les élevages que lorsque 2 PCR étaient supérieures au seuil diagnostique (10^4 *Coxiella* / écouvillon individuel, 10^3 *Coxiella* / mélange de 3 écouvillons).

Dix élevages ont ainsi été reconnus comme cliniquement atteints de fièvre Q. Des informations incomplètes (absence de quantification) ont empêché de conclure pour 4 élevages supplémentaires. À l'opposé, la fièvre Q a pu être exclue dans 23,8 % des cas ($n = 25/105$). La Figure 1 illustre, pour les 97 séries abortives pour lesquelles la séroprévalence a pu être estimée, les proportions relatives d'élevages positifs en fonction des résultats analytiques obtenus et des seuils retenus.

► La chlamydie

Sur 104 séries d'avortements, 28,8 % ($n = 30$) ont présenté au moins une PCR positive. Dans une majorité des cheptels concernés ($n = 18$; 60 %), plusieurs PCR étaient positives. Dans ce cas, la chlamydie a pu être considérée comme la cause de la série abortive sur la seule base du diagnostic direct. Aussi est-elle apparue comme une cause prépondérante d'avortements : 17 % des élevages ($n = 18/104$).

Une analyse des Ct (cycle threshold ou signal seuil) des échantillons issus de 22 séries abortives a été conduite par le laboratoire Aveyron Labo. Elle a mis en évidence l'existence de faibles niveaux d'excrétion ($Ct > 35$, voire > 38) pour une partie des échantillons⁽¹⁾ (Figure 2). Le délai entre la prise d'échantillons et la survenue de l'avortement (non précisé dans les commémoratifs) est susceptible d'interférer avec le résultat. Néanmoins, s'agissant d'analyses sur du mucus vaginal, il semblerait nécessaire de s'appuyer, comme pour la fièvre Q, sur une quantification pour distinguer une implication effective de la maladie dans les avortements d'une simple circulation de la bactérie dans l'exploitation.

► La toxoplasmose

Elle s'est révélée être à l'origine de nombreux avortements : 24 % des séries abortives ($n = 25/104$) étaient positives en PCR. En cas de positivité, les Ct rapportés ($n = 22$ séries abortives) sont apparus relativement élevés, avec une moyenne de $30,2 \pm 4,5$. À noter qu'un résultat négatif en analyse directe ne permet pas d'exclure l'implication de *Toxoplasma gondii*,

1. Les Ct correspondent aux cycles d'amplification utilisés en méthode PCR temps réel pour détecter la présence du fragment génomique cible. Plus le nombre de Ct est faible, plus la quantité de matériel génétique cible présent dans l'échantillon de départ était élevée.

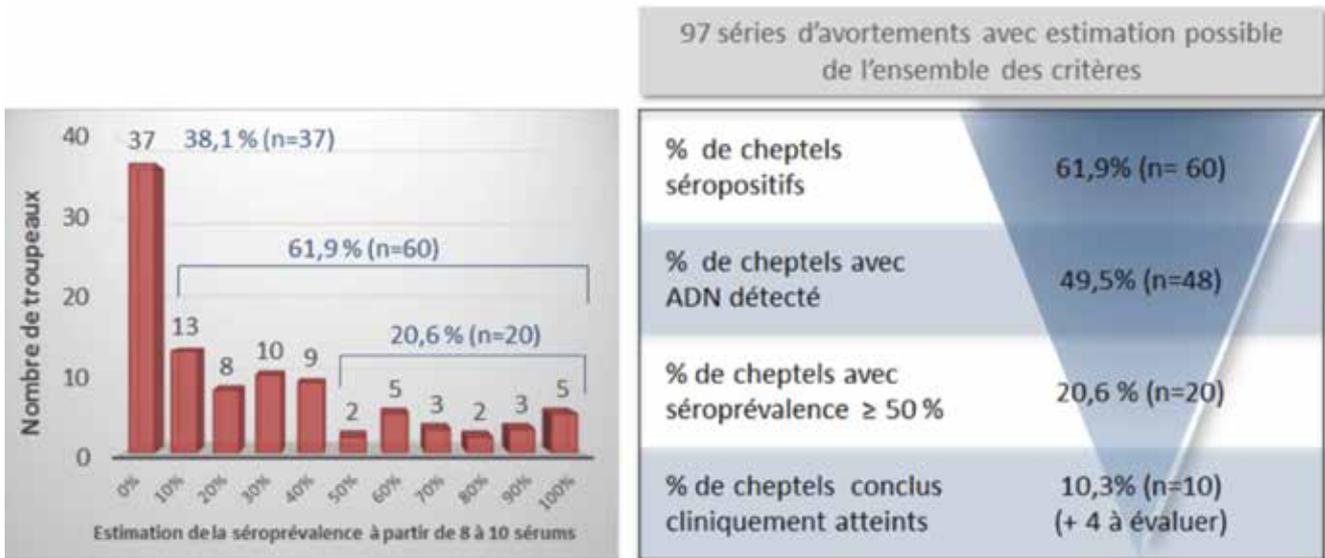


Figure 1. Synthèse des résultats sérologiques et de PCR obtenus en matière de fièvre Q : évaluation pour 97 séries abortives pour lesquelles plus de 8 sérums ont pu être analysés.

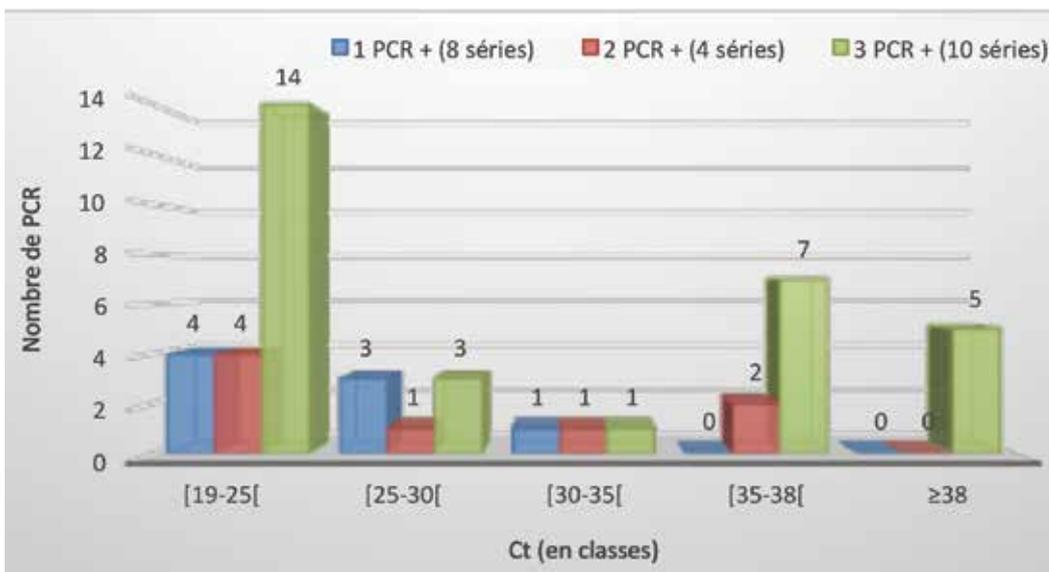


Figure 2. Distribution des résultats de PCR pour la chlamydie en fonction des Ct (signaux seuils) obtenus et du nombre de PCR positives (sur un total de 3).

compte tenu de l'hétérogénéité de la distribution des parasites (distribution focale) et des lésions dans les organes fœtaux.

► **La Border Disease et la salmonellose abortive ovine**

Elles n'ont pas ou peu été mises en cause dans les séries abortives investiguées. Pour la Border Disease, sur 101 PCR réalisées, un seul résultat a été trouvé positif et s'accompagnait de surcroît de huit sérologies positives sur les dix réalisées dans la population sentinelle. Dans trois autres élevages exempts de vaccination à l'encontre du virus, une circulation du pathogène a été mise en évidence et son implication jugée possible (toxoplasmose considérée par ailleurs comme impliquée dans la série abortive). Pour la salmonellose abortive enfin, aucune analyse bactériologique n'a été positive.

► **L'analyse du statut vaccinal des cheptels**

Cette analyse a mis en évidence que de l'ADN bactérien ou parasitaire pouvait être détecté, y compris dans des élevages recourant à la vaccination contre ces agents infectieux, témoignant de l'importance d'une recherche étiologique sans *a priori*. À titre d'illustration, pour la chlamydie, des PCR positives ont été rapportées dans 30% des exploitations ayant mis en place une vaccination et, pour la toxoplasmose, dans 15% des élevages où la vaccination avait été adoptée. À noter que, pendant la durée de l'étude, le typage d'un échantillon de 19 souches de *Chlamydia abortus* provenant d'avortements en série, issues d'élevages ayant vacciné ou non, a été réalisé. Les résultats ont fait état de 16 souches sauvages et de trois souches non typables (en regard de Ct de l'ordre de 40). Ils confortent ainsi l'hypothèse

selon laquelle la souche vaccinale, malgré l'usage d'un vaccin vivant, ne serait que rarement incriminée dans la survenue des avortements à *Chlamydia* [10].

Enfin, les résultats de diagnostic direct obtenus ont été confrontés aux résultats des analyses sérologiques qui ont pu apporter des informations complémentaires.

L'apport des résultats sérologiques au diagnostic de la chlamydie et de la toxoplasmose

Pour la chlamydie et la toxoplasmose, deux séries d'analyses sérologiques (tests ELISA) ont été conduites à 2-3 semaines d'intervalle, la première étant réalisée à la suite de l'appel des éleveurs (délai variable par rapport au début de la série abortive, en fonction de la réactivité des acteurs). Il est toujours délicat d'interpréter des résultats obtenus sur des sérums non pairés et par des laboratoires différents. L'approche adoptée ici est donc strictement exploratoire. Elle a consisté à exploiter les résultats exprimés sous la forme d'un ratio (ratio E/P en %), calculé en comparant la densité optique (DO) de l'échantillon testé à la densité optique moyenne du contrôle positif (DOm CP), une fois déduite la valeur de lecture du contrôle négatif (DO CN) :

$$E/P (\%) = \frac{(DO \text{ échantillon} - DO \text{ CN})}{(DOm \text{ CP} - DO \text{ CN})} \times 100$$

Il s'agissait ainsi d'apprécier l'intensité de la réponse sérologique, d'une part, et son évolution, d'autre part.

► Dynamique de la réponse sérologique

À 15 jours d'intervalle, les distributions des ratios E/P sont apparues relativement proches, laissant présager de la possibilité de s'appuyer sur les premières séries d'analyses (Figure 3). Pour la chlamydie, la variation du ratio E/P a été en moyenne de 1 %, 14 séroconversions (5,3 %) ont été rapportées et une augmentation des ratios supérieure ou égale à 30 % a concerné 8,3 % des individus (n = 22/264). Pour la toxoplasmose, la variation moyenne du ratio E/P a été égale à 9 %. La fréquence des séroconversions a également été modeste : 3,4 % (n = 9/265). Les augmentations de plus de 30 % ont été sensiblement plus nombreuses : 19,2 % (n = 51/265).

► Importance de la combinaison des analyses directes et indirectes

Pour la toxoplasmose particulièrement, les résultats sérologiques ont apporté des éléments de suspicion complémentaires au diagnostic direct.

En cas de PCR positive, les animaux testés étaient majoritairement (75 %) fortement séropositifs (au seuil défini par le fabricant du kit d'analyses) (Figure 4). Lorsque la PCR était négative et la séroprévalence inférieure à 50 %, ils étaient majoritairement (83,3 %) séronégatifs ou séropositifs faibles. La distribution des ratios E/P en cas de PCR négative associée à une séroprévalence estimée de plus de 50 % a montré des résultats séropositifs modérés ou forts (Figure 4). Dans ce contexte, il peut sembler licite de s'intéresser à l'interprétation couplée de la séroprévalence et de l'intensité de la réponse sérologique pour appuyer une suspicion d'implication de la toxoplasmose dans les séries abortives.

En ce qui concerne la chlamydie, on a pu constater que lors des premiers prélèvements d'avortements, les cheptels sans PCR positive (n = 4/74 soit 5,4 %) ont rarement présenté des animaux avec des sérologies fortement positives. À l'inverse, les cheptels avec une PCR positive ont assez souvent (52 % des cas) comporté un (n = 7/29 soit 24,1 %) ou plusieurs animaux (n = 8/29 soit 27,6 %) fortement séropositifs. L'hypothèse est donc faite qu'une séroprévalence élevée assortie d'une réponse sérologique de forte intensité, signe *a minima* l'existence d'une circulation active de la bactérie.

► Prise en compte du contexte vaccinal

Les ratios E/P ont également été étudiés, en cas de diagnostic PCR négatif, en fonction de l'existence d'une vaccination dans le troupeau contre le pathogène correspondant (Figure 5).

Pour la chlamydie, l'existence de réponses anticorps résiduelles "modérées" à distance de la vaccination peut être suspectée (Figure 5). Les valeurs élevées de ratio E/P sont restées peu fréquentes, indépendamment du contexte vaccinal. La présence d'individus "séropositifs forts" pourrait donc constituer un élément de suspicion pour imputer les avortements à la maladie.

Pour la toxoplasmose, *a contrario*, les distributions des ratios E/P selon le statut vaccinal du cheptel, se sont avérées distinctes. Ces résultats incitent à la prudence quant à l'interprétation des résultats sérologiques en contexte de vaccination. Celle-ci apparaît délicate, particulièrement lorsque les avortements concernent des jeunes, vaccinés depuis peu. Il conviendrait alors de définir un seuil spécifique pour statuer sur l'implication du parasite.

► Un taux d'élucidation élevé sur la base du socle de maladies de première intention

Dans le contexte régional et épidémiologique de la région Midi-Pyrénées, le taux d'élucidation a été estimé à environ 68 % (imputation possible à

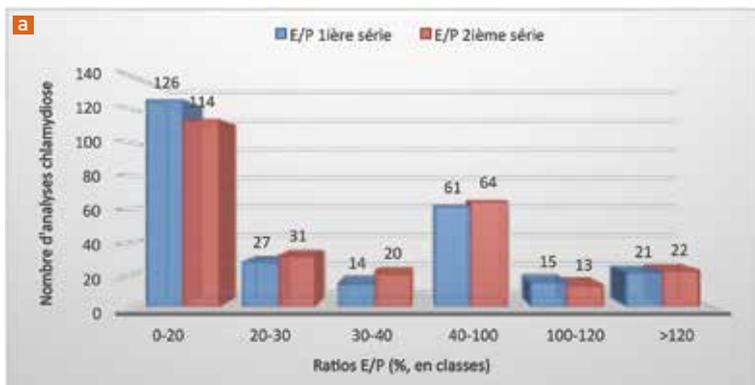


Figure 3. Distribution des ratios E/P (en %) des ELISA réalisés pour la recherche de la chlamydie (n = 264 analyses par série) (a) et de la toxoplasmose (n = 265 analyses par série) (b) à 15 jours-3 semaines d'intervalle.

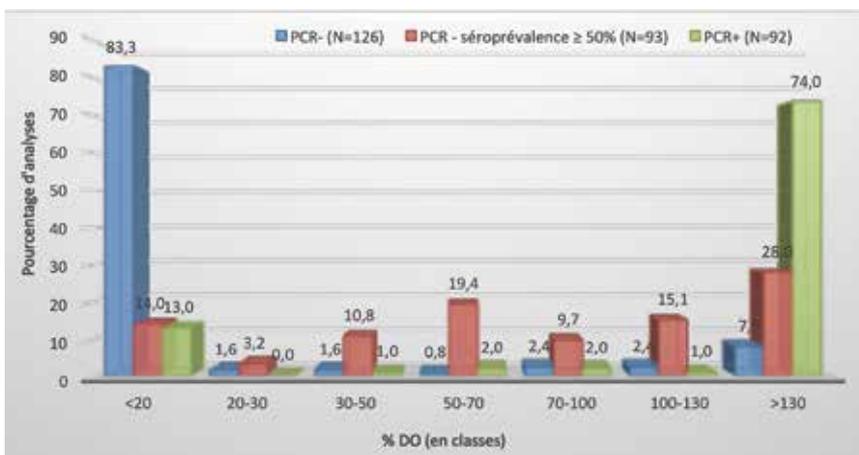
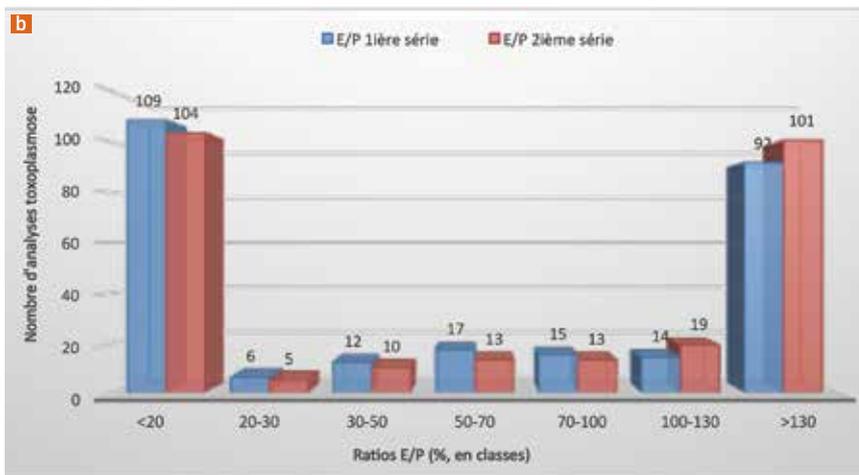


Figure 4. Distributions des ratios E/P (en %) des ELISA réalisés pour la recherche de la toxoplasmose (n = 311 analyses, 88 séries d'avortements) selon les résultats de PCR et de séroprévalence obtenus.

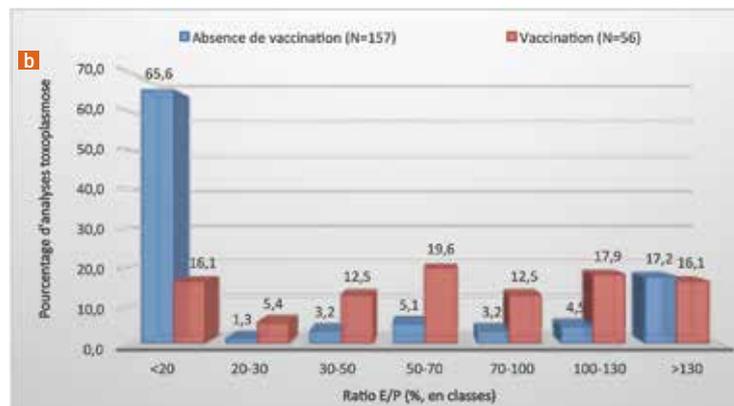
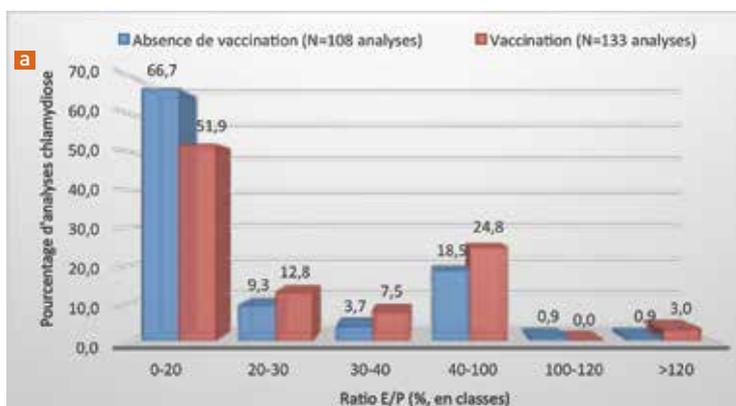


Figure 5. Distributions des ratios E/P (en %) des ELISA réalisés pour la recherche de la chlamydie (a) et de la toxoplasmose (b) en fonction de l'existence d'une vaccination dans le troupeau et en cas de diagnostic direct négatif.

forte de la série abortive à une ou plusieurs maladies) (Figures 6 et 7). La chlamydiose et la toxoplasmose sont apparues comme des causes abortives prépondérantes, avec une implication dans respectivement 20 et 44% des séries abortives. La fièvre Q, bien que fréquente, n'a que peu été jugée responsable des épisodes abortifs: de l'ordre de 10% d'élevages cliniquement atteints de fièvre Q. Peu présentes, la Border Disease et la salmonellose abortive ovine n'ont pu être investiguées de manière approfondie. Les résultats confirment l'existence de nombreux cas de co-infections ou *a minima* de co-circulations: environ 35% des séries abortives étudiées.

Le protocole diagnostique, en combinant des résultats de diagnostic direct et indirect, a également permis d'exclure *a priori* plusieurs des causes abortives recherchées. Pour ne considérer que deux exemples, dans 23,8% des troupeaux étudiés, la fièvre Q a été exclue des étiologies suspectées, en raison à la fois de résultats de PCR systématiquement inférieurs au seuil diagnostique, voire inférieurs au seuil de

quantification, et de séroprévalences majoritairement inférieures à 50%. Dans 21 élevages (20,4%), une PCR négative et des sérologies toutes négatives au moment de l'intervention et 15 jours plus tard, ont permis d'exclure la toxoplasmose.

Synthèse

Les résultats obtenus dans le cadre de l'étude pilotée par la Fédération régionale des groupements de défense sanitaire Midi-Pyrénées semblent indiquer que l'on peut améliorer de manière tangible le taux d'élucidation des séries d'avortements en recourant à un protocole d'analyses rigoureux. Les deux principales causes d'avortements ont été la chlamydiose et la toxoplasmose, maladies abortives considérées comme prépondérantes chez les petits ruminants. Les résultats obtenus en matière de fièvre Q sont conformes à ceux mentionnés par Gache *et al.* (2016) à la suite d'un suivi de la situation épidémiologique de la fièvre Q pendant 3 ans dans 10 départements [3, 5]. Ces auteurs rapportent

Figure 6. Synthèse des causes recherchées et identifiées rattachées aux 106 séries abortives étudiées.

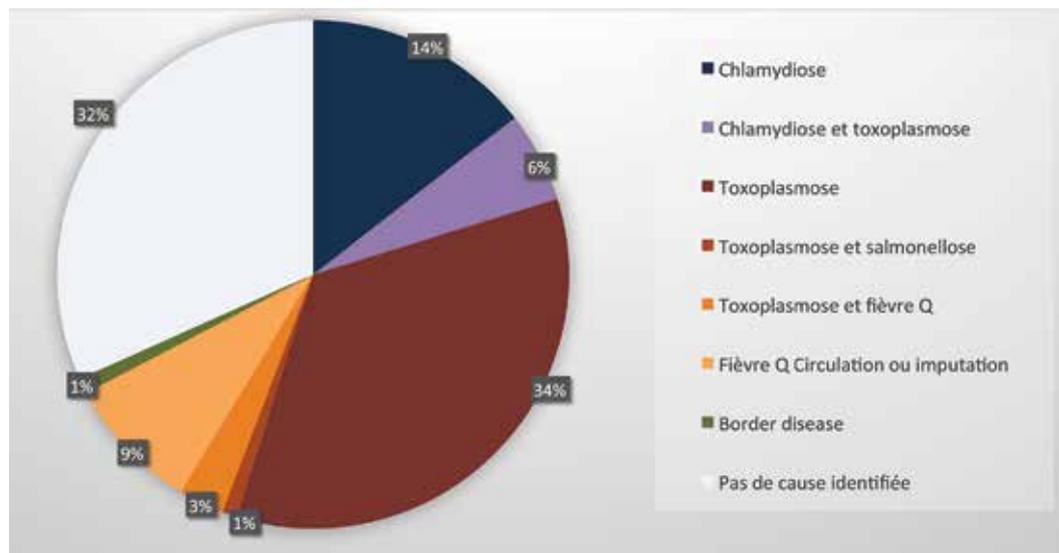
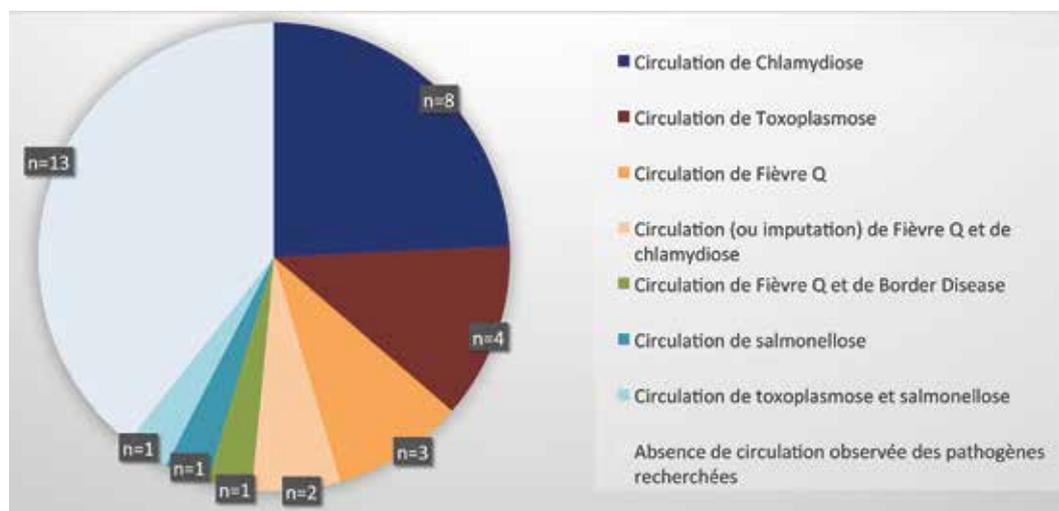


Figure 7. En l'absence de cause identifiée (n = 33), nature des circulations des agents pathogènes recherchés (*Chlamydia* spp, *Toxoplasma gondii*, *Coxiella burnetii*, *Salmonella Abortusovis*, virus de la Border Disease) mis en évidence dans les cheptels.



en effet des fréquences de 6,2 et 15,8% d'élevages cliniquement atteints de fièvre Q pour les ovins et les caprins respectivement, et des proportions d'ateliers séropositifs de 56 et 61% pour ces mêmes espèces.

La circulation de plusieurs agents pathogènes, observée dans une partie des troupeaux suivis, a déjà été signalée par différents auteurs [6, 9]. Elle ne présage pas de leur implication dans la série d'avortements. Dans un contexte enzootique, la prise en compte d'une combinaison de résultats d'analyses obtenus sur plusieurs animaux s'avère, de fait, indispensable pour orienter le diagnostic. L'existence de co-infections telles que rapportées par Masala *et al.* (2007) resterait à explorer [7].

L'étude permet en outre de rappeler l'importance de ne pas exclure du champ des analyses les maladies vis-à-vis desquelles l'éleveur a mis en place une stratégie vaccinale. Une protection vaccinale n'est, en effet, jamais acquise à 100% et la vaccination ne saurait protéger des femelles déjà infectées. Les résultats montrent aussi qu'il est important de s'intéresser de manière précise à la mise en œuvre pratique de la vaccination : catégorie d'animaux concernés (en incluant boucs ou béliers), âge à la vaccination, antibiothérapie concomitante à la vaccination et incompatible avec elle, ou problèmes sanitaires éventuels (accompagnés d'une possible hyperthermie) à proximité de l'injection vaccinale, réalisation des rappels vaccinaux, mais aussi conservation des vaccins, etc.

Sur le plan analytique, le recours au diagnostic direct a montré son intérêt pour rapporter les avortements à une cause certaine ou probable. Néanmoins, s'agissant des analyses conduites sur des organes ou des liquides collectés chez les avortons, on peut s'interroger sur la sensibilité du diagnostic. L'absence de prélèvements concomitants sur des houppes placentaires ne permet pas d'évaluer la pertinence relative des différentes matrices employées. Sur mucus vaginal particulièrement, une quantification semble intéressante pour améliorer l'interprétation des résultats (circulation *vs* cause probable), mais aussi favoriser une utilisation plus large, mais informative, des mélanges.

En dépit de l'approche collective (diagnostic de groupe) promue au travers de la démarche diagnostique, on ne peut que constater la faiblesse des effectifs sur lesquels les analyses ont été conduites. Ainsi, pour les sérologies, il a été fréquent (plus d'un tiers des cas) de ne disposer que de 3 ou 4 prélèvements (au lieu des 5 demandés), ce qui a pu constituer un frein à l'interprétation des résultats. Malgré les

réserves que l'on peut avoir à s'appuyer sur les ratios E/P (manque de répétabilité et/ou de reproductibilité limitant la possibilité de comparer les résultats), l'observation de l'évolution de la réponse sérologique s'est révélée intéressante pour juger de la circulation récente de l'agent pathogène. La prise en compte de la présence et/ou de la fréquence des individus fortement séropositifs est par ailleurs proposée pour conforter les hypothèses diagnostiques. Pour la chlamydie, ces éléments de suspicion semblent rester pertinents dans un contexte de vaccination à l'encontre de la maladie.

Perspectives

Ces résultats, associés à des retours d'expérience issus d'autres régions (Limousin, Provence-Alpes-Côte d'Azur...), ont d'ores et déjà permis de faire évoluer les arbres décisionnels pour les 5 maladies recherchées en première approche. La démarche ainsi révisée doit continuer d'être confrontée à la réalité du terrain, afin d'évaluer sa pertinence dans d'autres contextes épidémiologiques, d'une part, et de consolider ou de faire évoluer les grilles d'interprétation, d'autre part. Le déploiement, dans les départements ou les régions volontaires, du dispositif Oscar (Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants), porté par la Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale, s'appuie sur le protocole ainsi révisé et sur les grilles d'interprétation actualisées à l'issue de ces études et échanges (www.plateforme-esa.fr/page/thematique-diagnostic-differentiel-des-avortements; <http://www.observatoire-oscar.fr/>) [4].

En complément, des travaux de recherche devraient être poursuivis pour définir les modalités d'un recours à des analyses en mélange, susceptibles à la fois de diminuer les coûts et de simplifier la démarche, pour optimiser l'interprétation des résultats sérologiques (définition de seuils spécifiques, en incluant le contexte de vaccination) et pour préciser l'intérêt de l'écouvillon vaginal ou de l'écouvillonnage d'organes, comparativement à d'autres matrices. D'un point de vue opérationnel, il s'agirait encore de proposer des kits diagnostiques, par exemple multi-agents, pour faciliter une recherche sans *a priori* des principaux agents abortifs.

Reste, enfin, un large champ d'investigations relatif aux maladies de deuxième intention, à une meilleure appréhension des co-infections et des co-circulations (impact de l'interaction entre pathogènes sur le plan immunitaire ou encore de l'expression clinique) et enfin, à l'étude des cas non élucidés.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Arrêté du 10 octobre 2013 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la brucellose ovine et caprine.
- 2 - de CRÉMOUX R, CORBIERE F, NOUVEL X, CHAMPION JL, MONDOLY P, NOUZIERES S, POUGET C, DION F, TOURATIER A, BERTHELOT X. Démarche harmonisée de diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants. *Hors-Série Bulletin des GTV*. 2013. 93-104.
- 3 - DGAL - Note de service 2012-8188 du 11 septembre 2012 relative au « Protocole de surveillance de la fièvre Q à mettre en place dans les départements pilotes en lien avec la surveillance de la brucellose ».
- 4 - COLLECTIF. Mise en place d'un dispositif de valorisation des résultats de diagnostic différentiel des avortements chez les ruminants : Oscar (Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants). *Surveillance des maladies abortives de ruminants. Bulletin semestriel*. 2016. 2:4. http://www.platforme-es.fr/sites/default/files/documents/Bulletin_N%C2%B02.pdf (consulté le 28/04/17).
- 5 - GACHE K, HOSTEING S, ROUSSET E, SALA C, PERRIN JB, NICOLLET P, BRONNER A, GUATTEO R, de CREMOUX R, DION F, JOURDAIN E, CALAVAS D, TOURATIER A. Situation épidémiologique de la fièvre Q chez les ruminants domestiques. Résultats d'un programme de trois ans dans dix départements. *Journées Nationales des GTV, Nantes, 18-20 mai 2016*. 465-471.
- 6 - LONGBOTTOM D, ENTRICAN G, WHEELHOUSE N, BROUGH H, MILNE C. Evaluation of the impact and control of enzootic abortion of ewes. *Vet J*. 2013. 195 (2): 257-259.
- 7 - MASALA G, PORCU R, DAGA C, DENTI S, CANU G, PATTÀ C, TOLA S. Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. *J Vet Diagn Invest*. 2007. 19 (1): 96-98.
- 8 - NOUVEL X, BERTHELOT X, BLAIN S, de CRÉMOUX R. Prélèvements en vue d'analyses complémentaires lors d'avortements chez les petits ruminants. *Hors-Série Bulletin des GTV*. 2013. 42-47.
- 9 - REKIKI A, THABTI F, DLISSI I, RUSSO P, SANCHIS R, PEPIN M, RODOLAKIS A, HAMMAMI S. Enquête sérologique sur les principales causes d'avortements infectieux chez les petits ruminants en Tunisie. *Revue Méd. Vét*. 2005. 156 (7): 395-401.
- 10 - RODOLAKIS A, LAROUCAU K, de CRÉMOUX R. Vaccination vis-à-vis de la chlamydiose abortive et de la fièvre Q chez les petits ruminants. *Bulletin des GTV*. 2013. 68: 47-56.

Nos remerciements vont à l'ensemble du groupe de travail sur le diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants, aux éleveurs ainsi qu'aux acteurs de terrain, vétérinaires, GDS, laboratoires des départements de la région Midi-Pyrénées, grâce auxquels ces informations ont pu être collectées et analysées. Ces travaux ont reçu le soutien financier du Conseil régional et de la Caisse régionale de solidarité santé animale de la FRGDS Midi-Pyrénées.