



# 6èmes JTO

## Journées Techniques Ovines

Mise en place d'une démarche  
de diagnostic différentiel des maladies  
abortives de première intention  
chez les petits ruminants : premiers  
éléments d'évaluation en Midi-Pyrénées

*R. de Cremoux, C. Pouget, C. Lacz*

Du 18 au 20 novembre 2014 – Mirecourt/Poussay (Vosges)

# Une étude pilote conduite en région Midi-Pyrénées

## Objectifs

- Evaluer la faisabilité et la pertinence de la démarche de diagnostic différentiel élaborée nationalement
- Sensibiliser l'ensemble des acteurs à l'importance de la déclaration des avortements et de leur diagnostic
- Avoir une première évaluation de la fréquence relative des étiologies abortives de première intention dans la région

# Protocole d'étude

*Fondé sur les travaux d'un groupe de travail national*

- **Animation :**

Institut de l'Elevage / ENV Toulouse  
au sein de l'UMT Santé des Petits Ruminants

- GDS France
- Races de France
- SNGTV
- ADILVA

- **Partenariat régional et départemental :**

FRGDS Poitou-Charentes et Midi-Pyrénées, GDS 04, GDS 12, GDS 41, GDS 64, GDS Limousin

FRGTV Midi-Pyrénées

Laboratoires d'analyses 05, 58, 64, 79

- **Appui scientifique et technique :**

Anses Niort, Alfort, Sophia Antipolis et ENVT

# Un diagnostic s'insérant dans la démarche de surveillance évènementielle de la brucellose

## ● Définition de l'avortement

(Arrêté du 10 Octobre 2013)

Est considéré comme un avortement potentiellement infectieux toute expulsion d'un foetus ou d'un animal mort-né ou succombant

dans les douze heures suivant la naissance, à l'exclusion des avortements d'origine manifestement accidentelle



Photothèque Anses



Photothèque Anses

Avortement autour du 3<sup>ème</sup> mois ou mise bas prématurée et mortinatalité  
Rétention placentaire possible  
Placenta et avorton : sans lésion particulière, mis à part quelques lésions d'anoxie

# Critères d'alerte

## Des avortements répétés dans le temps

### Brucellose

(Arrêté du 10 Octobre 2013)

### Fièvre Q

(Dispositif pilote :

NS DGAL/SDSPA/N2012-8188 du 11/09/12)

**3 avortements**

**minimum en 7 jours ou moins**



**Avortements répétés :**

**Mise en œuvre d'un diagnostic différentiel**

Avortements rapprochés : seuil ci-dessus

Avortements espacés : seuils par lot de repro, sur la période de mise-bas (3 mois)

- < 250 femelles : à partir de 4 % d'avortements
- > 250 femelles : à partir du 10<sup>ème</sup> avortement

## Un diagnostic de groupe

# Un socle commun de maladies de première intention



Sur le plan infectieux :

- **Première intention**

Fièvre Q – Chlamydiose - Toxoplasmose

- **Fonction de l'espèce et/ou du contexte épidémiologique**

Salmonellose abortive ovine- Border disease

## Critères de choix :

- Agent ayant un rôle abortif avéré
- Agent fréquemment incriminé en cas d'avortements
- Existence d'outils diagnostiques
- Si possible : existence de mesures de maîtrise

*Des résultats valorisables sur le plan opérationnel y compris par l'exclusion de(s) l'agent(s) suspecté(s)*



Sans oublier les étiologies non infectieuses (alimentation / stress / accident ...) ni les maladies de seconde intention

# Principes généraux

- **Diagnostic de groupe**

- Reposant sur un ensemble d'analyses conduites sur plusieurs animaux
- Fondé sur l'interprétation d'une combinaison de résultats

- **Diagnostic direct :**

- Le plus souvent, à privilégier.
- Une quantification parfois nécessaire (fièvre Q) pour mettre en évidence une colonisation extrême des tissus (lésions) en rapport avec une atteinte clinique

- **Diagnostic indirect :**

- En complément du diagnostic direct.....



# Diagnostic indirect : Complémentaire au diagnostic direct

- **Toujours délicates à interpréter en raison :**
  - de l'absence de concomitance de la réponse humorale (IgG) par rapport à la survenue de l'infection (délai à prendre en compte),
  - de l'impossibilité d'évaluer l'ancienneté de l'infection (de la circulation de l'agent) avec parfois des durées d'immunité importantes (ex : toxoplasmose),
  - de l'existence de formes asymptomatiques des infections pouvant être présentes de manière enzootique (ex: fièvre Q, chlamydiose).
- **Interprétation uniquement à l'échelle du lot / du troupeau**
- **Mise en évidence de la circulation récente des agents infectieux**
  - Séroconversions ou augmentation significative des titres anticorps (chlamydiose, toxoplasmose)
  - Séroagglutinations et évaluation des titres (salmonellose)
  - Séroprévalence chez des individus sentinelles (Border Disease)

# Rappel : Diagnostic fièvre Q

Démarche adoptée dans les départements pilotes  
Note de service DGAL/SDSPA/N2012-8188 du 11/09/2012

Protocole pris en compte dans la définition de  
la démarche diagnostique globale



Femelles ayant avorté  
depuis moins de 8 jours

+



10 Prises de sang



+



Dans les 8 jours

Écouvillons (2 à 6)

Séroprévalence  
< 50 %

Impossibilité de  
conclure  
Suivi de l'élevage  
au cours des 3  
mois suivants par  
PCR sur tout  
nouvel avortement

Femelles ayant avorté  
ou ayant eu de la mortinatalité  
(à défaut : à problèmes de  
reproduction)  
depuis plus de 15 jours  
Exclusion des nullipares  
Répartition entre primipares  
et femelles plus âgées

Séroprévalence  
≥ 50 %

Elevage cliniquement  
atteint de fièvre Q

Sérologie  
brucellose

**2 Analyses PCR-TR FQ**  
individuelles ou en mélange de 3  
Quantification/ Seuil « positif fort »  
**>10<sup>4</sup> sur écouvillon individuel**  
**>10<sup>3</sup> sur mélange de 3 écouvillons**

2-/2

2+/2

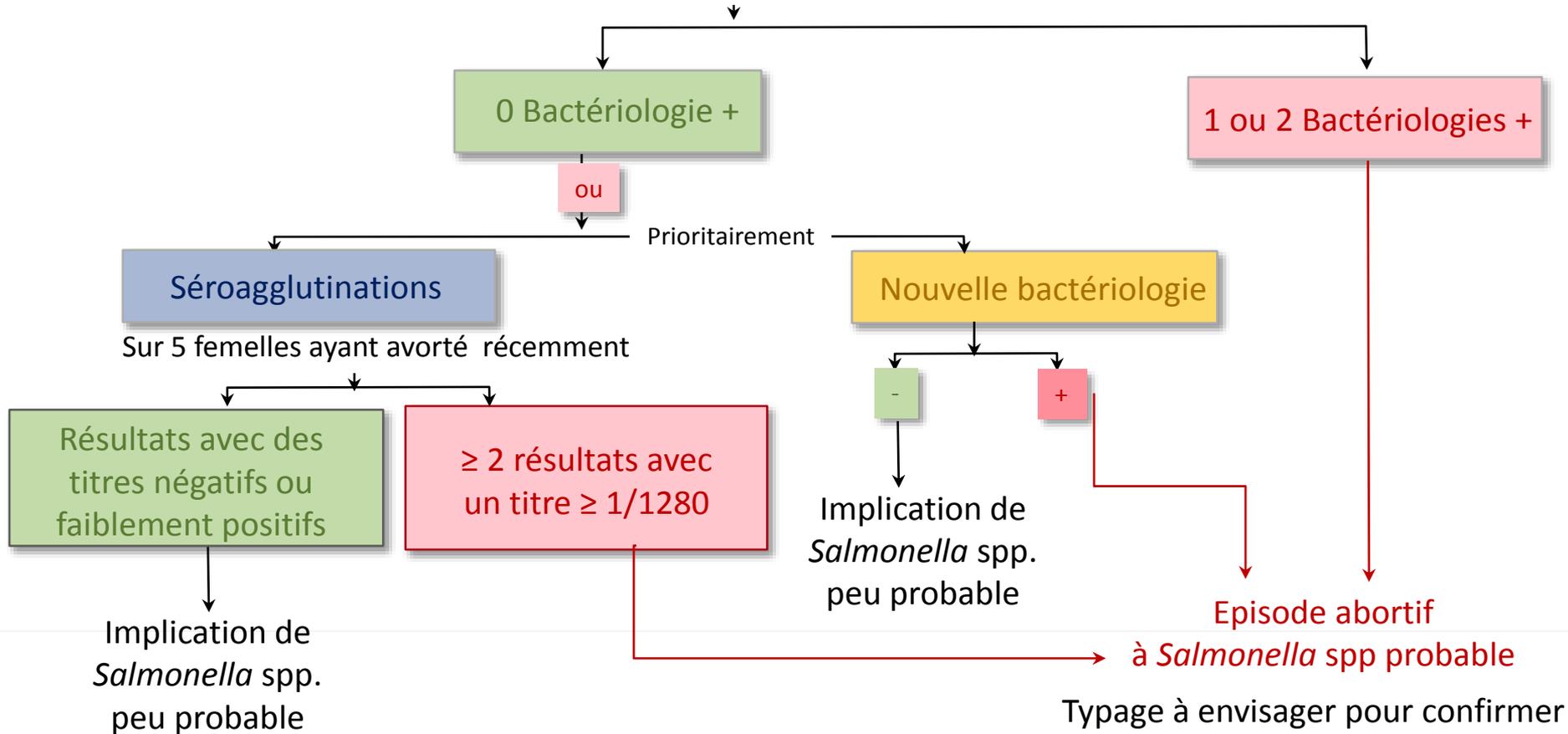
1+/2

Elevage non cliniquement  
atteint de fièvre Q

Elevage cliniquement  
atteint de fièvre Q

# Exemple de démarche diagnostique appliquée à la salmonellose abortive ovine

3 avortements en 7 jours ou moins  
*Réalisation de 2 analyses bactériologiques*



Typage à envisager pour confirmer qu'il s'agit du sérovar Abortusovis.

# Mise en œuvre : prélever d'emblée un ensemble d'échantillons



Photos X. Berthelot (ENVT)



Prévoir les analyses nécessaires à la surveillance de la brucellose et de la fièvre Q

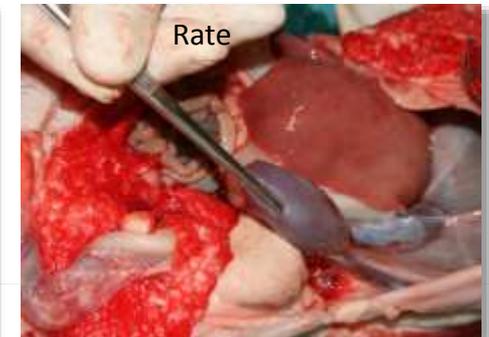
Disposer du matériel biologique nécessaire au diagnostic différentiel (*a minima* de 1<sup>ière</sup> intention) – en principe, facteur non limitant en élevages de petits ruminants –



Photo X. Nouvel (ENVT)



Photos S. Blain (SNGTV)



# Une boîte de prélèvement standardisée

- 12 écouvillons (écouvillons secs type « brucellose »),
- Des sachets étanches (N=9) pour recevoir des houppes placentaires ou des organes d'avorton,
- Deux tubes secs pour le liquide stomacal d'avorton
- Un pot hermétique (1,25l) permettant de recueillir ces sachets tout en évitant des intercontaminations entre prélèvements,



Photos GDS 12

- De la place pour des tubes en vue des analyses sérologiques (3 racks de 10 tubes)
- Envoi sous froid dans une boîte à la norme UN3373 avec triple emballage
- Transport par navette ou par Chronopost en moins de 24 heures

## Emballage extérieur résistant :

Boîtier en carton + caisse isotherme P.21  
Marquage UN3373 + étiquette « HAUT »



Diffuseur de froid

Sachet zip dimensions 30 x 40 cm

## Emballage secondaire étanche 1:

sachet BioÉtanche 215 x 290 mm contenant  
- 5 racks plastique 10 tubes + 2 tubes  
- 1 absorbant

Emballage secondaire étanche 3 :  
sachet BioÉtanche 267x350 mm contenant  
- 1 pot vissant 1,25L avec 8 sachets zip  
- 1 absorbant

## Emballage secondaire étanche 2:

sachet BioÉtanche 167x265 mm contenant  
- 6 écouvillons simples + 6 écouvillons doubles  
- 1 absorbant

# Analyses réalisées dans le cadre de l'étude

Analyses	Petits ruminants	
<b>Diagnostic direct</b>	Fièvre Q Chlamydiose Toxoplasmose Border disease Salmonellose	2 PCR : sur écouvillon vaginal ind ou en mélange de 3 3 PCR individuelles sur écouvillons vaginaux 1 PCR individuelle ou en mélange de 3 organes maxi sur avorton (encéphale) ou placenta 1 PCR mélange de 3 organes maxi (foie, rate ou sang) 2 bactériologies individuelles sur avorton (liquide stomacal>foie) ou placenta.
<b>Diagnostic indirect</b>	Fièvre Q Chlamydiose Toxoplasmose Border disease Salmonellose	10 séro avortées depuis +15J ou à pb repro 2 séries de 5 séros sur avortées récentes. 2 fois à 15J d'interv. 2 séries de 5 séros sur avortées récentes. 2 fois à 15J d'interv. 10 séros sentinelles ou avortées depuis +15J en fonction historique Séroagglutinations sur avortées récentes



# Enseignements de terrain

## Exploitation de 45 séries d'avortements en Midi-Pyrénées



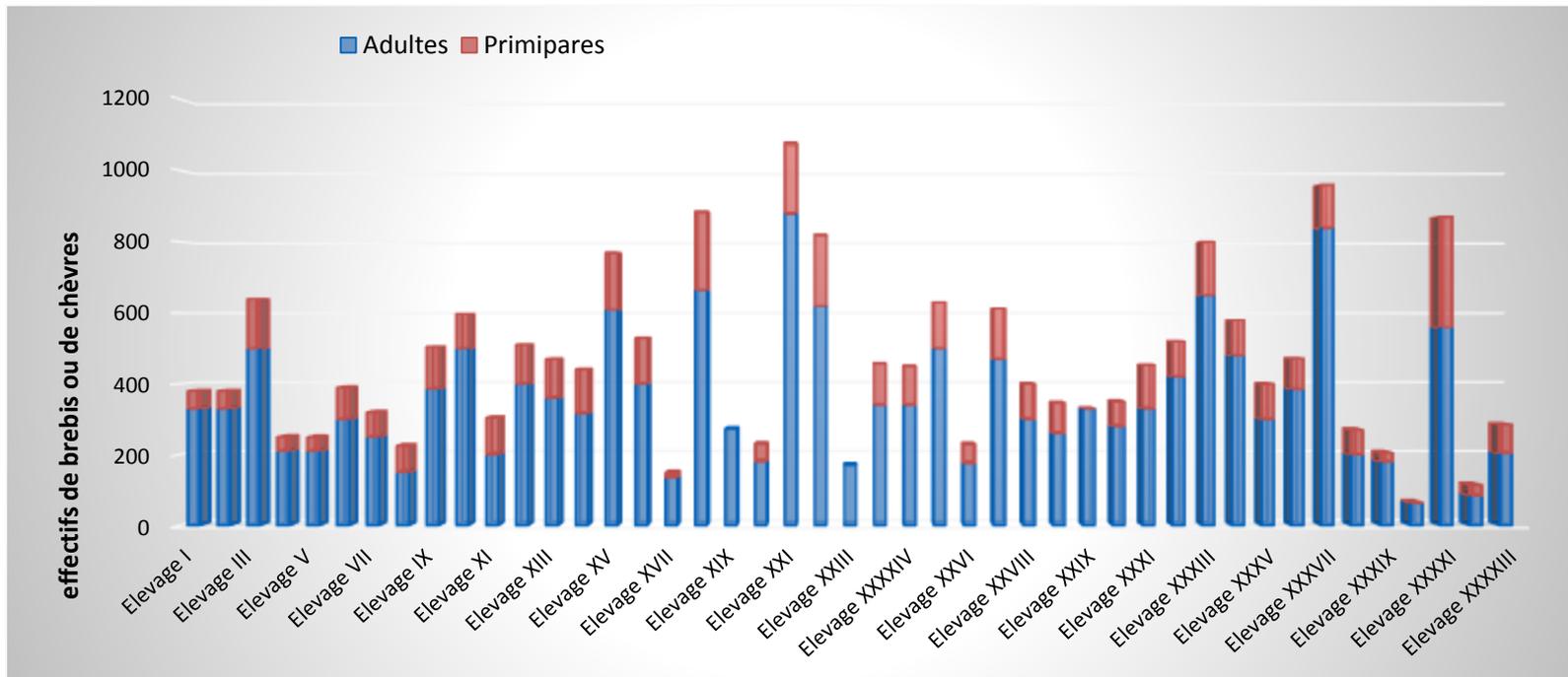
avec le  
soutien financier



# Caractérisation de la population étudiée

45 séries d'avortements

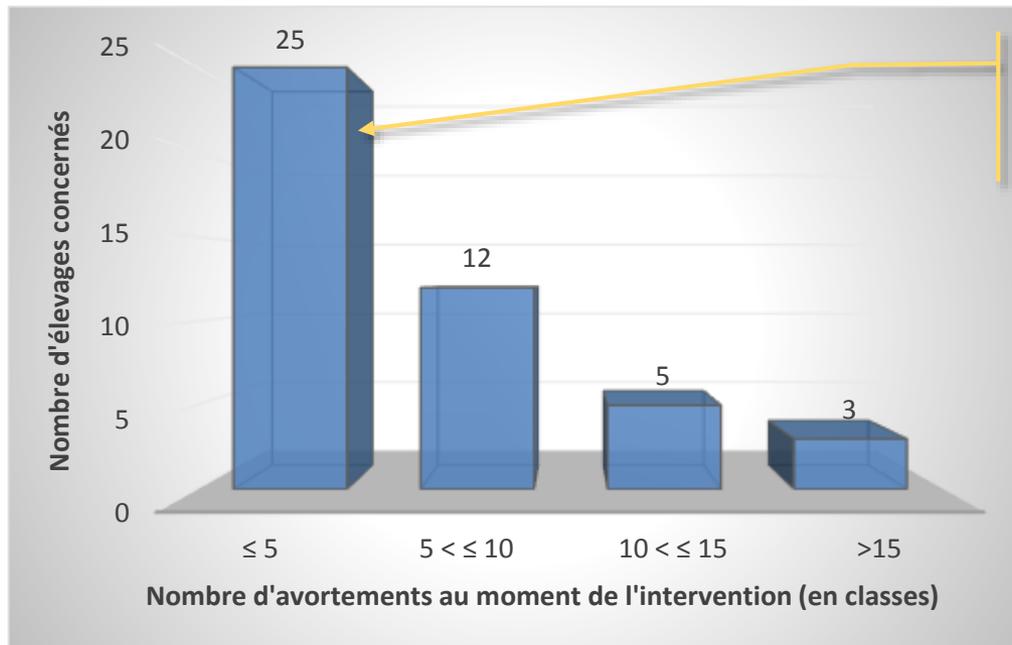
- Ovins allaitants : N=14 (31,1%); Ovins laitiers : N=25 (62,2%); Caprins: N=3 (6,7%)
- Taille moyenne des troupeaux: 357 adultes ; 100 femelles de renouvellement (35,6%)



- Autres ateliers dans 24 élevages (54,5 %); atelier bovin le plus souvent (79,2 % : viande: N=17; lait: N=2)

# Description de l'épisode abortif

- 7,2 ± 4,4 avortements au moment de l'intervention (Min : 1; Max : 20)

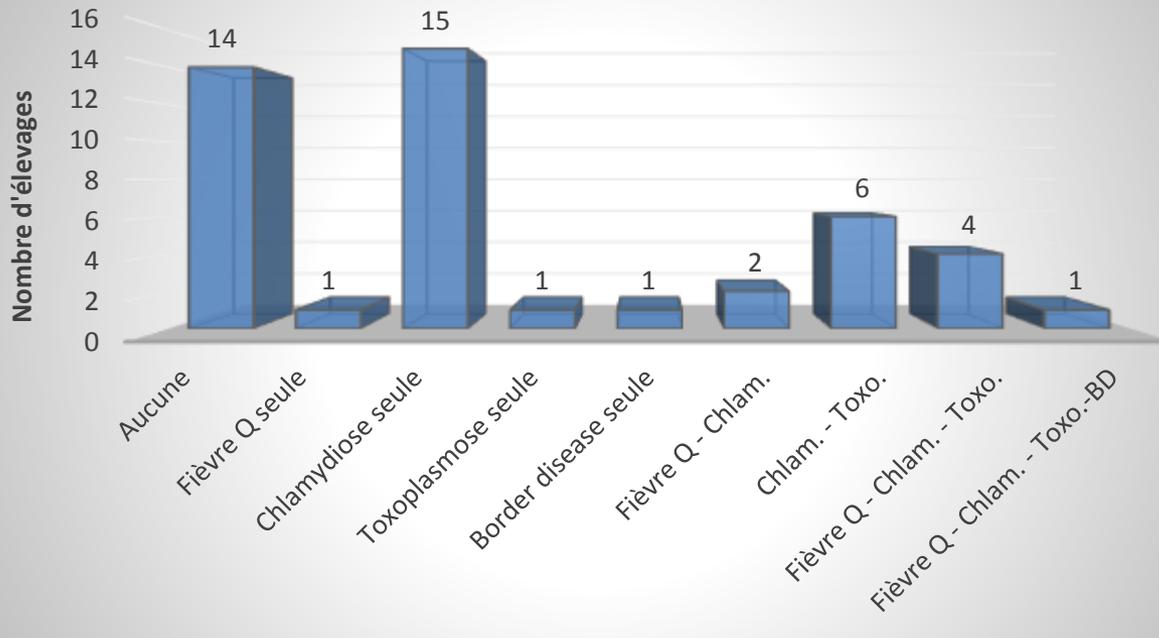


Une bonne réactivité



- Catégories concernées : Lorsque l'information est connue (N=38) : 50 % jeunes, 50 % adultes
- Survenue à 60,5 % au cours du dernier mois de gestation (N=26); 68 % dans le dernier tiers (N=28); parfois à 2-3 mois de gestation (N=5, 11,6 %)

# Stratégies vaccinales et thérapeutiques



Dans 31 élevages (68,9 %), mise en œuvre d'une stratégie vaccinale

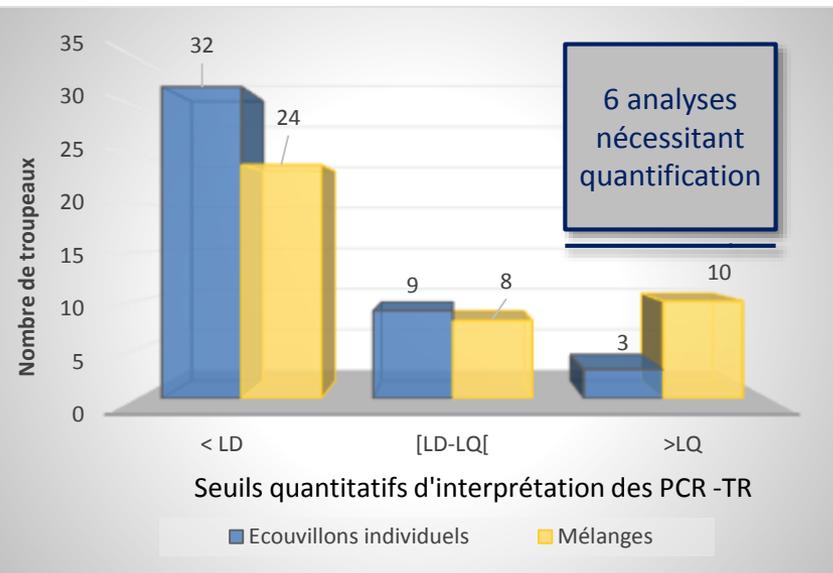
Dans 28 élevages (62,2 %), vaccination contre la chlamydiose (modalités non décrites)

- Antibiothérapie dans 23 élevages (51%):
  - Oxytétracycline (N=20) seule (N=17) ou associée (N=3) : sur avortées (N=2), sur les jeunes (< 1-2 ans) (N= 1), sur tout le lot (N=10), sur les non avortées (N=4), sur tous les animaux (N=10), sur un animal donné (N=1)
  - Amoxicilline (N=1)
  - Association Penicilline, dihydrostreptomycine, Chlophénamide, dexaméthasone (N=1 sur avortées)
  - Spiramycine (N=1 sur tout le lot)

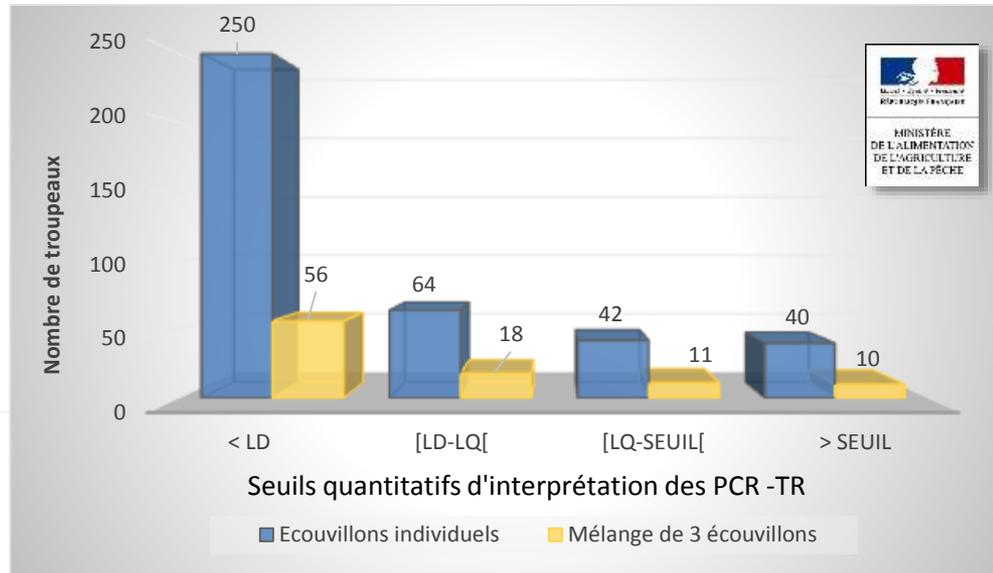
# Diagnostic vis-à-vis de la fièvre Q

- Aucune des analyses en PCR-TR (individuelles ou en mélange), n'a eu de résultat supérieur au seuil diagnostique retenu ( $10^4$  sur écouvillon ind et  $10^3$  sur mélange d'écouvillons) pour pouvoir imputer des avortements à la FQ. **MAIS...**
- 2 élevages avec 2 analyses PCR positives mais quantification non réalisée
- 2 élevages avec ADN détecté (1 seule analyse) : quantité « importante » dans 1 cas
- A mettre en relation avec les résultats de l'Aveyron en tant que département pilote*

45 séries d'avortements dans l'étude régionale  
Résultats à compléter...

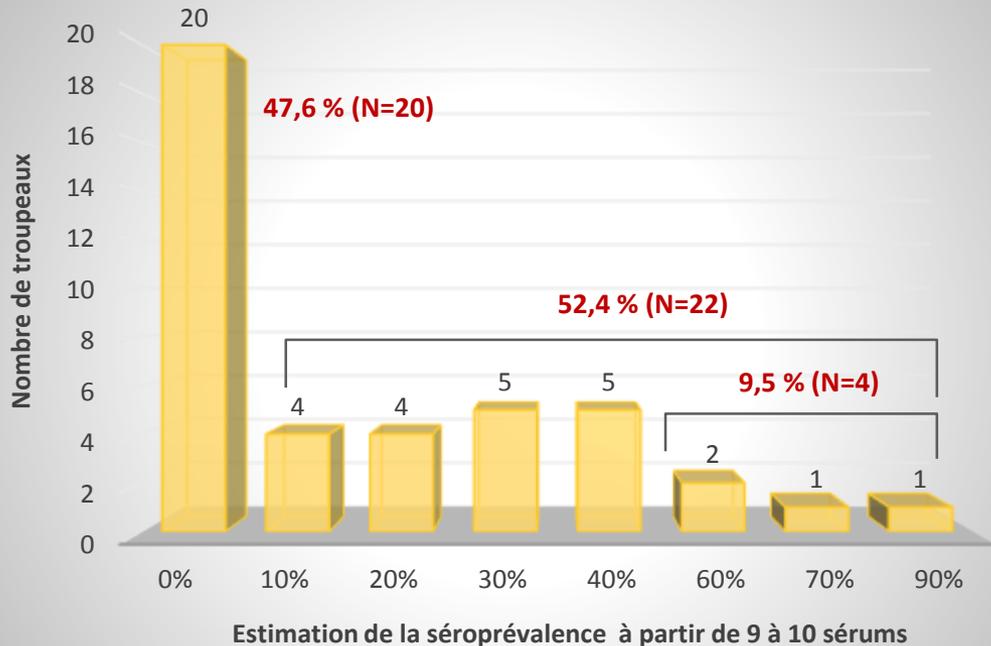


Sur 239 cheptels dans l'étude nationale pilote :  
19 conclus cliniquement atteints soit : 7%



# Diagnostic vis-à-vis de la fièvre Q

42 séries d'avortements avec estimation possible de la séroprévalence (9 à 10 PS)



Enquête de séroprévalence (dispositif pilote /cheptels avec ou sans avts)  
Tirage aléatoire de cheptels aveyronnais en 2014



	Etude nationale Aveyron OV	Etude nationale Aveyron CP
	71 cheptels	27 cheptels
0% séro +	13 %	15%
<50 % séro +	65 %	44%
> 50 % séro +	23%	41 %
% cheptels séropositifs	<b>87%</b>	<b>85 %</b>

- Fièvre Q présente dans 80 % des élevages de l'étude (-> absente dans 20 % : N=9)
- Circulation (ADN détecté et quantifiable) dans 15,6 % des cas (N=7) et circulation possible voire implication (quantification à réaliser) dans 3 autres élevages (6,7 %)

# Diagnostic vis-à-vis de la chlamydie

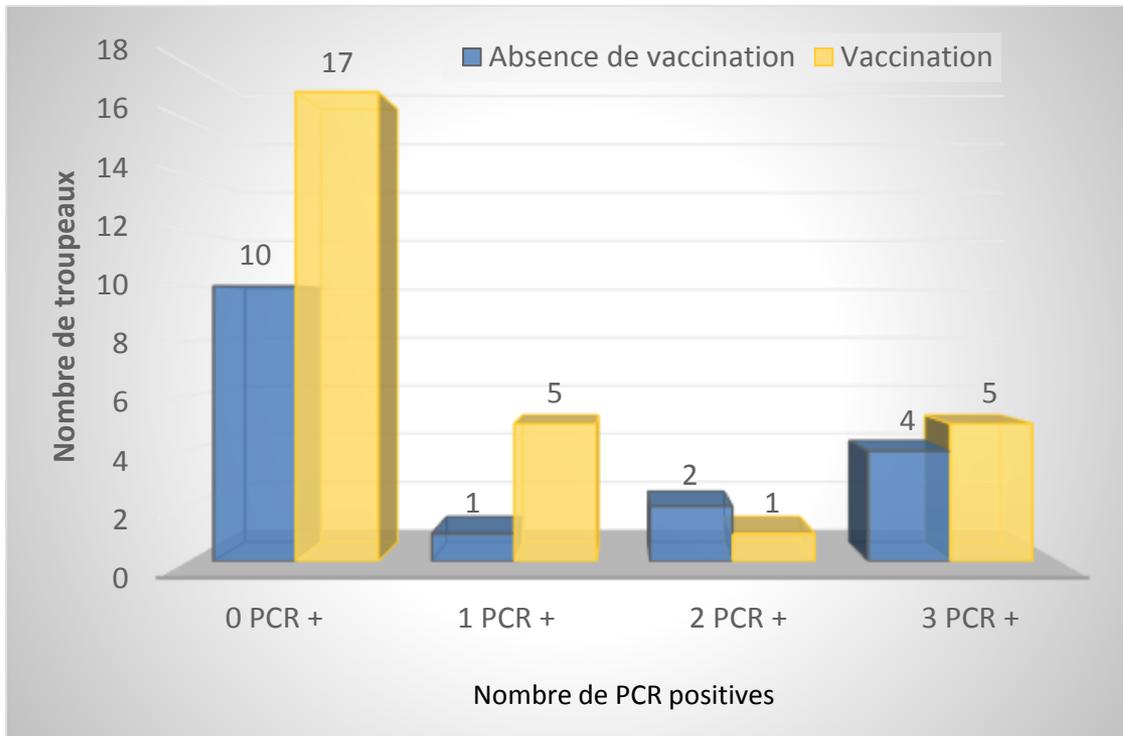
- Chlamydie présente dans 82 % des élevages (séropositivité et/ou PCR +).
- Sur 45 séries, 40 % (N=18) avec au moins une PCR +, 26,7 % (N=12) avec 2 PCR + ou plus

Relation PCR et séropositivité (42 séries)	Sérologies toutes négatives	Au moins 1 animal séro positif et aucun animal à 3+ (>120%)	Au moins 1 animal avec une sérologie +++ (>120%)
Au moins 2 PCR +	1/12*	1/12	10/12
Au moins une PCR +	1/17*	4/17	12/17
Toutes les PCR -	9/24	13/24	3/24

- Les cheptels avec PCR + ont fréquemment (70,6% des cas) un (41,2%) ou plusieurs (29,4%) animaux fortement séropositifs lors de la 1<sup>ière</sup> série de prélèvements.
- Les cheptels avec PCR + ont fréquemment un (35,3%) ou plusieurs (29,4%) animaux dont les titres anticorps augmentent.
- Les cheptels sans PCR positives (N=21) n'ont majoritairement aucune augmentation des titres anticorps (81% des cas) (ou une au plus) et peu ou pas d'animaux très séropositifs

# Vaccination et détection de *Chlamydia*

Illustration au travers de l'analyse des résultats PCR en fonction du statut vaccinal



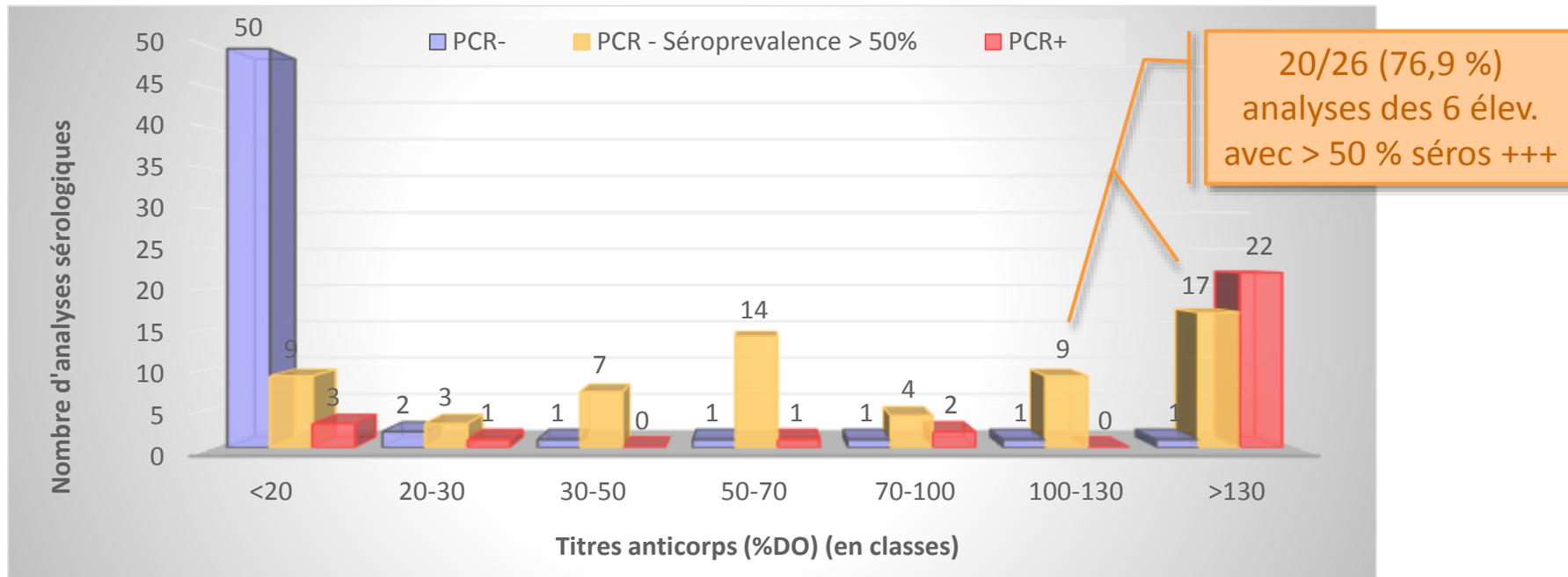
Des infections y compris en cheptels ayant vacciné

- 28 élevages vaccinent (62 %): 11 ont eu des PCR + (39,2%)
- 17 élevages ne vaccinent pas: 7 ont eu des PCR + (41,2 %)
- Souche sauvage typée dans 5 cheptels vaccinés avec 3PCR+ mais un risque d'implication de la souche vaccinale qui existe néanmoins (rare)

Attention à la mise en œuvre du vaccin  
(période, cible, conservation, traitements concomitants,...)

# Diagnostic vis-à-vis de la toxoplasmose

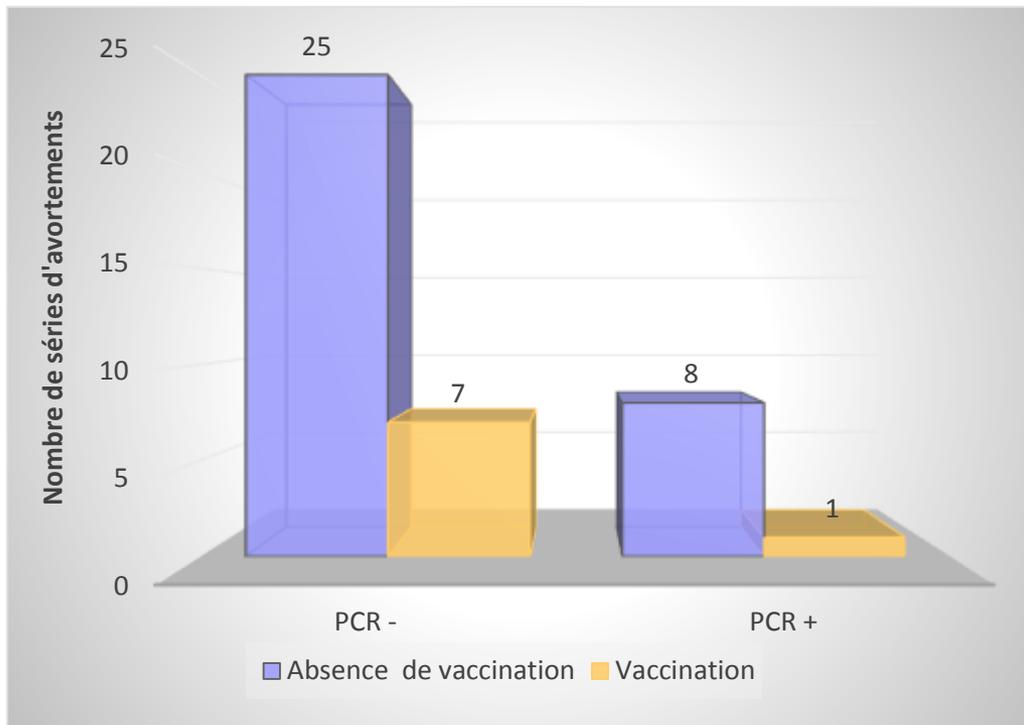
- Toxoplasmose présente dans 83,7 % des élevages (séropositivité et/ou PCR +).
- Sur 42 séries d'avortements, 21,9 % (N=9) avec une PCR positive



- Si PCR positive : majoritairement (N=7/8) plus de 50% des animaux fortement séropositifs lors des 1ers prélèvements ; peu d'augmentations des titres anticorps (pas d'augmentation dans 71,4 %) car animaux souvent d'emblée fortement séropositifs
- Si PCR négative et plus de 50 % de séropositifs fort : suspicion de toxoplasmose?

# Vaccination et détection de *Toxoplasma*

Illustration au travers de l'analyse des résultats PCR en fonction du statut vaccinal



Des infections y compris en cheptels ayant vacciné

- 8 élevages vaccinent: 1 a eu 1 PCR positive
- 33 élevages ne vaccinent pas : 8 ont eu 1PCR positive (24,2 %)

Le dossier d'AMM stipule que :

dans les cheptels vaccinés, si on réalise une échographie à 90 jours de gestation, 80 % des Ax sont viables contre 15 % dans les cheptels non vaccinés.

Vaccination : une réduction du risque mais pas une protection totale.



# Conclusions

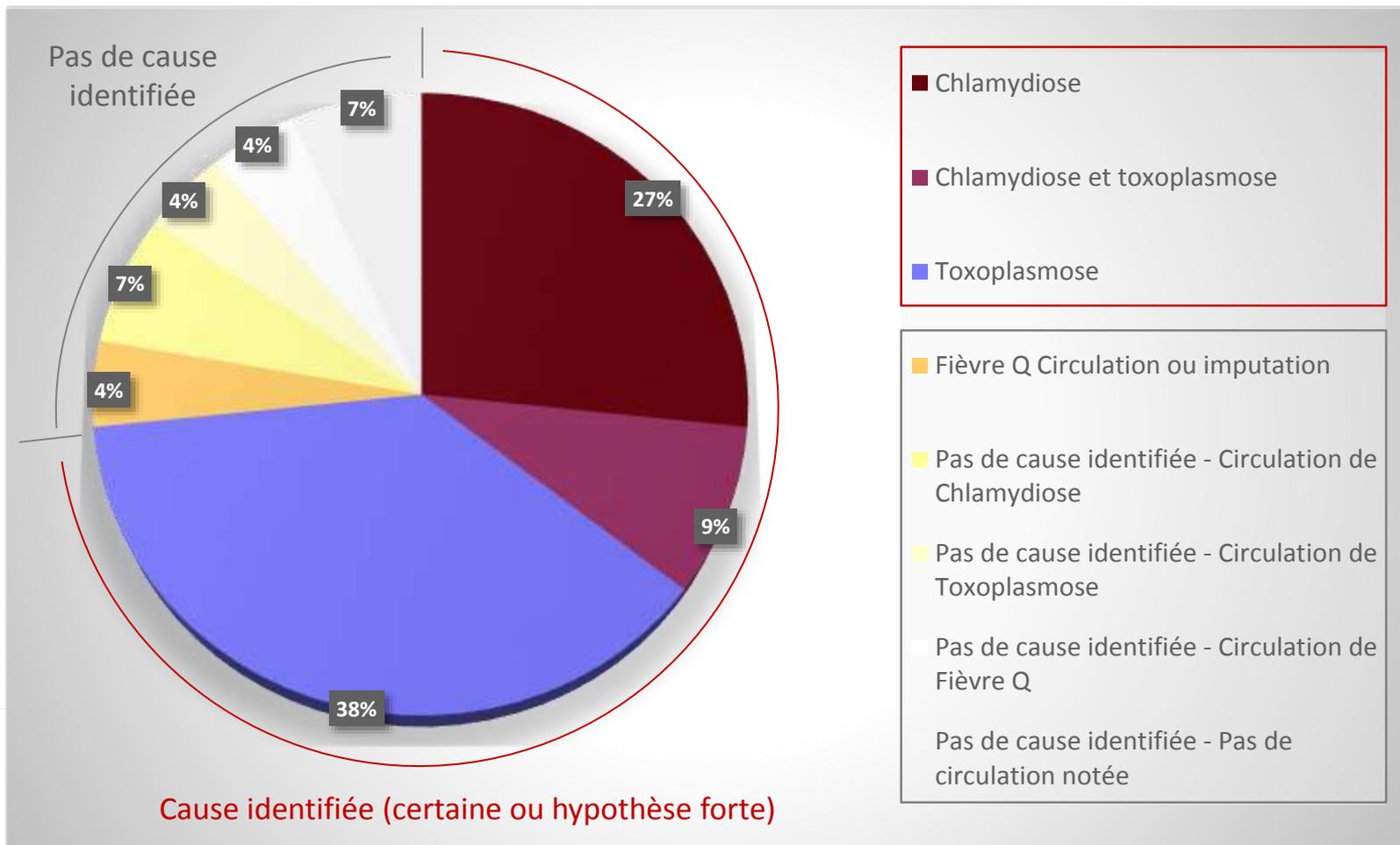


avec le  
soutien financier



# Bilan des recherches de diagnostic différentiel

Sur 45 séries d'avortements : 73% avec une cause identifiée



# Approche des co-infections

## Circulation d'un ou plusieurs agents intra-troupeau

Hors comptabilisation de la circulation de Border (N=2) ou salmonellose (N= 1, 1 seule analyse en faveur) : 31,1 % de co-circulations

	Nombre cheptels
3 agents (Fièvre Q, Chlamydiose et toxoplasmose)	4 (8,9 %)
2 agents (FQ et/ou Chlamydiose et/ou Toxoplasmose)	10 (22,2)
1 agent (FQ ou Chlamydiose ou Toxoplasmose)	28 (62,2 %)
Aucun	3 (6,6 %)

# Conclusion

- Cause imputable dans 73% des cas et la possibilité d'améliorer les taux d'élucidation sur une base de première intention
- Nombreux cas de co-infections/circulations.
- Nécessité de faire des recherches sans *a priori*, même si le cheptel est vacciné
- Chlamydiose et toxoplasmose toujours prépondérantes.
- Chlamydiose et toxoplasmose :
  - PCR sont de bons outils diagnostiques
  - Besoin de grilles de quantification pour favoriser les mélanges et améliorer l'interprétation (chlamydiose). Seuils fabricants (Ct) peu adaptés pour la clinique.
  - Evolution des titres Ac relativement moins pertinente pour la toxoplasmose
  - Intérêt de l'étude des %DO avec l'évaluation des forts séropositifs (plus fréquence)
- Fièvre Q fréquente mais peu responsable de séries abortives
- Border Disease et Salmonellose peu responsables de séries abortives sur l'échantillon étudié



# Des observations ou travaux à poursuivre pour confirmer ou adapter la démarche diagnostique



**Merci de votre attention**