

Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants

Bilan un an après la proposition d'une démarche
harmonisée au niveau national



Sommaire

Introduction	4
Fiche I Quels critères d'alerte ? Quelles maladies rechercher ?	5
Fiche II Principes de la démarche diagnostique	6
Fiche III Recueil des commémoratifs et des éléments cliniques	7
Fiche IV Choix des techniques diagnostiques. Intérêts et limites	9
Fiche V Une boîte de prélèvements standardisée	11
Fiche VI Arbres diagnostiques décisionnels proposés	12
Fiche VII Exploitation des premiers résultats obtenus à la suite d'une mise en place pilote de la démarche diagnostique, en Midi-Pyrénées	16

Introduction

En filières de ruminants, les avortements constituent un sujet de préoccupation majeur en raison de leur incidence économique et sanitaire. Ils font en outre l'objet d'une surveillance événementielle, historiquement en relation avec le risque zoonotique d'une exposition à la brucellose et plus récemment élargie dans 10 départements pilotes, à la fièvre Q. Dans un contexte épidémiologique évolutif (situation assainie depuis 2003 en matière de brucellose), une approche globale des avortements, de leur diagnostic et de leurs enjeux semble nécessaire. Il s'agit notamment de structurer et d'harmoniser l'analyse étiologique des avortements en intégrant une dimension collective et avec un double objectif d'amélioration des taux d'élucidation et de proposition de mesures de maîtrise adaptées. De là résulte un travail de concertation et d'échanges entre l'ensemble des parties prenantes (État, chercheurs, vétérinaires, groupements de défense sanitaire, laboratoires de référence et laboratoires d'analyse). Initié autour de la brucellose et de la fièvre Q, celui-ci se poursuit au travers de l'élaboration de démarches de diagnostics différentiels.

De premières propositions ont été élaborées par un groupe national animé par l'Institut de l'Élevage et l'École Vétérinaire de Toulouse au sein de l'UMT Maîtrise de la Santé des Troupeaux de Petits Ruminants. Elles ont concerné dans une première approche les maladies dites de « première intention ». La démarche ainsi définie a été confrontée à la réalité du terrain au travers d'une étude pilotée par la FRGDS Midi-Pyrénées et financée par le Conseil Régional et la Caisse Régionale de Solidarité Santé Animale.

Ce document présente la démarche adoptée et les premiers enseignements du terrain, un an après le début de sa mise en œuvre. Il s'agit là de résultats préliminaires qu'il conviendra de conforter pour pouvoir faire évoluer la procédure diagnostique.



Mise-bas - Crédit Pathologie de la reproduction (ENVT)

Définition de l'avortement (Article 2 de l'arrêté du 10 octobre 2013):

Art. 2. – Au sens du présent arrêté, on entend par « avortement » : avortement infectieux avec 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.

1 Groupe de travail Avortements Petits ruminants :

- Animation : Institut de l'Élevage / ENVT au sein de l'UMT Santé des Petits Ruminants
- Partenariat national : GDS France, SNGTV, Races de France, 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

Fiche I

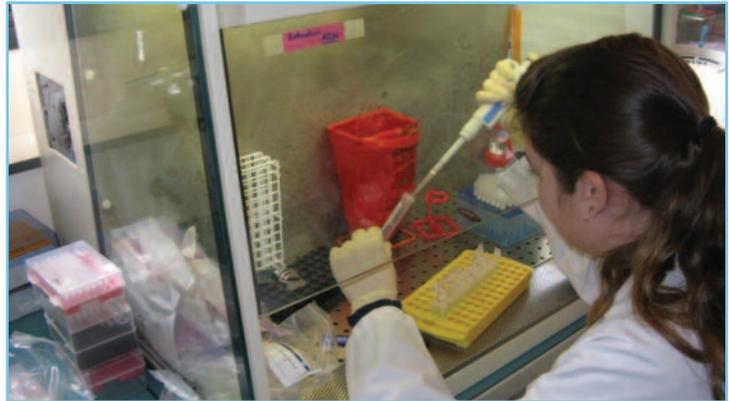
Quels critères d'alerte ? Quelles maladies rechercher ?

Seuls les avortements en séries sont pris en compte dans la démarche de diagnostic différentiel. Deux cas sont envisagés (tableau 1) :

- des avortements rapprochés, survenant sur un pas de temps réduit. Ce type de situation pourrait vraisemblablement être observé en cas de réintroduction de la brucellose, avec une évolution *a priori* d'allure épizootique (flambées d'avortements probables pouvant affecter jusqu'à 50 à 90 % des femelles gravides).

- des avortements espacés. Ce peut être le cas lorsque les maladies abortives circulent de manière enzootique et/ou affectent plusieurs lots de mises-bas (l'étalement des mises-bas étant lui-même dépendant des systèmes de production).

Le seuil retenu pour des avortements rapprochés est celui adopté sur un plan réglementaire pour la surveillance événementielle de la fièvre Q et de la brucellose.



Extraction des ADN sous une enceinte (décontamination du volume de travail par radiation UV) - Crédit E. Rousset (Anses - LNR Fièvre Q)

Un socle commun de maladies de première intention à inclure dans la démarche diagnostique a été défini suite à des travaux nationaux en 2013.

Les critères de choix retenus sont les suivants : prévalence des agents infectieux, impacts sanitaires et économiques, disponibilité des outils diagnostiques...

Sur cette base, sur l'ensemble de notre territoire, trois maladies ont été identifiées : fièvre Q, chlamydie, toxoplasmose. Selon le contexte épidémiologique local ou régional, la salmonellose à *Salmonella Abortusovis* et la Border Disease peuvent être ajoutées.

Une liste d'agents infectieux susceptibles d'être recherchés en deuxième intention a été proposée (tableau 2).

Tableau 1 : Critères d'alerte lors d'avortements chez les petits ruminants

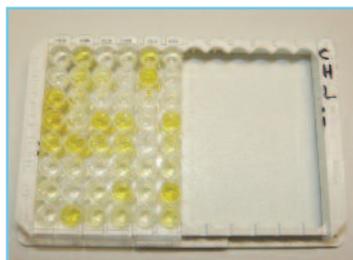
Des avortements répétés dans le temps	
Brucellose (Arrêté du 10 octobre 2013 ; article 10, alinéa l-e) Fièvre Q (Dispositif pilote : NS DGAL/SDSPA/N2012-8188 du 11 Septembre 2012)	3 avortements minimum en 7 jours ou moins
Avortements répétés : Mise en œuvre d'un diagnostic différentiel pour un diagnostic de groupe	Avortements rapprochés : seuil ci-dessus Avortements espacés : seuil par lots de reproduction sur la période de mise-bas (fixée à 3 mois) : • < 250 femelles : 4 % d'avortements • > 250 femelles : à partir du dixième avortement

Tableau 2 : Liste des maladies susceptibles d'être recherchées en deuxième intention

Agents infectieux	
Bactéries	<i>Campylobacter jejuni</i> <i>Campylobacter fetus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Listeria ivanovii</i> <i>Yersinia spp</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> <i>Anaplasma marginale</i> <i>Anaplasma phagocytophilum</i> <i>Mycoplasma spp</i>
Virus	SBV (Virus de Schmallenberg)
Parasites	<i>Neospora caninum</i>
Agents mycosiques	<i>Aspergillus</i> ,...



De nombreuses maladies abortives sont enzootiques et peuvent se présenter sous des formes asymptomatiques
Crédit J.M. Gautier (Institut de l'Élevage)



Plaquette d'analyses ELISA pour la chlamydie
Crédit C. Novella (Laboratoire des Pyrénées et des Landes)



Culture de *Salmonella Abortusovis*
Crédit C. Novella (Laboratoire des Pyrénées et des Landes)

Fiche II Principes de la démarche diagnostique

La démarche diagnostique peut se décliner en trois étapes (Figure 1). Il s'agit d'abord de décrire l'épisode abortif, c'est-à-dire de recueillir un ensemble de commémoratifs (Fiche III) concernant l'élevage et le contexte local / régional dans lequel il se situe et de répertorier les éléments cliniques et lésionnels survenus sur le troupeau, chez les femelles ayant avorté et leurs congénères, chez les avortons ou encore sur les placentas.

Un ensemble d'analyses de laboratoire complémentaires, conduites sur plusieurs animaux, vont permettre la réalisation d'un diagnostic de groupe. Cela signifie en amont de choisir les animaux à prélever, de définir la nature et le nombre de prélèvements à réaliser (en incluant le choix des matrices à privilégier) et d'envisager les techniques diagnostiques appropriées (diagnostic direct et mise en évidence de l'agent infectieux, diagnostic indirect et identification de la réponse de l'animal à l'infection). Sur cette base, des arbres décisionnels peuvent être définis pour contribuer à l'orientation du diagnostic. L'interprétation finale résulte de l'analyse conjointe des résultats obtenus et des observations relevées lors de l'intervention.

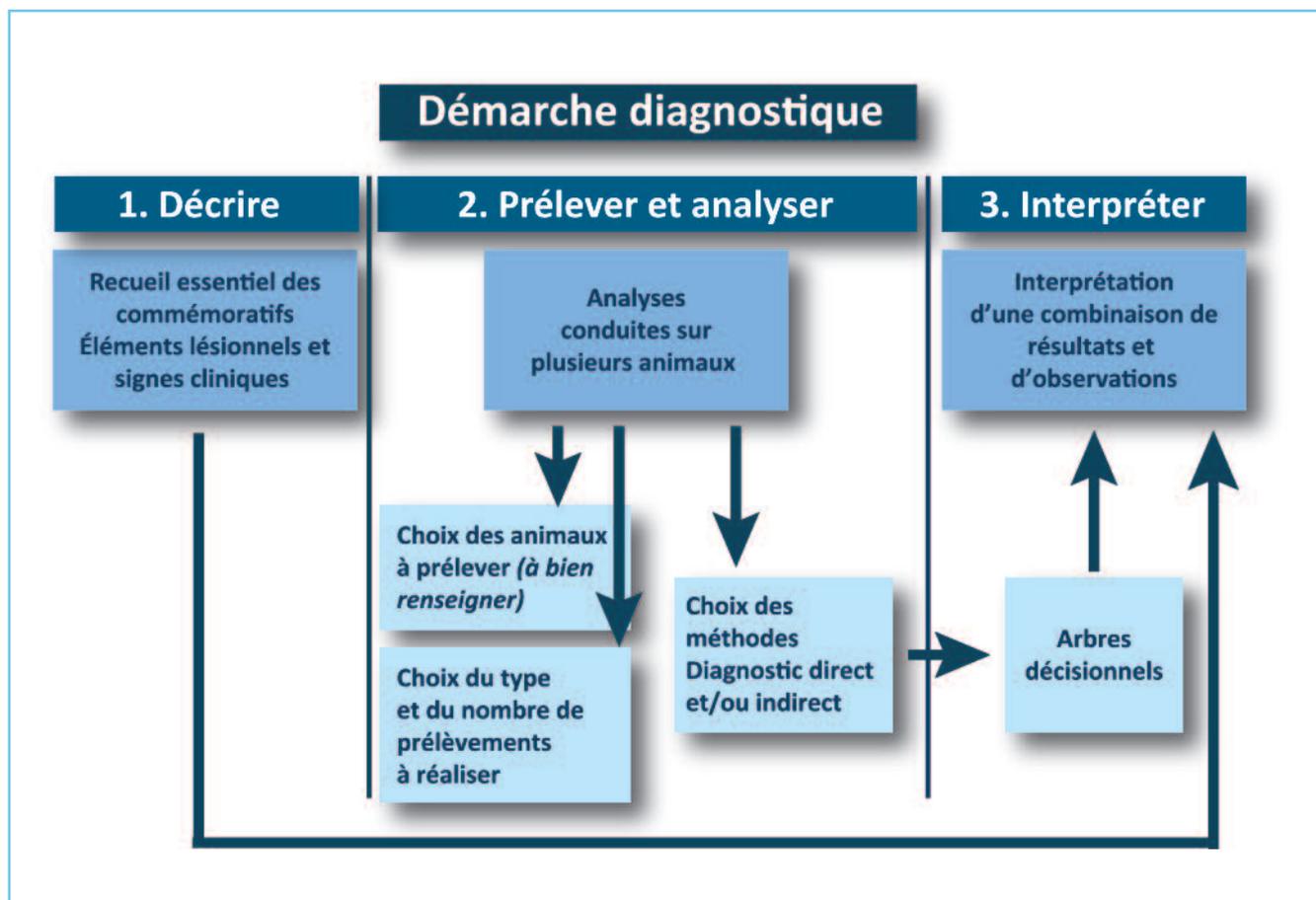


Figure 1 : Démarche diagnostique : principes généraux

Fiche III

Recueil des commémoratifs et des éléments cliniques

Relevé des commémoratifs

Les commémoratifs vont concerner :

L'épisode abortif

- début de l'épisode abortif, période, nombre d'avortements au moment de l'intervention (à mettre en relation avec le nombre de femelles ayant mis bas),
- population affectée (âge, stade de gestation, site concerné dans l'exploitation),
- présence d'autres signes et/ou d'autres problèmes sanitaires au sein du cheptel.

Le contexte épidémiologique

Les relations de contacts avec d'autres animaux (dont autres ateliers, faune sauvage, animaux domestiques), d'autres cheptels (transhumance, pâturage,...) doivent être décrites. Plus généralement, toutes les introductions (prêts, achats, mises en pension) et mouvements d'animaux dans les 6 à 12 mois précédents doivent être répertoriés.

Le contexte vaccinal et, le cas échéant, les mesures médicales et sanitaires appliquées

Le contexte vaccinal (en incluant nature du vaccin, dates et périodes de vaccination, population cible) est important à connaître pour apprécier la couverture du troupeau et pouvoir interpréter les résultats sérologiques.

Les antécédents vis-à-vis des avortements, le statut sanitaire du troupeau

- épisodes abortifs préalables : nombre d'avortements, population concernée, analyses réalisées, étiologie éventuelle,
- cas de mortinatalité observés antérieurement,
- statut du troupeau vis-à-vis de la Border Disease s'il a été établi (ou du BVD s'il y a un atelier bovin).

Éléments d'orientation clinique et épidémiologique

En général, les avortements ne s'accompagnent pas de signes pathognomoniques.



Des signes lésionnels le plus souvent non pathognomoniques
Crédit Pierre Autef (SNGTV).

La plupart des maladies abortives peuvent se traduire par de la mortinatalité, la naissance de nouveau-nés chétifs, une infertilité apparente et des taux de mises-bas inférieurs à ceux attendus.

Il existe néanmoins quelques éléments d'orientation clinique ou épidémiologique.

Toxoplasmose

L'existence de foyers nécrotiques (envahissement des villosités chorales par les tachyzoïtes) pouvant se minéraliser se traduit par la présence de for-

mations blanches ponctiformes. Ce signe, considéré comme pathognomonique n'est cependant pas observé de manière systématique...

La présence de fœtus momifiés peut faire suspecter la toxoplasmose bien qu'il ne s'agisse pas d'un élément pathognomonique. Des fœtus momifiés ont en effet été également observés après des infections expérimentales à *Chlamydia* ou *Coxiella*.



Foyers nécrotiques
Crédit MSD Santé Animale



Début de momification
Crédit Pathologie de la reproduction (ENVT)

Border disease

On assiste souvent à une explosion de maladies intercurrentes chez les jeunes dont : diarrhée, ecthyma, problèmes respiratoires, nouveau-nés trembleurs, hirsutes, à faible croissance,...

L'absence de guérison est fréquente malgré les interventions conduites sur le troupeau.



Tableau hémorragique
Crédit C. Pouget (GDS 12)



Agneau hirsute
Crédit C. Pouget (GDS 12)



Agneau Lacaune avec un retard de croissance d'un mois
Crédit C. Pouget (GDS 12)



Agneau à l'engraissement avec problème cutané et ecthyma
Crédit C. Pouget (GDS 12)

Chlamydirose

Compte tenu d'une mort fœtale tardive, les fœtus apparaissent comme « relativement frais ».

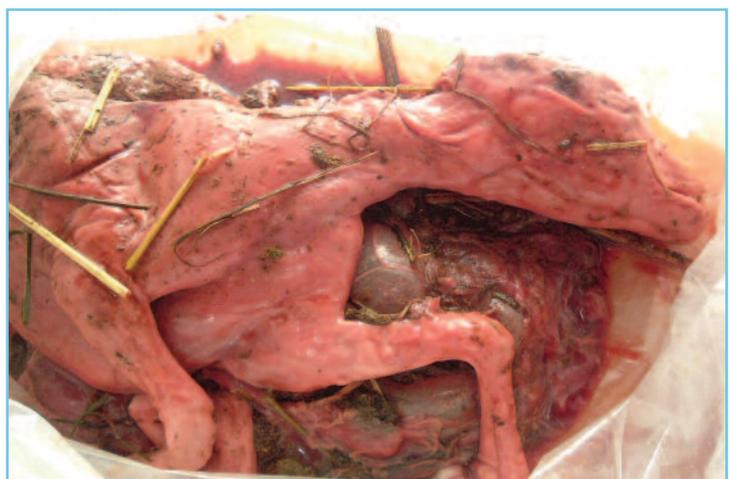


Fœtus observés suite à une chlamydirose
Crédit A. Rodolakis (INRA Nouzilly), P. Autef (SNGTV)

Salmonellose abortive ovine

Les premiers avortements surviennent 6 à 8 semaines avant le terme prévu puis s'échelonnent pendant toute la saison de mise bas.

La salmonellose s'accompagne en outre d'une altération de l'état général de tout ou partie des femelles (hyperthermie marquée, métrites et mortalités possibles).



Avortement salmonellique
Crédit P. Autef (SNGTV)

Fiche IV

Choix des techniques diagnostiques. Intérêts et limites

Diagnostic direct : à privilégier

La démarche diagnostique met l'accent sur le diagnostic direct. Celui-ci repose sur la bactériologie pour *Salmonella Abortusovis* et sur des techniques moléculaires (PCR) pour les autres pathogènes.

Cas de la fièvre Q

Seule la fièvre Q, avec l'appui du Laboratoire National de Référence de Sophia Antipolis, bénéficie d'une procédure harmonisée de diagnostic par PCR. Celle-ci a été validée sur écouvillons de mucus vaginal et de cotylédons placentaires. Il s'agit en outre d'une technique en temps réel permettant, grâce à une gamme étalon, de quantifier l'agent pathogène présent.

Une PCR fièvre Q réalisée sur mucus vaginal est considérée comme fortement positive (et donc

pouvant être à l'origine de l'avortement) si la quantification dénombre plus de 10^4 *C. burnetii* par écouvillon vaginal individuel ou plus de 10^3 *C. burnetii* pour un mélange de 3 écouvillons vaginaux (issus de 3 animaux). Des données sont en cours d'acquisition pour mieux définir le seuil clinique selon l'espèce, voire selon la matrice biologique employée.

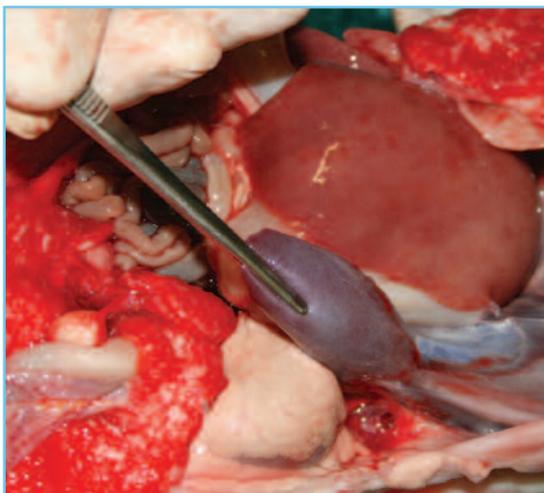
Cas des autres maladies

Les laboratoires d'analyse recourant à de la PCR en temps réel peuvent déterminer le nombre de cycles d'amplification (Ct : Cycle seuil ou Cycle threshold) à partir duquel la présence d'acide nucléique cible est détectable. Ce nombre est inversement proportionnel à la quantité d'acide nucléique présente. Cependant, la relation entre quantité et imputabilité reste à étudier. Qui plus est, en l'absence de gamme étalon, la valeur obtenue est difficilement interprétable (manque de répétabilité et de reproductibilité). Les résultats des analyses sont donc appréciés de manière qualitative (en présence / absence) au seuil du fabricant.

Orientation du choix des matrices à utiliser en vue d'un diagnostic direct pour les maladies de première intention

- Recherche sur les organes d'avorton : souvent plus spécifique (imputation de l'avortement) mais plutôt moins sensible que l'analyse des houppes cotylédonaires,
- Recherche sur des houppes placentaires : intérêt du placenta limité en cas de souillure et de présence de l'agent infectieux dans l'environnement (*Chlamydia*, *Coxiella*, *Salmonella*) ; le plus souvent, quantité accrue d'agents infectieux dans les zones placentaires présentant des lésions macroscopiques,
- Mucus vaginal : matrice encore mal connue (sauf pour la fièvre Q et en partie, la chlamydirose).

Le mucus vaginal a été retenu pour la fièvre Q dans le cadre du dispositif pilote de surveillance clinique. Il peut également être employé pour la chlamydirose. L'encéphale est la matrice de prédilection pour la recherche de *Toxoplasma gondii*. Le virus de la Border disease est souvent recherché dans la rate de l'avorton (sont également possibles : encéphale, rein, foie,...) ou encore dans le sang des agneaux. *Salmonella Abortusovis* peut notamment être recherché dans le liquide stomacal.



Prélèvement de rate
Crédit Pathologie de la reproduction (ENVT)



Écouvillonnage
Crédit Pathologie de la reproduction (ENVT)

Des analyses en mélange sont mises en œuvre pour la fièvre Q mais faute de quantification possible, ne sont pas retenues pour la chlamydie. Malgré les risques de « dilution », l'hétérogénéité de la distribution de *Toxoplasma gondii* dans les tissus incite à la réalisation de mélanges de plusieurs organes (plusieurs encéphales ou encore plusieurs houppes placentaires,...) en provenance de plusieurs animaux. Le principe d'une analyse en mélange a été validé sur des prélèvements sanguins pour le virus de la Border Disease et retenu pour les autres matrices.

Diagnostic indirect : en complément du diagnostic direct

Les analyses sérologiques sont toujours délicates à interpréter en raison :

- de l'absence de concomitance de la réponse humorale (IgG) et de la survenue de l'infection et de l'avortement (elle peut donc être postérieure à l'expulsion du fœtus même si, pour la toxoplasmose, on considère qu'elle lui est antérieure comme semble le montrer la présence de fœtus momifiés),
- de l'impossibilité d'évaluer l'ancienneté de l'infection (de la circulation de l'agent) avec parfois des durées d'immunité importantes (cas de la toxoplasmose, de la fièvre Q) et faute, le plus souvent, de tests disponibles pour doser les IgM de survenue plus précoce que les IgG,
- de réactions anamnestiques possibles (relance globale de la production d'anticorps sériques) au moment de la mise-bas ou de l'avortement,
- de l'existence de formes asymptomatiques des infections pouvant être présentes de manière enzootique et donc parfois non responsables de la série abortive (ex : fièvre Q, chlamydie,...),
- de l'impossibilité de différencier les réponses humorales d'origine infectieuse et d'origine vaccinale (avec parfois un « marquage » long des vaccins employés comme cela semble être le cas pour la toxoplasmose).

En conséquence

L'interprétation des analyses sérologiques ne peut être réalisée qu'à l'échelle du lot ou du troupeau : il s'agit de **sérologies de groupe**. Seule la mise en évidence d'une **circulation récente ou active des agents infectieux** peut permettre de conforter les hypothèses diagnostiques.

Les analyses sérologiques présentent en outre les intérêts suivants :

- **évaluation de la séroprévalence** (n= 10 prises de sang sur des femelles ayant avorté ou présentant des troubles de reproduction) pour préciser, en complément du diagnostic direct par PCR, si un troupeau est atteint cliniquement de fièvre Q (oui si $\geq 50\%$),
- **mise en évidence d'une circulation récente d'agents infectieux** : séroconversions ou augmentations des titres sérologiques, observées sur des femelles ayant avorté et prélevées à 15 jours d'intervalle (chlamydie notamment) ; pour la salmonellose, analyse des titres en anticorps de type IgM, obtenus par séroagglutination chez les femelles ayant avorté ; pour la Border Disease, analyse de la séroprévalence chez des animaux sentinelles,
- **diagnostic d'exclusion de la toxoplasmose** si les sérologies effectuées sur des femelles ayant avorté (n=5) sont toutes négatives au moment de l'intervention et dans les 15 jours suivants,
- **orientation de la conduite médicale et sanitaire à tenir** (toxoplasmose, Border Disease) après évaluation de la séroprévalence chez des femelles de renouvellement (n=10 prises de sang).

À noter :

Si un résultat sérologique est difficile à interpréter à l'échelle individuelle, une prise en compte à l'échelle du groupe est envisageable en relation avec l'observation de profils de circulation récente ou en cours des agents pathogènes. De plus, les résultats obtenus lors de l'étude en cours en Midi-Pyrénées montrent l'intérêt de prendre en compte les titres² sérologiques (plus particulièrement : présence d'animaux fortement séropositifs) à des fins diagnostiques. Cela semble particulièrement vrai pour la toxoplasmose (*a minima*, dans les élevages non vaccinés) les titres en anticorps étant souvent d'emblée très élevés lors de l'intervention initiale du vétérinaire à l'occasion de la série abortive.

Tableau 3 : Récapitulatif des analyses préconisées pour les maladies abortives de première intention

Analyses	Maladie visée	Choix des animaux et des techniques
Diagnostic direct	Fièvre Q	2 PCR TR sur écouvillons de mucus vaginal individuels ou en mélange de 3
	Chlamydie	3 PCR individuelles sur écouvillons vaginaux
	Toxoplasmose	1 PCR individuelle ou en mélange de 3 organes d'avorton au maximum (encéphales à privilégier) ou de houppes placentaires
	Border Disease	1 PCR en mélange de 3 organes maximum (foie, rate, sang)
	Salmonellose	2 analyses bactériologiques individuelles sur liquide stomacal d'avorton de préférence ou sur placenta
Diagnostic indirect	Fièvre Q	10 sérologies sur femelles ayant avorté depuis plus de 15 jours ou ayant des problèmes de reproduction
	Chlamydie	2 séries à 15 jours d'intervalle, de 5 sérologies sur femelles ayant avorté récemment. Analyses sur sérums pairés ³
	Toxoplasmose	2 séries à 15 jours d'intervalle, de 5 sérologies sur femelles ayant avorté récemment. Analyses sur sérums pairés ³
	Border Disease	10 sérologies sur animaux sentinelles ou, en cas de statut troupeau négatif, sur des femelles ayant avorté depuis 15 jours
	Salmonellose	5 analyses en séroagglutination sur des femelles ayant avorté récemment

² Par souci de simplification, on utilise ici le mot « titre » pour désigner la valeur semi-quantitative obtenue suite aux analyses sérologiques (ELISA) et qui permet d'extrapoler la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon.

³ Idéalement, analyses réalisées le même jour.

Fiche V

Une boîte de prélèvements standardisée

La démarche diagnostique nécessite de s'appuyer sur un ensemble d'échantillons qui doivent être disponibles d'emblée. Il s'agit de disposer du matériel biologique nécessaire à la surveillance réglementaire de la brucellose et à la réalisation du diagnostic différentiel, *a minima* de première intention.

C'est pourquoi le principe d'une boîte de prélèvements standardisée a été retenu.



Prélèvement d'organe
Crédit P. Nicollet (Laboratoire de Vendée)



Exemple de boîte de prélèvements
Crédit Sodibox

En pratique : Disposer d'une boîte de prélèvements standardisée :

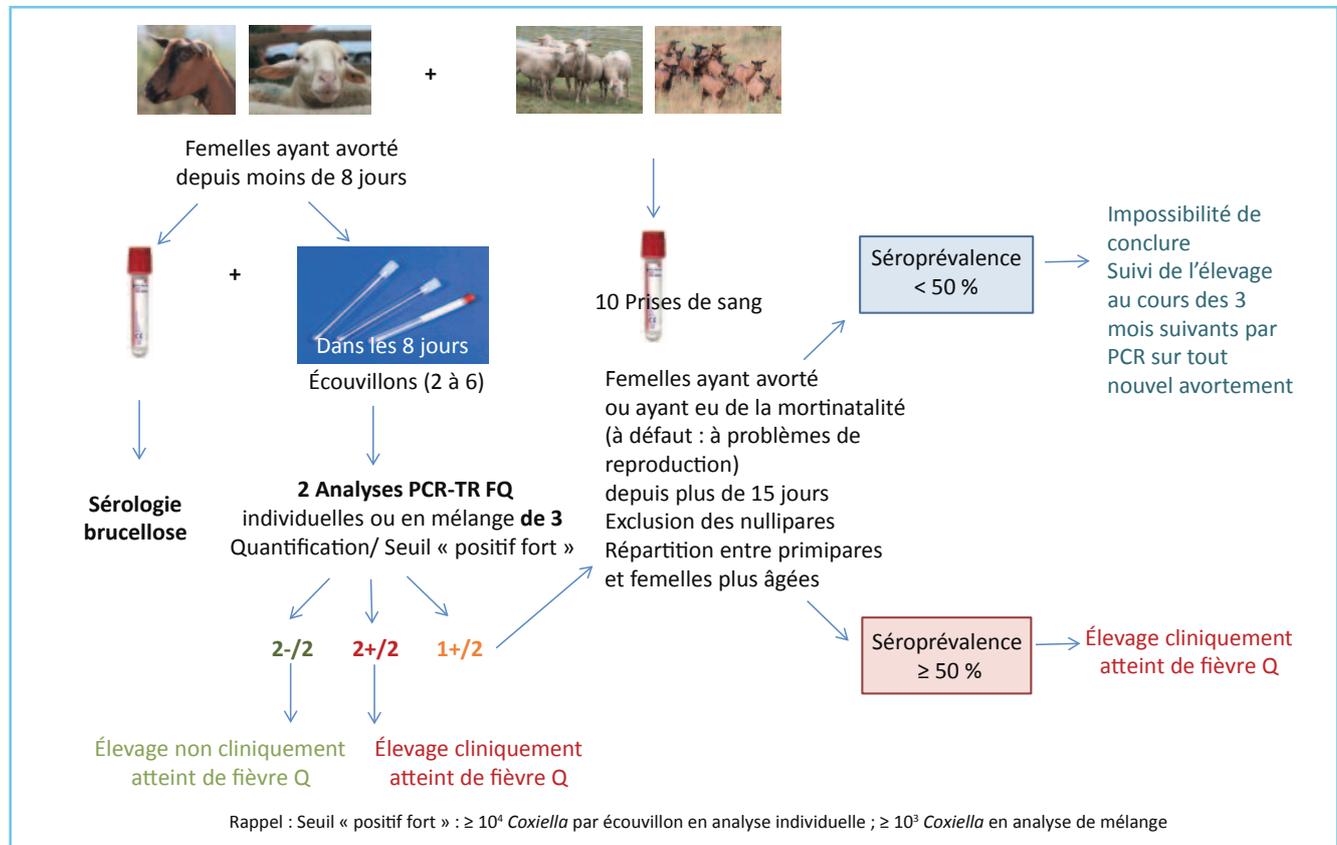
- 9 écouvillons (écouvillons secs tels que demandés pour la brucellose),
- Des sachets étanches permettant de recevoir des houppes placentaires ou des organes d'avorton,
- Un pot hermétique permettant de recueillir ces sachets tout en évitant des intercontaminations entre prélèvements,
- Un tube sec (au moins) pour disposer de liquide stomacal d'avorton
- De la place pour une quinzaine de tubes en vue d'analyses sérologiques (en prévoyant de pouvoir rajouter des tubes EDTA – dépistage de la Border Disease –).

Envoi au laboratoire d'analyses :

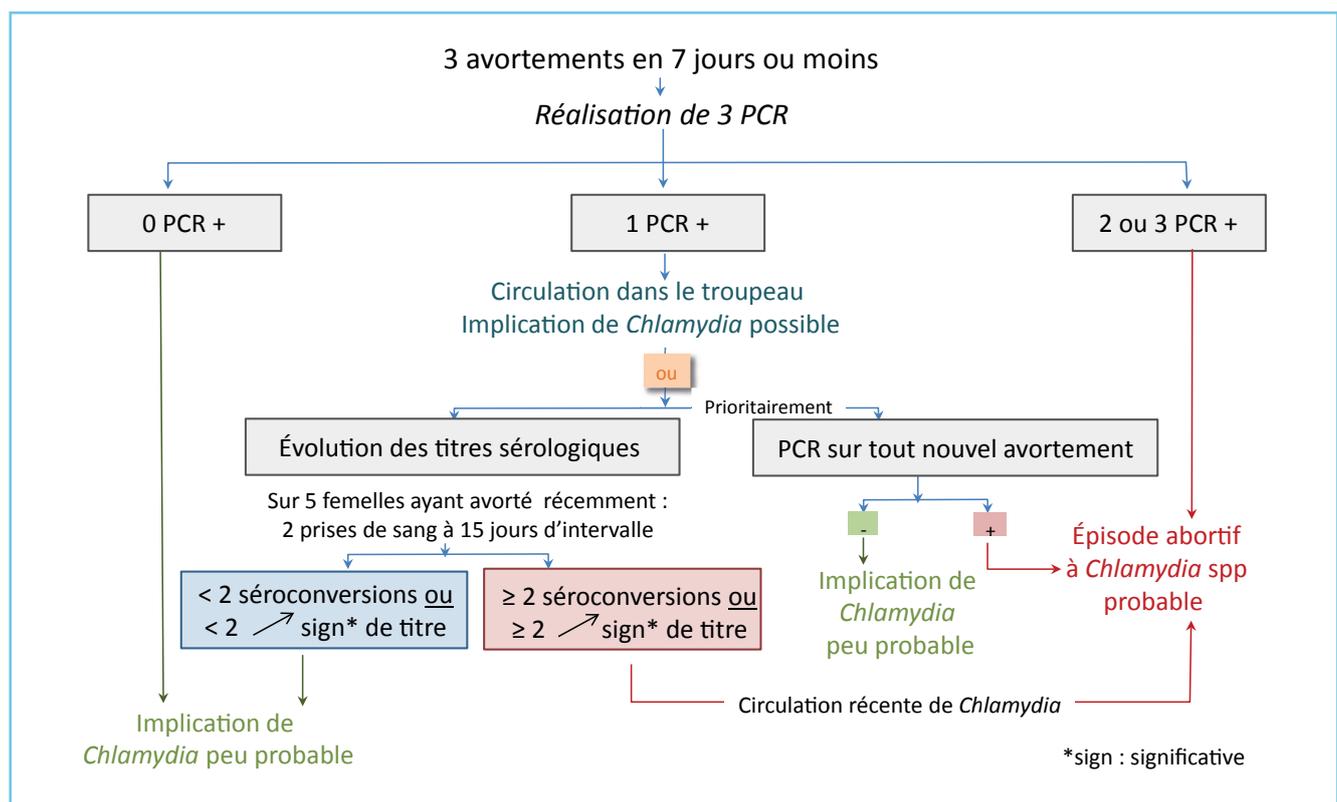
L'envoi doit être conforme à la réglementation pour l'expédition de matériel biologique de catégorie B (norme UN3373), et nécessite un triple emballage. Prévoir de plus un dispositif d'envoi sous froid (plaque eutectique). Transport par navette ou par Chronopost en moins de 24 heures.

Fiche VI Arbres diagnostiques décisionnels proposés

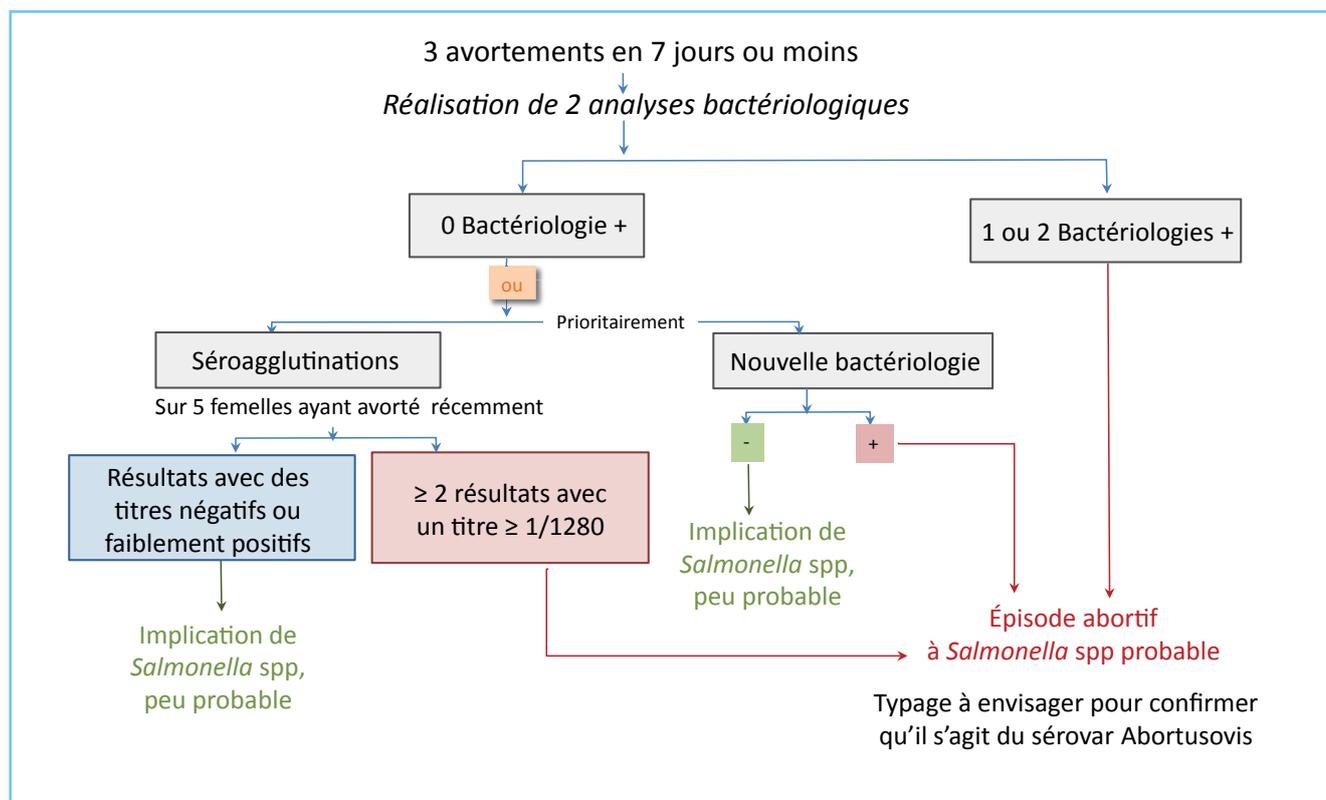
Diagnostic de la fièvre Q



Diagnostic de la chlamydiose



Diagnostic de la salmonellose abortive ovine



Bibliographie

DE CREMOUX 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. Bull GTV - Hors Série 2013 - Avortements tome 1: 93 - 104.

NOUVEL X., BERTHELOT X., BLAIN S., DE CREMOUX R. Prélèvements en vue d'analyses complémentaires lors d'avortements chez les petits ruminants. Bull GTV - Hors Série 2013 - Avortements tome 1: 42 - 47.

Document élaboré et rédigé dans le cadre du groupe de travail national sur le diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants animé par R. de Cremoux (Institut de l'Élevage) et F. Corbière (ENVT).

Crédit photos: X. Nouvel et X. Berthelot (ENVT), C. Novella (laboratoire des Pyrénées et des Landes), C. Pouget (GDS 12), P. Autef (SNGTV), A. Rodolakis (INRA Nouzilly), E. Rousset (Anses – LNR Fièvre Q), P. Nicollet (Laboratoire de Vendée), Sodibox



Exploitation des premiers résultats obtenus à la suite d'une mise en place pilote de la démarche diagnostique, en Midi-Pyrénées



L'étude mise en place en Midi-Pyrénées par la FRGDS, avait pour objectif d'évaluer la faisabilité et la pertinence de la démarche de diagnostic différentiel élaborée nationalement, de disposer de premières références sur la fréquence relative des étiologies abortives de première intention dans la région et de sensibiliser l'ensemble des acteurs à l'importance de la déclaration des avortements et de leur diagnostic. Un premier bilan a été dressé courant octobre 2014. Il a été présenté lors d'une réunion organisée par MSD Santé Animale le 09 Décembre 2014 à Lussac-les-Châteaux, et animée par le Dr Renée de Crémoux (Institut de l'Élevage). Cette fiche récapitule les principaux résultats et enseignements issus de ce travail.

Attention

Les pistes d'évolution évoquées ci-dessous, concernant la démarche diagnostique devront être évaluées sur un plus grand nombre de données et dans des contextes épidémiologiques différents. Elles témoignent de la nécessité de poursuivre les observations sur le terrain pour améliorer et préciser la démarche à mettre en œuvre, tout en limitant les coûts analytiques.

Rappelons par ailleurs qu'un tel travail nécessite en amont une mise en œuvre rigoureuse des procédures diagnostiques : qualité des prélèvements, choix des animaux à prélever, détermination des matrices à privilégier et réalisation des analyses au sens strict. Une démarche exigeante qui seule peut permettre l'interprétation, la comparaison et l'agrégation de résultats.

Fiche VII

Exploitation des premiers résultats obtenus à la suite d'une mise en place pilote de la démarche diagnostique, en Midi-Pyrénées

Caractérisation de la population étudiée

Courant octobre 2014, 65 séries d'avortements avaient été recensées et enregistrées. Elles ont concerné des élevages :

- ovins allaitants dans 23,1 % des cas (N=15),
- ovins laitiers dans plus de 70,8 % des cas (N=46)
- et plus rarement caprins (N=4 ; 6,1 %).

La taille moyenne des troupeaux était de 365 adultes pour une centaine de femelles de renouvellement : taux de renouvellement moyen estimé à 21,7 %.

D'autres ateliers de ruminants sont présents dans 34 élevages (53,1 %). Il s'agit alors le plus souvent (76,5 %) d'un atelier bovin (atelier bovin viande : N=24; atelier bovin lait : N=2).

Caractérisation des séries abortives

Les interventions ont eu lieu à la suite d'en moyenne $7,6 \pm 4,9$ avortements (minimum de 1 avortement, maximum de 21 avortements) ce qui témoigne d'une assez bonne réactivité de la part des éleveurs. Ces épisodes abortifs ont concerné indifféremment des jeunes (40 % des cas) ou des adultes. Ils sont survenus majoritairement dans le dernier tiers de gestation (86,7 % ; N=52/60), voire au cours du dernier mois de gestation (71,7 % ; N=43/60), plus occasionnellement à deux ou trois mois de gestation (10 % ; N=6) et parfois à différents stades de gestation (3,3 % ; N=2).

Diagnostic de la fièvre Q

• **La fièvre Q est présente dans près de 74 % des élevages de l'étude** (ADN détecté et/ou séropositivité).

• Environ 52 % des élevages ont présenté au moins un animal séropositif.

• **Une circulation des bactéries (ADN détecté et quantifiable) est observée seulement dans 16,9 % des cas** (N=11). Pour 3 d'entre eux (4,6 %), les 2 résultats de PCR se sont révélés concordants et supérieurs au seuil de positivité permettant de conclure à une atteinte clinique par la fièvre Q. Dans 3 autres élevages, des analyses quantitatives restent à réaliser pour définir le statut du troupeau (présence, circulation ou implication de la fièvre Q dans les avortements).

• La fièvre Q est absente dans 24,6 % des cas (N=16).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus sur une base plus large dans l'Aveyron dans le cadre du dispositif pilote fièvre Q : 5 % des élevages ovins laitiers (N=233), 17 % des élevages ovins allaitants (N=42) et 17 % des élevages caprins (N=24) ont été conclus cliniquement atteints.

Ils montrent qu'une quantification est indispensable pour ne pas conclure par excès que *Coxiella burnetii* est responsable de la série d'avortements (sauf analyse directe sur organes d'avorton).

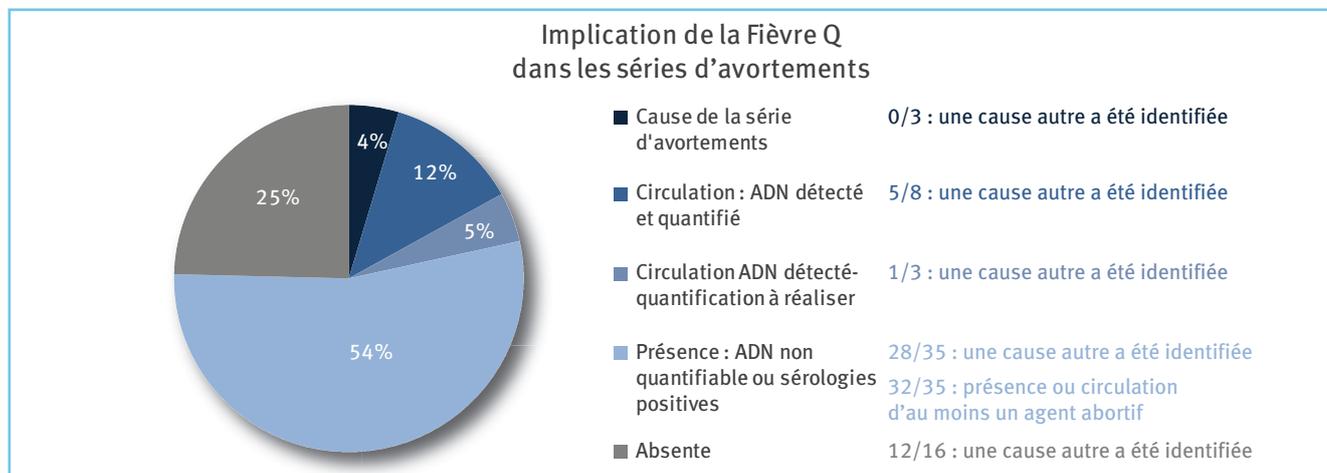


Figure 1 : Distribution des résultats relatifs au diagnostic de la fièvre Q

Diagnostic de la chlamydie

- La chlamydie est présente dans près de 77 % des élevages étudiés.

- Près des 3/4 des élevages (74,6 % ; N=47/63) ont présenté au moins un animal séropositif.

- Dans 33,9 % des élevages (N=21/62) au moins une PCR positive a été observée et dans 21 % (N=13) au moins deux PCR positives.

- Les cheptels avec au moins une PCR positive ont fréquemment (57,1 % des cas, N=12/21) eu un (28,6 %) ou plusieurs (28,6 %) animaux fortement séropositifs lors de la première série de prélèvements réalisés par le vétérinaire. Pour 55 % d'entre eux, ils se caractérisent également par la présence d'un (35 %, N=7/20) ou plusieurs (20 %, N=4/20) animaux dont les titres anticorps ont augmenté.

- De l'ADN de *Chlamydia* a pu être détecté dans des élevages ayant mis en œuvre un protocole vaccinal. Ce résultat peut notamment être mis en relation avec la persistance possible d'une excrétion chez des animaux préalablement infectés (d'où l'importance du maintien de la vaccination pendant 3 voire 5 ans). Il doit également constituer un message d'alerte pour vérifier à la fois la rigueur de la mise en œuvre du protocole de vaccination et l'application des mesures sanitaires qui lui sont indissociables. Enfin, s'agissant de vaccins vivants, l'implication de la souche vaccinale, bien que rare, reste possible.

En synthèse, la chlamydie est très répandue et reste une cause majeure d'avortement chez la brebis. Sur les 65 séries d'avortements étudiées, elle a été considérée comme une cause certaine dans 21,5 % des élevages (N=14) et fortement probable dans 4,6 % des élevages (N=3) soit une implication dans 26,2 % des cas.

Les informations recueillies amènent à proposer une évolution du diagnostic vis-à-vis de la chlamydie, avec 4 niveaux d'interprétation :

Hypothèse	Quels résultats ?
Diagnostic de « certitude »	<ul style="list-style-type: none"> • ≥ 2 PCR positives • 1 PCR + et ≥ 2/5 séroconversions ou augmentations significatives des titres⁴ en anticorps.
Imputabilité forte	<ul style="list-style-type: none"> • 1 PCR positive et une augmentation significative du titre⁴ en anticorps et/ou un ou plusieurs autres animaux séropositifs fortement le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive • 0 PCR positive et une majorité d'animaux présente une augmentation significative des titres⁴ anticorps sur 2-3 semaines.
Imputabilité faible à modérée	<ul style="list-style-type: none"> • 0 PCR positive, 1 seule augmentation significative du titre⁴ en anticorps et un ou plusieurs animaux séropositifs fortement le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive (résultats à conforter par d'autres analyses). • 1 PCR positive et quelques animaux séropositifs faibles (résultats à conforter par d'autres analyses) • 0 PCR positive et 1 seule augmentation significative du titre⁴ en anticorps sans forte séropositivité (résultats à conforter par d'autres analyses) • 0 PCR positive et un ou plusieurs animaux faiblement positifs le jour de l'intervention pour série abortive. • 0 PCR positive et un seul animal séropositif fortement le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive.
Diagnostic d'exclusion	<ul style="list-style-type: none"> • Ni PCR, ni analyses sérologiques positives.

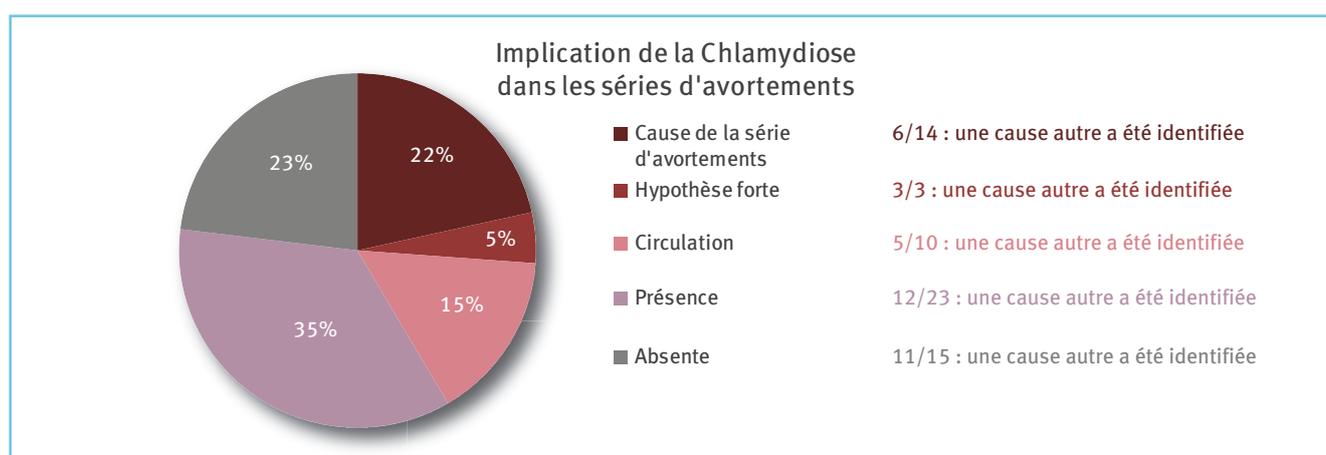


Figure 2 : Distribution des résultats relatifs au diagnostic de la chlamydie

⁴ La dénomination de « titre » est utilisée dans l'ensemble de ce document pour évoquer la valeur semi-quantitative obtenue suite aux analyses sérologiques (ELISA) et qui permet d'extrapoler la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon.

Diagnostic vis-à-vis de la toxoplasmose

• La toxoplasmose est présente dans 82,8 % des élevages étudiés (N=53/64).

• Plus de 80 % des élevages (82,3 % ; N=51/62) ont présenté au moins un animal séropositif.

• Plus d'un quart des élevages (26,2 % (N=16/61)) ont eu une PCR positive. Ce pourcentage apparaît élevé alors même que la distribution hétérogène des parasites dans les organes induit des risques de faux négatifs non négligeables.

• Les cheptels associés à une PCR positive ont eu majoritairement (93,3 % ; N=14/15) plus de 50 % des animaux fortement séropositifs lors de la première série de prélèvements. On n'a observé relativement peu d'augmentations des titres en anticorps (pas d'augmentation dans 69,2 %, N=9/13) car les animaux sont souvent apparus d'emblée fortement séropositifs.

• A contrario, plus de 20 % des cheptels (N=10/44, 21,7 %) avec une PCR négative comportent plus de 50 % des animaux fortement séropositifs lors de la première série de prélèvements, parfois associée à une augmentation des titres en anticorps (N=4/8).

• De même, plus de 30 % des cheptels (N=13/38, 34,2 %) avec une PCR négative ont eu des animaux dont le taux d'anticorps a augmenté.

• De l'ADN de *Toxoplasma* a pu être détecté dans des élevages ayant mis en œuvre un protocole vaccinal. De fait, la vaccination n'empêche pas une contamination des animaux mais permet une réduction des risques : réduction du taux d'avortement, amélioration significative du nombre de naissances d'agneaux viables chez les brebis vaccinées, et exposées au parasite au cours de leur gestation (selon les essais du dossier d'AMM, pour les femelles vaccinées, 80 % d'agneaux viables en comparaison des résultats d'échographies faites à 2 mois versus 15 % pour les femelles non vaccinées et exposées dans les mêmes conditions) et, chez les agneaux vaccinés, limitation de la formation de kystes à bradyzoïtes à la suite d'infestation (Katzner et al., 2014).

Rappelons qu'une PCR négative, en raison de l'hétérogénéité de la distribution du parasite dans les tissus, ne permet pas d'exclure l'implication de la toxoplasmose.

En synthèse, la toxoplasmose est très répandue et reste une cause majeure d'avortement chez la brebis. Sur les 65 séries d'avortements étudiées, elle a été considérée comme une cause certaine dans 37,5 % des élevages (N=24) et de façon probable dans 14,1 % des élevages (N=9) soit une implication dans 51,6 % des cas.

Les informations recueillies amènent à proposer une évolution du diagnostic vis-à-vis de la toxoplasmose, avec 4 niveaux d'interprétation :

Hypothèse	Quels résultats ?
Diagnostic de « certitude »	<ul style="list-style-type: none"> • PCR positive • PCR négative et $\geq 2/5$ séroconversions ou augmentations significatives des titres⁵ en anticorps.
Imputabilité forte	<ul style="list-style-type: none"> • PCR négative et ≥ 50 % des animaux séropositifs fortement lors des premiers prélèvements. • PCR négative, 1 augmentation significative du titre⁵ en anticorps et plusieurs animaux fortement positifs lors des premiers prélèvements.
Imputabilité faible à modérée Dans ce cas, la toxoplasmose est présente voire circule sans que l'on puisse lui imputer la série abortive.	<ul style="list-style-type: none"> • PCR négative, pas d'augmentations de titre⁵ et moins de 50 % des animaux séropositifs fortement lors des premiers prélèvements.
Diagnostic d'exclusion	Aucune PCR et aucune sérologie positive.

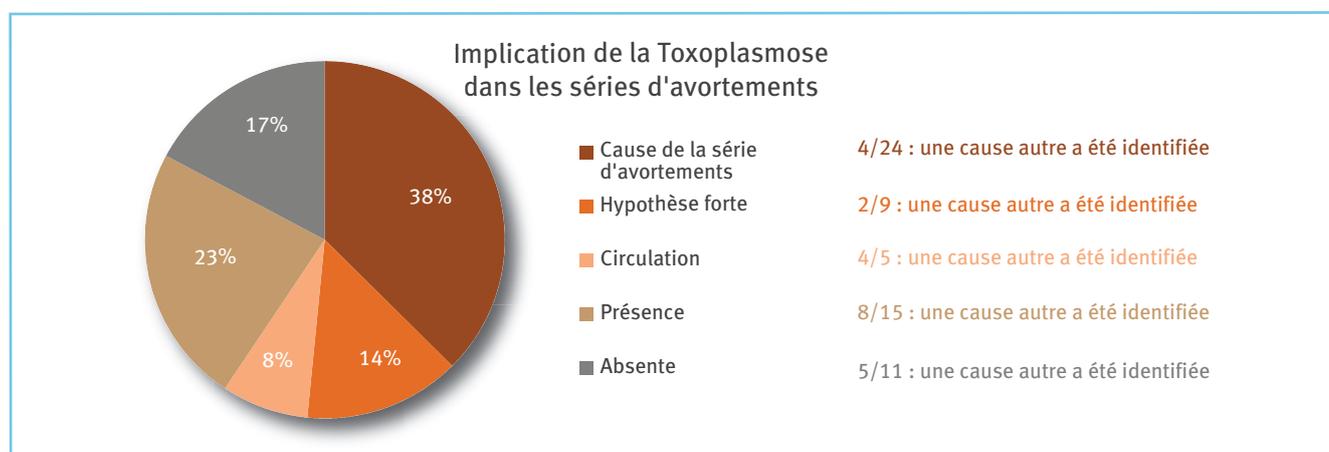


Figure 3 : Distribution des résultats relatifs au diagnostic de la toxoplasmose

⁵ La dénomination de « titre » est utilisée dans l'ensemble de ce document pour évoquer la valeur semi-quantitative obtenue suite aux analyses sérologiques (ELISA) et qui permet d'extrapoler la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon.

Diagnostic vis-à-vis de la Border Disease et de la salmonellose

La circulation du virus de la Border Disease a été rapportée dans 7,7 % des troupeaux (N=5/65) suite à des analyses sérologiques positives sur plusieurs animaux sentinelles. Pour un cheptel, la PCR sur rate s'est révélée positive ce qui a permis de conclure à l'implication du virus dans la série abortive.

La circulation de *Salmonella Abortusovis* a été rapportée dans un troupeau. Cet agent n'a pas été à l'origine des avortements dans les 65 séries abortives étudiées.

Conclusions

La procédure diagnostique a permis d'exclure *a priori* plusieurs des causes abortives recherchées :

- La fièvre Q a pu être exclue des étiologies suspectées dans plus de 90 % des cas en raison à la fois de résultats de PCR inférieurs au seuil diagnostique voire inférieurs au seuil de quantification, et de séroprévalences majoritairement inférieures à 50 %. Trois élevages ont été reconnus comme cliniquement atteints et des investigations restent à conduire pour quelques séries d'avortements avec PCR positives.

- La Border Disease n'a que rarement été en cause, avec des résultats majoritairement concordants entre diagnostics direct et indirect. Une séroprévalence élevée a été rapportée dans uniquement trois cheptels dont un avec un résultat de PCR positif.

- Outre l'absence de signes généraux sur les femelles ayant avorté, l'absence de PCR positive vis-à-vis de la salmonellose et des titres sérologiques faibles à modérés, permettent d'exclure *a priori* la salmonellose abortive ovine.

- Dans 11 élevages, une PCR négative accompagnée de sérologies toutes négatives à la fois au moment de l'intervention et 15 jours plus tard, permettent d'exclure la toxoplasmose.

La figure 4 présente de manière simplifiée les résultats obtenus en matière diagnostique. La présence de plusieurs agents pathogènes a en effet pu être mise en évidence au sein des élevages : imputation de la série abortive à plusieurs agents, circulation avérée de certains agents sans imputation possible ou simple constat d'un contact, éventuellement ancien, avec le ou les agents infectieux. Cette dernière situation n'est pas intégrée dans le graphique.

Sur la base des nouvelles propositions d'interprétation des résultats d'analyse, le taux d'élucidation est estimé à 74 % (certitude ou hypothèse forte).

Enfin, dans 10 des 16 élevages où aucune cause n'a pu être identifiée, la circulation de différents agents abortifs a été mise en évidence : chlamydie (N=6), toxoplasmose (N=1), fièvre Q (N=5) dont certains pour lesquels l'imputation de *Coxiella burnetii* reste à investiguer, border disease (N=1).

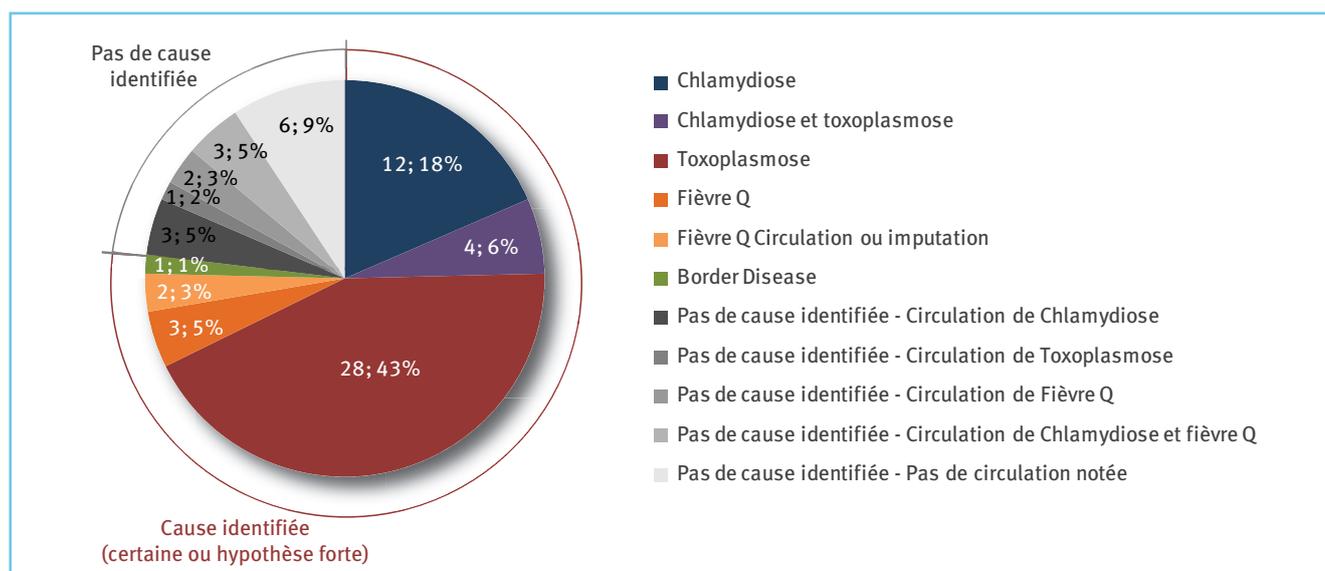


Figure 4 : Distribution des résultats relatifs au diagnostic d'avortement de première intention

Synthèse

- Dans le contexte régional et épidémiologique de Midi-Pyrénées :
 - Une cause imputable a été déterminée dans 74 % des cas. Il semble donc possible d'améliorer les taux d'élucidation des séries abortives sur une base de première intention.
 - La toxoplasmose et la chlamydie sont des causes abortives prépondérantes, respectivement dans 51,6 et 26,2 % des séries abortives étudiées.
 - La fièvre Q est fréquente mais peu responsable de séries abortives sur l'échantillon.
 - la Border Disease a rarement été en cause dans les avortements et la salmonellose abortive ovine n'a pas été responsable des séries abortives étudiées.
 - De nombreux cas de co-infections ou de co-circulations ont été mis en évidence (de l'ordre de 28 % des élevages).
- Il est nécessaire de faire des recherches sans *a priori*, même si le cheptel est vacciné,
- Sur le plan analytique :
 - Le diagnostic direct (notamment les PCR), permet de rapporter les avortements à une cause certaine ou probable dans de nombreux cas.
 - Une quantification pourrait être intéressante particulièrement pour la chlamydie pour : améliorer l'interprétation (circulation vs cause probable) ; permettre une utilisation plus large, tout en restant informative, des mélanges.
 - En ce qui concerne le diagnostic indirect, l'analyse des évolutions des titres en anticorps peut s'avérer pertinente même si, notamment pour la toxoplasmose, les titres en anticorps peuvent être d'emblée fortement positifs.
 - Il semble enfin intéressant de prendre en compte la présence et/ou la fréquence des individus fortement séropositifs dans l'interprétation des résultats.

Travaux et synthèse réalisés dans le cadre de l'étude sur les avortements chez les ruminants pilotée par la FRGDS Midi-Pyrénées, en partenariat avec la FRGTV, les GDS, GTV et laboratoires départementaux et l'UMT Santé des Petits Ruminants associant l'INRA, l'École Vétérinaire de Toulouse et l'Institut de l'Élevage. Avec le soutien financier du Conseil Régional de Midi-Pyrénées et de la Caisse Régionale de Solidarité Santé Animale (CRSSA).

Rédaction : R. de Cremoux (Institut de l'Élevage), C. Pouget (GDS 12), C. Lacz (FRGDS Midi-Pyrénées)

Relecture par l'ensemble du groupe de travail national sur le diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants.



Avec le soutien financier :





Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants

Bilan un an après la proposition d'une démarche harmonisée au niveau national



En filières de ruminants, les avortements constituent un sujet de préoccupation majeur en raison de leur incidence économique et sanitaire. Ils font en outre l'objet d'une surveillance événementielle, historiquement en relation avec le risque zoonotique d'une exposition à la brucellose et plus récemment élargie dans 10 départements pilotes, à la fièvre Q. Dans un contexte épidémiologique évolutif (situation assainie depuis 2003 en matière de brucellose), une approche globale des avortements, de leur diagnostic et de leurs enjeux semble nécessaire. Il s'agit notamment de structurer et d'harmoniser l'analyse étiologique des avortements en intégrant une dimension collective et avec un double objectif d'amélioration des taux d'élucidation et de proposition de mesures de maîtrise adaptées. De là résulte un travail de concertation et d'échanges entre l'ensemble des parties prenantes (État, chercheurs, vétérinaires, groupements de défense sanitaire, laboratoires de référence et laboratoires d'analyse).

Le présent document rassemble un ensemble de fiches pratiques reprenant les propositions élaborées, en matière de démarche diagnostique, par un groupe national animé par l'Institut de l'Élevage et l'École Vétérinaire de Toulouse au sein de l'UMT Maîtrise de la Santé des Troupeaux de Petits Ruminants. Elles concernent les maladies dites de « première intention » : principes et mise en œuvre pratique de la démarche, définition de critères d'alerte, choix des animaux à prélever, détermination des matrices à privilégier, nature des analyses recommandées, clés d'interprétation des résultats,... Cette démarche est amenée à évoluer au fur et à mesure de l'acquisition de connaissances et de la confrontation aux observations issues du terrain. Une dernière fiche présente ainsi les résultats préliminaires d'une étude pilote initiée par la FRGDS Midi-Pyrénées et les réflexions qui en sont issues.

Collection : Fiches techniques

Cette plaquette est le fruit des travaux d'un groupe multipartenarial s'intéressant au diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants. Les organismes partie prenante dans la définition de la démarche diagnostique et/ou l'étude pilote conduite en Midi-Pyrénées sont présentés ci-dessous (logos mentionnés en bas du présent document).

Animation des travaux : R. de Cremoux (Institut de l'Élevage), F. Corbière (ENVT)

Conception : Bêta Pictoris - Mise en page : Florence Benoit (Institut de l'Élevage)

Édité par : Institut de l'Élevage, - 149, rue de Bercy - 75 595 Paris CEDEX 12 - www.idele.fr

Dépôt légal : 1^{er} trimestre 2015 - © Tous droits réservés à l'Institut de l'Élevage

Janvier 2015 - Réf: 00 15 403 004



Avec le soutien financier :

